

Fletëpalosja e paketimit

PËR PËRDORIM DIAGNOSTIKUES IN VITRO. VETËM PËR EKSPORT.

Katalogu # 20005715

Përdorimi i synuar

Instrumenti NextSeq 550Dx është synuar për renditjen e bibliotekave të ADN-së kur përdoret me analiza diagnostikuese *in vitro*. Instrumenti NextSeq 550Dx duhet të përdoret me reagentë dhe softuerë analitikë specifikë të regjistruar, të çertifikuar ose të miratuar për diagnostikimin *in vitro*.

Parimet e procedurës

Illumina Instrumenti NextSeq 550Dx është synuar për renditjen e bibliotekave të ADN-së me analiza diagnostikuese *in vitro* dhe është synuar për përdorim nga personel i kualifikuar dhe i trajnuar i laboratorit klinik të trajnuar në përdorimin e procedurave diagnostikuese *in vitro* të kryera në një laborator klinik. Për të dhënat hyrëse të saj, NextSeq 550Dx përdor biblioteka të krijuara nga ADN-ja ku indeksat e mostrave dhe renditjet e kapjes shtohen në objektivat e amplifikuar. Bibliotekat e mostrave kapen në një qelizë rrjedhëse dhe renditen në instrument duke përdorur kiminë e renditjes me sintezë (SBS). Kimia SBS përdor një metodë me terminator të kthyeshem për të zbuluar bazat e nukleotideve të vetme të etiketuara me fluoreshencë, ndërsa ato përfshihen në fijen e ADN-së në rritje. Softueri i Real-Time Analysis (RTA) kryen analizën e imazhit dhe identifikimin e bazave dhe cakton një rezultat cilësor për secilën bazë për çdo cikël renditjeje. Kur përfundon analiza primare, analiza sekondare mund të ekzekutohet në instrument për të përpunuar identifikimet bazë. NextSeq 550Dx përdor module të ndryshme të analizës dytësore në varësi të rrjedhës së punës. Për Modulet e varianteve të linjës germinale ose somatike, përpunimi përfshin demultipleksimin, krijimin e skedarëve FASTQ, rreshtimin, identifikimin e varianteve dhe krijimin e skedarëve të formatit të identifikimit të varianteve (VCF dhe gVCF). Skedarët VCF dhe gVCF përmbajnë informacione rreth varianteve të gjetura në pozicione specifike në një gjenom reference.

Konfigurimi i ndezjes së dyfishtë

NextSeq 550Dx Përfshin një konfigurim të dyfishtë ndezjeje për të mundësuar përdorimin e instrumentit në regjimin diagnostikues (Dx) ose vetëm për përdorim kërkimor (RUO). Analizat e renditjes diagnostikuese *in vitro*, duke përfshirë Modulet e varianteve të linjës germinale dhe somatike, ekzekutohen në regjimin diagnostikues. Vetëm reagentët e renditjes IVD mund të përdoren në regjimin diagnostikues. Karakteristikat e performancës dhe kufizimet e procedurës për instrumentin NextSeq 550Dx janë përcaktuar duke përdorur Modulet e variantit të linjës germinale dhe somatike në regjimin diagnostikues.

Kufizimet e procedurës

1. Për përdorim diagnostikues *in vitro*.
2. Modulet e variantit embrional dhe somatik, kur përdoren me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) ose Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle), janë të aftë të ofrojnë:
 - Rezultati i renditjes ≥ 90 gigabaza (Gb)
 - Gjatësia e leximit (në çiftëzim fundor) 2 x 150 çifte bazash (bp)
 - Baza të barabarta ose më të mëdha se Q30 $\geq 75\%$ në gjatësi leximi prej 2 x 150 bp
75% ose më shumë prej bazave kanë rezultate cilësie në shkallën Phred ≥ 30 , duke treguar saktësi të identifikimit të bazës më të madhe se 99.9%
3. Lexime me indele (futje, fshirje ose kombinime) ku gjatësia e përmbajtjes është > 25 bp nuk janë të rreshtuara nga softueri i analizës. Si pasojë, indelet e gjatësisë > 25 bp nuk janë të zbulueshme nga softueri i analizës.
4. Softueri i analizës mund të mos i përputhë leximet e amplikoneve me përmbajtjen e variantit ekstreme, duke rezultuar në raportimin e rajonit si tip normal. Përmbajtje të tilla ekstreme përfshijnë:
 - Lexime që përmbajnë më shumë se tre indele
 - Lexime me gjatësi të paktën 30 bp me përmbajtje të variantit të një nukleotidi të vetëm (SNV) $> 4\%$ e gjatësisë totale të amplikonit të shënjestruar (duke përjashtuar rajonet e sondës)
 - Lexime të gjatësisë < 30 bp me përmbajtje SNV $> 10\%$ e gjatësisë totale të amplikonit (duke përfshirë rajonet e sondës)
5. Variantet e mëdha, duke përfshirë variantet shumë-nukleotidesh (MNV) dhe indelet e mëdha, mund të raportohen si variante më të vogla të ndara në skedarin VCF të rezultateve.
6. Variantet e fshirjes mund të filtrohen ose të mos merren parasysh kur përfshihen dy amplikone me pllaka nëse gjatësia e fshirjes është më e madhe ose e barabartë me mbivendosjen midis amplikoneve me pllaka.
7. Sistemi nuk mund të zbulojë indelet nëse ato ndodhin direkt ngjitur me një prajmër dhe nuk ka amplikon që mbivendoset. Për rajonet me amplikone që mbivendosen, analiza nuk mund të zbulojë fshirje kur rajoni i mbivendosjes është më i vogël se madhësia e fshirjes që duhet zbuluar. Për shembull, nëse rajoni i mbivendosjes midis dy amplikoneve ngjitur është dy baza, analiza nuk mund të zbulojë asnjë fshirje duke përfshirë të dyja ato baza. Mund të zbulohet një fshirje e një baze të vetme në njërin prej këtyre bazave.
8. Ashtu si me çdo rrjedhë pune të përgatitjes së bibliotekës së bazuar në hibridizim, polimorfizmat themelore, mutacionet, futjet ose fshirjet në rajonet që lidhen me oligonukleotidet mund të ndikojnë në alelet që analizohen dhe identifikimet e bëra gjatë renditjes. Për shembull:
 - Një variant në fazë me një variant në rajonin e prajmërit mund të mos amplifikohet, duke rezultuar në një rezultat negativ të rremë.
 - Variantet në rajonin e prajmërave mund të parandalojnë amplifikimin e alelit të referencës, duke rezultuar në një identifikim të pasaktë homozigot të variantit.

- Variantet indel në rajonin e prajmërit mund të shkaktojnë një identifikim pozitiv të rreme në fund të leximit ngjitur me prajmërin.
9. Indelet mund të filtrohen për shkak të paragjykitimit të vargjeve nëse ndodhin afër fundit të një leximi dhe shkurohen butësisht gjatë rreshtimit.
10. MNV-të e vogla nuk janë vlerësuar dhe raportohen vetëm në Modulin e varianteve somatike.
11. Fshirjet raportohen në VCF në koordinatën e bazës paraprahe për formatin VCF. Prandaj, merrni në konsideratë variantet ngjitur përpara se të raportoni se një identifikim individual bazë është një referencë homozigote.
12. Kufizime specifike për linjën germinale:
- Instrumenti NextSeq 550Dx, duke përdorur Modulin e varianteve të linjës germinale të Local Run Manager për NextSeq 550Dx, është projektuar për të dhënë rezultate cilësore për thirrjen e varianteve të linjës germinale (p.sh., homozigotë, heterozigotë, të tipit normal).
 - Kur përdoret me Modulin e varianteve të linjës germinale, mbulimi minimal për amplikon i nevojshëm për identifikimin e saktë të variantit është 150x. Si rezultat, kërkohen 150 fragmente mbështetëse të ADN-së, që është ekuivalente me 300 lexime të çiftëzuara që mbivendosen. Numri i mostrave dhe numri total i bazave të synuara ndikojnë në mbulim. Përmbajtja e GC-së dhe përmbajtja tjetër gjenomike mund të ndikojnë mbulimin.
 - Variacioni i numrit të kopjeve mund të ndikojë nëse një variant identifikohet si homozigot apo heterozigot.
 - Variantet në kontekste të caktuara përsëritëse filtrohen në skedarët VCF. Filtri i përsëritjes RMxN përdoret për të filtruar variantet nëse e gjithë ose një pjesë e renditjes së variantit është e pranishme në mënyrë të përsëritur në gjenomin referues ngjitur me pozicionin e variantit. Për identifikimin e variantit të linjës germinale, kërkohen të paktën nëntë përsëritje në referencë që një variant të filtrohet. Vetëm përsëritjet me një gjatësi deri në 5 bp merren në konsideratë (R5x9).
 - Një indel dhe një SNV në një lokus të vetëm mund të rezultojnë në raportimin e vetëm të një varianti.
13. Kufizime specifike somatike.
- Instrumenti NextSeq 550Dx, duke përdorur Modulin somatik të varianteve të Local Run Manager për NextSeq 550Dx, është projektuar për të dhënë rezultate cilësore për identifikimin e varianteve somatike (p.sh. prania e një varianti somatik me një frekuencë varianti më të madhe ose të barabartë me 0.026 me një limit zbulimi prej 0.05).
 - Kur përdoret me Modulin e varianteve somatike, mbulimi minimal për amplikon i nevojshëm për identifikimin e saktë të variantit është 450x për grup oligonukleotidesh. Si rezultat, kërkohen 450 fragmente mbështetëse të ADN-së për çdo grup oligonukleotidesh, që është ekuivalente me 900 lexime të çiftëzuara që mbivendosen. Numri i mostrave dhe numri total i bazave të synuara ndikojnë në mbulim. Përmbajtja e GC-së dhe përmbajtja tjetër gjenomike mund të ndikojnë mbulimin.
 - Për identifikimin e variantit somatik, kërkohen të paktën gjashtë përsëritje në referencë që varianti të filtrohet, dhe merren në konsideratë vetëm përsëritjet me gjatësi deri në 3 bp (R3x6).

- Moduli i varianteve somatike nuk mund të bëjë dallimin midis varianteve të linjës germinale dhe atyre somatike. Moduli është projektuar për të zbuluar variantet në një gamë të gjerë frekuencash variantesh, por frekuenca e varianteve nuk mund të përdoret për të dalluar variantet somatike nga variantet e linjës germinale.
- Indi normal në mostër ndikon në zbulimin e varianteve. Kufiri i raportuar i zbulimit bazohet në një frekuencë variantesh në lidhje me ADN-në totale të nxjerrë si nga tumori ashtu edhe nga indi normal.

Komponentët e produktit

Illumina NextSeq 550Dx përbëhet nga sa vijon:

- Instrumenti NextSeq 550Dx (Katalogu # 20005715)
- Komponentët e softuerit për Instrumentin NextSeq 550Dx, duke përfshirë sa vijon:

Aplikacioni i softuerit	Funksioni	Përshkrimi
Softueri operativ NextSeq 550Dx (NOS)	Kontrollon funksionimin e instrumentit	Aplikacioni i softuerit NOS menaxhon funksionimin e instrumentit gjatë renditjes dhe krijon imazhe për përdorim nga softueri i Real-Time Analysis (RTA).
Softueri i Real-Time Analysis (RTA)	Kryen analiza parësore	Aplikacioni i softuerit të RTA-së konverton imazhet e krijuara nga NOS për secilën pllakë për cikël të ekzekutimit të renditjes në skedarë të identifikimeve bazë, të cilat janë të dhëna hyrëse për modulet e analizës së Local Run Manager. Aplikacioni i softuerit të RTA-së nuk përmban një ndërfaqe përdoruesi.
Local Run Manager	Ndërfaqja për zgjedhjen e modulit	Softueri i Local Run Manager është një zgjidhje e integruar në instrument për menaxhimin e përdoruesit, zgjedhjen e modulit të duhur të analizës dhe monitorimin e statusit.
Moduli i varianteve somatike	Kryen analiza dytësore	Ky softuer i modulit të analizës së Local Run Manager përpunon identifikimet bazë përmes analizës sekondare. Përpunimi përfshin demultipleksimin, krijimin e skedarëve FASTQ, rreshtimin, identifikimin e varianteve dhe raportimin. Identifikuesi i variantit (Pisces) krijon skedarë VCF që përmbajnë informacion në lidhje me variantet e gjetura në pozicione specifike në një gjenom reference dhe përfshin frekuencën e matur të varianteve.

Aplikacioni i softuerit	Funksioni	Përshkrimi
Moduli i variantit të linjës germinale	Kryen analiza dytësore	Ky softuer i modulit të analizës së Local Run Manager përpunon identifikimet bazë përmes analizës sekondare. Përpunimi përfshin demultipleksimin, krijimin e skedarëve FASTQ, rreshtimin, identifikimin e varianteve dhe raportimin. Identifikuesi i variantit (Pisces) krijon skedarë VCF që përmbajnë informacion në lidhje me variantet e gjetura në pozicione specifike në një gjenom reference dhe identifikon secilin variant si heterozigot ose homozigot.

3. **Opsional** Serveri Illumina DRAGEN për NextSeq 550Dx (Katalogu # 20086130), duke përfshirë komponentin e mëposhtëm të softuerit:

Aplikacioni i softuerit	Funksioni	Përshkrimi
Illumina Run Manager	Ndërfaqja për zgjedhjen e modulit të aplikacionit	Softueri Local Run Manager të Illumina është instaluar në serverin opsional DRAGEN jashtë instrumentit. Run Manager të Illumina mundëson menaxhimin e përdoruesit, përzgjedhjen e modulit të analizës dhe monitorimin e ekzekutimit të renditjes dhe statusit të analizës.

Serveri opsional Illumina DRAGEN për NextSeq 550Dx është i disponueshëm vetëm në vende të caktuara. Kontaktoni një përfaqësues të Illumina për disponueshmërinë rajonale.

Kushtet e funksionimit

Për më shumë informacion mbi kushtet e funksionimit, shihni seksionin Konsideratat Mjedisore në *Udhëzuesin e përgatitjes së vendit të instrumentit NextSeq 550Dx (dokumenti # 1000000009869)*.

Elementi	Specifikimi
Temperatura	Mbani një temperaturë laborator prej 19°C deri në 25°C (22°C ±3°C). Kjo temperaturë është temperatura e funksionimit të instrumentit. Gjatë një ekzekutimi, mos lejoni që temperatura e ambientit të ndryshojë më shumë se ±2°C.
Lagështia	Mbani një lagështi relative pa kondensim midis 20-80% RH.

Për udhëzimet, njoftimet dhe informacionet më të fundit mbi sigurinë Illumina sistemeve, referojuni [Security and Networking](#) (Siguria dhe Rrjetëzimi).

Pajisjet dhe materialet

Pajisjet dhe materialet e nevojshme, shiten veçmas

NextSeq 550Dx Komplet reagenti me rezultat të lartë v2.5 (75 cikle), Katalogu # 20028870

NextSeq 550Dx Komplet reagenti me rezultat të lartë v2.5 (300 cikle), Katalogu # 20028871

Pajisjet dhe materialet e kërkuara, nuk ofrohen

Materiale të konsumueshme të furnizuara nga përdoruesi për renditjen e analizave

Të konsumueshme	Furnizuesi	Qëllimi
Peceta me alkool, izopropil 70% ose Etanol, 70%	VWR, katalogu # 95041-714 (ose ekuivalent) Furnizuesi i laboratorit të përgjithshëm	Pastrimi i qelizës rrjedhëse dhe qëllimi i përgjithshëm
Pëlhurë laboratorike, me pak fije	VWR, katalog # 21905-026 (ose ekuivalent)	Pastrimi i qelizës rrjedhëse dhe qëllimi i përgjithshëm

Materiale të konsumueshme të furnizuara nga përdoruesi për mirëmbajtjen e instrumenteve

Të konsumueshme	Furnizuesi	Qëllimi
NaOCl, 5% (hipoklorit natriumi)	Sigma-Aldrich, katalogu # 239305 (ose ekuivalent i gradës laboratorike)	Larja e instrumentit duke përdorur larjen manuale pas përdorimit; e holluar në 0.12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalogu # P7949	Larja e instrumentit duke përdorur opsionet e larjes manuale; i holluar në 0.05%
Uji, i gradës laboratorike	Furnizuesi i laboratorit të përgjithshëm	Larja e instrumentit (larja manuale)
Filtri i ajrit	Illumina, katalogu # 20063988	Pastrimi i ajrit që instrumenti merr për ftohje

Udhëzime për ujin e gradës laboratorik

Përdorni gjithmonë ujë të kategorisë laboratorike ose ujë të deionizuar për të kryer procedurat me instrumentin. Mos përdorni kurrë ujë rubineti. Përdorni vetëm kategoritë e mëposhtme të ujit ose ekuivalentët e tij:

- Uji i deionizuar
- Illumina PW1
- Uji 18 Megohm (MΩ)
- Uji Milli-Q
- Uji Super-Q
- Uji i gradës biologjike molekulare

Paralajmërimet dhe masat paraprake



KUJDES

Ligji federal e kufizon këtë pajisje për shitje nga ose me urdhër të një mjeku ose praktikuesi tjetër të liçensuar nga ligji i Shtetit në të cilin ai/ajo ushtron profesionin, për ta përdorur ose për të urdhëruar përdorimin e pajisjes.

1. **Disa përbërës të reagentëve të ofruar nga Illumina për përdorim me Instrumentin NextSeq 550Dx përmbajnë kimikate potencialisht të rrezikshme. Lëndimi personal mund të ndodhë përmes thithjes, gëlltitjes, kontaktit me lëkurën dhe kontaktit me syrin. Vishni pajisje mbrojtëse, duke përfshirë mbrojtjen e syve, doreza dhe përparëse laboratorit të përshtatshme për rrezikun e ekspozimit. Trajtoni reagentët e përdorur si mbetje kimike dhe hidhini në përputhje me ligjet dhe rregulloret rajonale, kombëtare dhe lokale në fuqi. Për informacion shtesë rreth mjedisit, shëndetit dhe sigurisë, referojuni Fletëve të të dhënave të sigurisë (SDS) në support.illumina.com/sds.html.**
2. Trajtojini të gjitha mostrat e gjakut sikur të dihet se janë infektive për virusin e mungesës së imunitetit njerëzor (HIV), virusin e hepatitit B njerëzor (HBV) dhe agjentë të tjerë patogjenë që transmetohen në gjak (masa paraprake universale).
3. Mosndjekja e procedurave të përshkruara mund të rezultojë në rezultate të gabuara ose në një ulje të ndjeshme të cilësisë së mostrës.
4. Përdorni masat paraprake të zakonshme laboratorike. Mos përdorni pipetën në gojë. Mos hani, pini ose pini duhan në zonat e caktuara të punës. Vishni doreza me një përdorim dhe veshje laboratorike kur merreni me mostrat dhe reagentët e kompletit. Lani duart me kujdes pas trajtimit të mostrave dhe reagentëve të kompletit.
5. Praktikrat e duhura laboratorike dhe higjiena e mirë laboratorike janë të nevojshme për të parandaluar që produktet PCR të ndotin reagentët, instrumentet dhe mostrat gjenomike të ADN-së. Ndotja PCR mund të shkaktojë rezultate të pasakta dhe jo të besueshme.
6. Për të parandaluar kontaminimin, sigurohuni që zonat para dhe pas amplifikimit të kenë pajisje dhe materiale të konsumueshme të dedikuara (p.sh., pipeta, maja pipetash, blloqe nxehtësie, vorbullues dhe centrifuga).

7. Çiftimi i indeksit me mostrën duhet të përputhet saktësisht me paraqitjen e pllakës së printuar. Local Run Manager popullon automatikisht prajmërat e indeksit të shoqëruar me emrat e mostrave, kur futen në modul. Përdoruesit këshillohet të verifikojë prajmërt e indeksit që shoqërohen me mostrat përpara se të fillojë ekzekutimin e renditjes. Mospërputhjet midis paraqitjes së mostrës dhe pllakës rezultojnë në humbjen e identifikimit të mostrës pozitive dhe raportimin e rezultateve të pasakta.
8. Instalimi i një softueri antivirus të ofruar nga përdoruesi rekomandohet fuqimisht për të mbrojtur kompjuterin nga viruset. Konsultoni manualin e përdoruesit për udhëzime mbi instalimin.
9. Mos përdorni NextSeq 550Dx me ndonjë prej paneleve të hequr. Përdorimi i instrumentit me ndonjë nga panelet e hequr krijon ekspozim të mundshëm ndaj tensionit të linjës dhe tensioneve DC (rryma e vazhdueshme).
10. Mos e prekni fazën e qelizës rrjedhëse në ndarjen e qelizës rrjedhëse. Ngrohësi në këtë ndarje funksionon midis 22°C dhe 95°C dhe mund të shkaktojë djegie.
11. Instrumenti peshon afërsisht 185 paund dhe mund të shkaktojë lëndime të rënda nëse bie ose përdoret keq.
12. Illumina njihet nevojën e vazhdueshme për të menaxhuar kërcënimet e sigurisë kibernetike, për udhëzimet, alarmet dhe informacionin më të fundit të sigurisë për sistemet e Illumina, referojuni [Security and Networking](#) (Siguria dhe rrjetëzimi).

Udhëzime për përdorim

Udhëzimet e mëposhtme për përdorimin e Instrumentit NextSeq 550Dx kërkojnë reagentët e dhënë në Kit-in e Reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) ose kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (75 cikle).

Krijoni ekzekutimin

Krijoni një renditje duke përdorur Local Run Manager ose Illumina Run Manager. Udhëzimet për përdorimin e Local Run Manager janë përfshirë më poshtë dhe në Udhëzuesi i referencës së instrumentit NextSeq 550Dx (dokumenti # 1000000009513). Për udhëzimet se si të krijoni një ekzekutim duke përdorur Illumina Run Manager, referojuni Udhëzuesi i softuerit të Run Manager të Illumina për NextSeq 550Dx (dokumenti # 200025239).

Për udhëzimet mbi zgjedhjen midis Local Run Manager ose Illumina Run Manager, referojuni Udhëzuesi i softuerit të Run Manager të Illumina për NextSeq 550Dx (dokumenti # 200025239). Për udhëzime të hollësishme mbi aplikime specifike, referojuni modulit ose udhëzuesit të aplikimit për analizën specifike.

Udhëzimet e mëposhtme kanë të bëjnë me përdorimin e moduleve të linjës germinale dhe variantit somatik të Local Run Manager.

Caktoni parametrat

1. Identifikohuni te Local Run Manager.

2. Zgjidhni **Create Run** (Krijoni ekzekutimin) dhe zgjidhni **Somatic variant** (Varianti somatik) ose **Germline Variant** (Varianti i linjës germinale).
3. Fusni një emër ekzekutimi që identifikon ekzekutimin nga renditja deri në analizë. Përdorni elementë alfanumerikë, hapësira, nënvizime ose viza.
4. [Opsionale] fusni një përshkrim të ekzekutimit për të ndihmuar në identifikimin e ekzekutimit. Përdorni elementë alfanumerikë, hapësira, nënvizime ose viza.
5. Zgjidhni numrin e mostrave dhe grupin e indekseve nga lista zbritëse. Konsideroni informacionin e mëposhtëm kur bëni një zgjedhje.
 - Lista zbritëse përmban numrat e mostrave me një grup indeksesh. Për shembull, 24-Set 1 tregon 24 mostra që do të analizohen, me indekse nga grupi i indeksit 1.
 - Numrat e grupeve të indekseve u referohen grupeve të ndryshme të çifteve të indekseve i5 dhe i7. Komplet 1 dhe Komplet 2 ofrojnë të dy larmi indeksi. Ofrohen dy grupe indeksesh për të ndihmuar në parandalimin e shterimit të një grupi të vetëm.
 - Zgjidhni numrin e mostrave që është më i afërt me numrin e mostrave që po analizoni. Nëse numri i saktë i mostrave nuk është në listë, zgjidhni numrin më të afërt, por më të vogël se numri që po analizoni. Për shembull, nëse doni të analizoni 18 mostra, zgjidhni 16 mostra.
 - Pusete mostrave të sugjeruara dhe kombinimet e indeksit që plotësojnë kërkesat e larmisë së indeksit janë të theksuara me ngjyrë jeshile.

Importoni skedarët e manifestit për ekzekutimin

1. Sigurohuni që manifestet që dëshironi të importoni janë të disponueshëm në një vendndodhje të aksesueshme në rrjet ose në një disk USB.
2. Zgjidhni **Import Manifests** (Importoni manifestet).
3. Shkoni te skedari i manifestit dhe zgjidhni manifestet që dëshironi të shtoni.

VINI RE Për t'i bërë skedarët e manifestit të disponueshëm për të gjitha ekzekutimet duke përdorur modulën e analizës së variantit të linjës germinale ose variantit somatik, shtoni manifeste duke përdorur veçorinë Module Settings (Cilësimet e modulit). Kjo veçori kërkon leje të nivelit të përdoruesit administrator. Për më shumë informacion, shihni *Udhëzuesi i referencës së instrumentit NextSeq 550Dx (dokumenti # 1000000009513)*.

Specifikoni mostrat për ekzekutimin

Specifikoni mostrat për ekzekutimin duke përdorur një nga opsionet dhe udhëzimet që vijojnë.

Enter samples manually (fusni mostrat manualisht)—Përdorni tabelën bosh në ekranin Create Run (Krijoni ekzekutimin).

Import samples (Importoni mostrat)—Shkoni te një skedar i jashtëm në formatin e vlerave të ndara me presje (*.csv). Një model është i disponueshëm për shkarkim në ekranin Create Run (Krijoni ekzekutimin).

Fusni mostrat manually (manualisht)

1. Fusni një emër unik të mostrës (*Somatic Variant analysis module*) (Moduli i analizës së variantit somatik) ose ID-ja e mostrës (*Germline Variant analysis module*) (Moduli i analizës së variantit të linjës germinale). Përdorni elementë alfanumerikë, viza ose nënvizime.
2. [Opsionale] Për mostrat e kontrollit pozitiv ose negativ, klikoni me të djathtë dhe zgjidhni llojin e kontrollit. Kontrolli në një pus mostre e popullon automatikisht pusin përkatës në grupin tjetër me të njëjtin kontroll.
3. [Opsionale] fusni një përshkrim të mostrës në fushën Përshkrimi i mostrës. Përdorni elementë alfanumerikë, viza ose nënvizime.
4. Zgjidhni një përshtatës Indeks 1 nga lista zbritëse Indeks 1 (i7). Kur përdorni pusët e mostrave të sugjeruara, softueri popullon automatikisht përshtatësit e indeksit i7 dhe i5 që plotësojnë kërkesat e indeksit të larmisë. Nëse numri i saktë i mostrave që po analizoni nuk është në listë, sigurohuni që të zgjidhni përshtatës indeksi për puse shtesë.
5. Zgjidhni një përshtatës Indeks 2 nga lista zbritëse Indeks 2 (i5).
6. Zgjidhni një skedar manifesti nga lista zbritëse Manifesti. Mostrat në Bashkimin A kërkojnë një manifest të ndryshëm nga mostrat në Bashkimin B.
7. Zgjidhni një opsion për të parë, printuar ose ruajtur paraqitjen e pllakës si referencë për përgatitjen e bibliotekave:
 - Zgjidhni ikonën  **Print** (Printoni) për të shfaqur paraqitjen e pllakës. Zgjidhni **Print** (Printoni) për të printuar paraqitjen e pllakës.
 - Zgjidhni **Export** (Eksportoni) për të eksportuar informacionin e mostrës në një skedar të jashtëm.
8. Zgjidhni **Save Run** (Ruani Ekzekutimin).

Importoni mostra

1. Zgjidhni **Import Samples** (Importoni mostrat) dhe shfletoni tek vendndodhja e skedarit të informacionit të mostrës. Ekzistojnë dy lloje skedarësh që mund të importoni.
 - Zgjidhni **Template** (Modeli) në ekranin Create Run (Krijoni ekzekutimin) për të krijuar një paraqitje të re të pllakës. Skedari i modelit përmban titujt e saktë të kolonave për importim. Fusni informacionin e mostrës në secilën kolonë për mostrat në ekzekutim. Fshini informacionin e shembullit në qelizat e papërdorura dhe më pas ruani skedarin.
 - Përdorni një skedar me informacion të mostrës që është eksportuar nga moduli i Variantit të linjës germinale ose varianti somatik duke përdorur veçorinë Export (Eksportoni).
2. Zgjidhni ikonën  **Print** (Printoni) për të shfaqur paraqitjen e pllakës.
3. Zgjidhni **Print** (Printoni) për të printuar paraqitjen e pllakës si referencë për përgatitjen e bibliotekave.
4. Zgjidhni **Save Run** (Ruani Ekzekutimin).

Përgatitni Fishekun e reagentit

Sigurohuni që t'i ndiqni me kujdes udhëzimet e fishekut të reagentit për renditje të suksesshme.

1. Hiqni fishekun e reagentit nga ruajtja në -25°C deri në -15°C.
2. Zgjidhni një nga metodat e mëposhtme për të shkruar reagentët. Mos e zhytni fishekun. Pasi fisheku të jetë shkruar, thajeni atë përpara se të vazhdoni me hapin tjetër.

Temperatura	Koha për shkruar	Kufiri i stabilitetit
Banjë uji nga 15°C deri në 30°C	60 minuta	Jo më shumë se 6 orë
2°C deri në 8°C	7 orë	Jo më shumë se 5 ditë

VINI RE Nëse më shumë se një fishek po shkruhet në të njëjtën banjë me ujë, prisni kohë shtesë për shkruarje.

3. Përmbyseni fishekun pesë herë për të përzier reagentët.
4. Inspektoni pjesën e poshtme të fishekut për t'u siguruar që reagentët janë shkruar dhe pa precipitate. Konfirmoni që pozicionet 29, 30, 31 dhe 32 janë shkruar, pasi ato janë më të mëdhatë dhe ju duhet më shumë kohë për t'u shkruar.
5. Trokitni lehtë në bankë për të zvogëluar flluskat e ajrit.
Për rezultate më të mira, vazhdoni direkt me vendosjen e mostrës dhe konfigurimin e performancës.

Përgatitni qelizën rrjedhëse

1. Hiqni një kuti të re të qelizës rrjedhëse nga ruajtja në temperaturë 2°C deri në 8°C.
2. Hiqni paketën e aluminit nga kutia dhe lëreni mënjane në temperaturën e dhomës për 30 minuta.

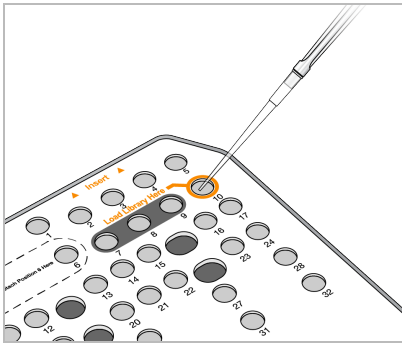
Përgatitni bibliotekat për renditje

Denatyrioni dhe holloni bibliotekat tuaja deri në një vëllim ngarkimi prej 1.3 ml. Në praktikë, përqendrimi i ngarkimit mund të ndryshojë në varësi të përgatitjes së bibliotekës dhe metodave të kuantifikimit. Hollimi i bibliotekave të mostrave varet nga kompleksiteti i grupeve të oligonukleotideve. Për udhëzime se si të përgatitni bibliotekat e mostrave për renditje, duke përfshirë hollimin dhe grupimin e bibliotekave, shihni seksionin Udhëzime për Përdorim për kompletin përkatës të përgatitjes së bibliotekës. Kërkohe optimizimi i dendësisë së grupit në NextSeq 550Dx.

Ngarkoni bibliotekat në fishekun e reagentit

1. Pastroni guarnicionin prej flete metalike që mbulon rezervuarin nr. 10 të etiketuar **Load Library Here** (Ngarkoni bibliotekën këtu) duke përdorur një pecetë me pak push.
2. Shponi vulën me një majë të pastër të pipetës 1 ml.
3. Ngarkoni 1.3 ml të bibliotekave të përgatitura në rezervuarin #10 të etiketuar **Load Library Here** (Ngarkoni bibliotekën këtu). Shmangni prekjen e vulës së fletës metalike ndërsa vendosni bibliotekat.

Figura 1 Ngarkoni bibliotekat



Konfiguroni një ekzekutim renditjeje

Shihni Udhëzuesi i referencës së instrumentit NextSeq 550Dx (dokumenti # 1000000009513) për udhëzime të plota të konfigurimit të ekzekutimit.

1. Identifikohuni në NextSeq 550Dx me fjalëkalimin tuaj të softuerit Local Run Manager ose Run Manager Illumina.
2. Nga ekrani Home (Kreu) i softuerit NOS, zgjidhni **Sequence** (Renditje).
3. Zgjidhni një ekzekutim nga lista dhe pastaj zgjidhni **Next** (Tjetër).
Një seri ekranesh të konfigurimit të ekzekutimit hapen në rendin e mëposhtëm: Ngarkoni qelizën rrjedhëse, Ngarkoni fishekun e ndarësit, Ngarkoni fishekun e reagentit dhe Kontrollin para ekzekutimit.

VINI RE Ekzekutimet janë të arritshme vetëm duke përdorur të njëjtin Menaxher të ekzekutimit të përdorur gjatë planifikimit të ekzekutimit. Për udhëzime se si të konfiguroni Softuerin Run Manager (Menaxheri i ekzekutimit), referojuni Udhëzuesi i softuerit të Run Manager të Illumina për NextSeq 550Dx (dokumenti # 200025239).

4. Kur të shfaqet ekrani Load Flow Cell (Vendosni qelizën rrjedhëse), pastroni dhe më pas vendosni qelizën rrjedhëse.
 - Hiqni qelizën rrjedhëse nga paketa e fletës metalike.
 - Hapni paketimin prej plastike transparente dhe hiqni qelizën rrjedhëse
 - Pastroni sipërfaqen prej xhami të qelizës rrjedhëse me një pecetë pa push me alkool. Thajeni xhamin me një pecetë laboratorit me pak push
 - Sigurohuni që sipërfaqja prej xhami e qelizës rrjedhëse të jetë e pastër. Nëse është e nevojshme, përsërisni hapin e pastrimit.
 - Hiqni qelizën rrjedhëse të përdorur nga një ekzekutim i mëparshëm.
 - Rreshtoni qelizën rrjedhëse mbi kunjat e rreshtimit dhe vendoseni qelizën rrjedhëse në fazë.
5. Zgjidhni **Load** (Ngarkoni).
Dera mbyllet automatikisht, ID e qelizës rrjedhëse shfaqet në ekran dhe sensorët kontrollohen.

6. Ndiqni udhëzimet e softuerit për të zbrazur enën e reagentëve të përdorur, për të vendosur fishekun e ndarësit NextSeq 550Dx dhe për të vendosur fishekun e reagentit NextSeq 550Dx.
Kur vendosen fishekët e ndarësit dhe reagentëve NextSeq 550Dx, softueri lexon dhe regjistron RFID. ID-të e fishekut të ndarjes dhe reagentit shfaqen në ekran dhe sensorët kontrollohen.
7. Kur të përfundojë kontrolli automatik para ekzekutimit, zgjidhni **Start** (Nisni). (Nuk kërkohet nëse është konfiguruar të fillojë automatikisht.)
8. Ekran i Sequencing (Rendija) hapet kur fillon ekzekutimi. Ky ekran ofron një paraqitje vizuale të vrapimit në vazhdim, duke përfshirë intensitetet dhe rezultatet e cilësisë (rezultatet Q).

Rezultatet

Real-Time Analysis (RTA) është një program i integruar që kryen analizën e imazheve dhe identifikimin e bazave dhe cakton një rezultat cilësor për secilën bazë për çdo cikël renditjeje. Kur përfundon analiza primare, moduli i zgjedhur i aplikacionit fillon automatikisht analizën sekondare. Proceset e analizës dytësore të përshkruara këtu janë për Local Run Manager Modulen e linjës germinale dhe variantit somatik në Instrumentin NextSeq 550Dx.

Demultipleksimi

Demultipleksimi krahason çdo renditje të Leximit të indeksit me renditjet e indeksit të specifikuar për ekzekutimin. Në këtë hap nuk merren në konsideratë vlera cilësore.

Leximet e indeksit identifikohen duke përdorur hapat e mëposhtëm:

- Mostrat numërohen duke filluar nga 1 bazuar në rendin në të cilin janë renditur për ekzekutimin.
- Numri i mostrës 0 është i rezervuar për grupet që nuk i janë caktuar një mostre.
- Grupet i caktohen një mostre kur renditja e indeksit përputhet saktësisht ose kur ka deri në një mospërputhje të vetme për Lexim të indeksit.

Gjenerimi i skedarëve FASTQ

Pas demultipleksimit, softueri krijon skedarë të ndërmjetëm analizash në formatin FASTQ, i cili është një format teksti i përdorur për të përfaqësuar renditjet. Skedarët FASTQ përmbajnë lexime për çdo mostër dhe rezultatet e lidhura të cilësisë. Përfshihen grupet që nuk e kaluan filtrin.

Çdo skedar FASTQ përmban lexime vetëm për një mostër dhe emri i asaj mostre përfshihet në emrin e skedarit FASTQ. Nëmodulen e varianteve të linjës germinale dhe somatike, krijohen tetë skedarë FASTQ për mostër për oligopool, katër nga Leximi 1 dhe katër nga Leximi 2. Ky rezultat rezulton në një total prej 8 dhe 16 skedarësh FASTQ për mostër për linjën germinale dhe somatike, përkatësisht. Skedarët FASTQ janë të dhënat kryesore hyrëse për rreshtimin.

Rreshtimi

Gjatë hapit të rreshtimit, algoritmi Smith-Waterman me breza rreshton grupet nga secila mostër kundrejt renditjeve amplikon të specifikuar në skedarin manifest.

Algoritmi Smith-Waterman me breza kryen rreshtime renditjesh gjysmëglobale për të përcaktuar rajone të ngjashme midis dy renditjeve. Në vend që të krahasojë renditjen totale, algoritmi Smith-Waterman krahason segmentet e të gjitha gjatësivë të mundshme.

Çdo lexim i çiftëzuar vlerësohet në aspektin e rreshtimit të tij me renditjet përkatëse të sondës për atë lexim.

- Leximi 1 vlerësohet kundrejt komplementit të kundërt të Oligove specifike të lokusit të rrjedhës së poshtme (DLSO).
- Leximi 2 vlerësohet kundrejt Oligove specifike të lokusit të rrjedhës së sipërme (ULSO).
- Nëse fillimi i një leximi përputhet me një renditje sondash me jo më shumë se një mospërputhje, gjatësia e plotë e leximit rreshtohet kundrejt objektivit të amplikonit për atë renditje.
- Nëse fillimi i një leximi përputhet me një renditje sondash me jo më shumë se tre ndryshime (mospërputhje ose zhvendosje për shkak të indeleve kryesore), gjatësia e plotë e leximit rreshtohet kundrejt objektivit të amplikonit për atë renditje.
- Indelet brenda DLSO dhe ULSO nuk vërehen duke pasur parasysh kiminë e analizës.

Rreshtimet filtrohen nga rezultatet e rreshtimit bazuar në shkallët e mospërputhjes ose në rajonin e interesit ose në të gjithë amplikonin, në varësi nga gjatësia e amplikonit. Rreshtimet e filtruara shkruhen në skedarët e rreshtimit si të parreshtuar dhe nuk përdoren në identifikimin e variantit.

Identifikimi i variantit

Identifikuesi i variantit Pisces është projektuar për të bërë identifikime të variantit SNV dhe indel nga bibliotekat e përgatitura për instrumentin.

Raportet dhe skedarët shtesë të rezultateve

Modulet e analizës së variantit prodhojnë PDF dhe raporte të ndara me tab (*.txt) që shfaqin metrika të tilla si thellësia e renditjes dhe numri i varianteve. Modulet prodhojnë gjithashtu skedarë të rezultateve siç janë skedarët VCF dhe skedarët e Formatit të identifikimit të variantit të gjenomit (gVCF) për aplikacionet që identifikojnë variante.

Procedurat e kontrollit të cilësisë

NextSeq 550Dx Softueri vlerëson çdo ekzekutim, mostër dhe identifikim bazë kundrejt metrikave të kontrollit të cilësisë. Kontrollat pozitive dhe negative rekomandohen gjithashtu në përgatitjen e bibliotekës dhe duhet të vlerësohen. Vlerësoni kontrollat si më poshtë:

- **Negative Control (No Template Control) or other negative control** (Kontroll negativ (pa kontroll modeli) ose kontroll tjetër negativ)—Duhet të krijojë rezultatin e pritur. Nëse kontrolli negativ krijon një rezultat të ndryshëm nga ai që pritet, atëherë ka ndodhur një gabim i mundshëm në gjurmimin e mostrës, regjistrim i pasaktë i prajmerëve të indeksimit ose ndotje.
- **Positive Control Sample** (Mostër kontrolli pozitiv)—Duhet të krijojë rezultatin e pritur. Nëse kontrolli pozitiv krijon një rezultat të ndryshëm nga ai që pritet, atëherë ka ndodhur një gabim i mundshëm në gjurmimin e mostrës ose regjistrim i pasaktë i prajmerëve të indeksimit.

Karakteristikat e performancës

Karakteristikat e performancës për Instrumentin NextSeq 550Dx u krijuan duke përdorur Modulet e variantit të linjës germinale dhe somatike me Kompletin e personalizueshëm të amplikonit TruSeq Dx dhe Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) dhe u konfirmuan duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle). Studimet përfshinin Indeksimin e mostrës, Mbajtjen e mostrës, Futjen e ADN-së, Ndjeshmërinë analitike (Limiti i boshllëkut / Limiti i zbulimit), Saktësinë, Preçizionin, Krahasimin e metodave dhe riprodhueshmërinë.

Studimet analitike duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) u hartuan për të vlerësuar pretendimet e performancës të përcaktuara më parë me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle). Rezultatet tregojnë se kompletet e reagentit (v2 dhe v2.5) kanë performancë të krahasueshme duke përdorur Kompletin e personalizueshëm të amplikonit TruSeq Dx. Shihni *fletushkën e paketimit të Kompletit të personalizuar të amplikonit TruSeq Dx* për karakteristikat e performancës që lidhen me faktorët para-analitikë, siç janë metodat e nxjerrjes ose substancat ndërhyrëse.

Përkufizimet e Llogaritjeve të përdorura në karakteristikat e performancës

1. Përqindja e marrëveshjes pozitive (PPA) llogaritet si përqindja e lokuseve të klasifikuara si variante nga një metodë referimi që analiza raporton saktë.
 - $(\# \text{ i lokuseve variante të raportuara saktë nga analiza}) / (\# \text{ total i lokuseve variante})$
Lokuset variante të raportuara nga analiza që janë në përputhje me metodën e referencës janë pozitive të vërteta (TP). Lokuset variante të raportuara si identifikime reference ose si identifikime të ndryshme variantesh nga analiza janë negative të rreme (FN).
2. Përqindja negative e marrëveshjes (NPA) llogaritet si përqindja e lokuseve të klasifikuara si të tipit normal nga një metodë referimi që analiza e raporton saktë.
 - $(\# \text{ i lokuseve të tipit normal të raportuara saktë nga analiza}) / (\# \text{ total i lokuseve të tipit normal})$
Lokuset e tipit normal të raportuara nga analiza që janë në përputhje me metodën e referencës janë vërtet negative (TN). Lokuset e tipit normal të raportuara si variante nga analiza janë pozitive të rreme (FP).

3. Pajtuëshmërisë e përgjithshme në përqindje (OPA) llogaritet si përqindja e lokuseve të raportuara saktë nga analiza në krahasim me një metodë reference.
 - $$\frac{((\# \text{ i lokuseve variante të raportuara saktë nga analiza}) + (\# \text{ i lokuseve të tipit normal të raportuara saktë nga analiza}))}{((\# \text{ total i lokuseve variante}) + (\# \text{ total i lokuseve të tipit normal}))}$$
4. Llogaritjet e PPA, NPA dhe OPA nuk përfshijnë asnjë identifikim (variant ose vendndodhje referuese që nuk plotësojnë një ose më shumë filtra cilësie).
5. Shkalla e identifikimit autosomal llogaritet si numri total i filtrave që kalojnë lokuset pjesëtuar me numrin total të pozicioneve të renditura për kromozomet 1-22; kromozomet X dhe Y përjashtohen. Kjo metrikë nuk merr në konsideratë përputhshmërinë e identifikimeve me metodën e referencës.

Kompleti i reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 Cikle) performancë

Indeksi i mostrës

Praimerët e indeksit të mostrës, të shtuar gjatë përgatitjes së bibliotekës, i caktojnë një renditje unike secilës mostre të ADN-së. Këto renditje unike lejojnë që mostra të shumta të bashkohen në një seri të vetme renditjeje. Indeksi i mostrës përdoret si për rrjedhat e punës të linjës germinale ashtu edhe për ato somatike. Qëllimi i këtij studimi ishte të përcaktohej numri minimal (8) dhe maksimal (96) i mostrave që mund të përpunohen në një renditje të vetme nga Instrumenti NextSeq 550Dx. Tetë mostra unike të Gjenomit të platinut u analizuan me 12 kombinime të ndryshme të prajmerëve indeksues për mostër. Rezultatet e mostrës nga katër renditje duke përdorur Modulin e varianteve të linjës germinale u krahasuan me versionin 2016-1.0 të Gjenomit të platinut.

Për grupin e parë të analizave, 96 biblioteka mostrash të indeksuara në mënyrë unike u analizuan me një analizë përfaqësuese të projektuar për të kërkuar për një sërë gjenesh që mbulojnë 12,588 baza për fije në të gjitha 23 kromozomet njerëzore për të verifikuar aftësinë e analizës për të bërë një identifikim gjenotipizimi në mënyrë të vazhdueshme për një mostër të caktuar në kombinime të ndryshme të prajmerëve indeksues. Për grupin e dytë të ekzekutimeve, tetë biblioteka mostrash të indeksuara në mënyrë unike u renditën në dy ekzekutime renditjeje për të verifikuar numrin minimal të indekseve të mbështetur.

Për ekzekutimet me 96 indekse, PPA për SNV-të variante nga 98.7% në 100%, PPA për futjet dhe fshirjet ishte 100% dhe NPA ishte 100% për secilën nga 96 kombinimet e indeksit. Ekzekutimet me 8 indekse kishin vlera PPA prej 100% (SNV, futje dhe fshirje) dhe NPA prej 100% për secilën nga tetë kombinimet e indeksit.

Mbartja e mostrës

Instrumenti NextSeq 550Dx lejon renditjen e mostrave të shumta plus kontrolleve në një ekzekutim të vetëm renditjeje. U krye një studim për të vlerësuar shkallën e transferimit të mostrës brenda një ekzekutimi renditjeje (brenda ekzekutimit) dhe midis ekzekutimeve të renditjeve (nga një ekzekutim në tjetrin). Dy mostra të Gjenomit të platinut, një mashkull dhe një femër, u analizuan me një analizë përfaqësuese të projektuar për të kërkuar për gjene të ndryshme që mbulojnë 12,588 baza (150 amplikone) në 23 kromozome të ndryshme, duke përfshirë të

dy kromozomet seksuale. Bibliotekat u renditën në instrumentin NextSeq 550Dx duke përdorur Modulën e variantit të linjës germinale. Mbartja e mostrave mashkullore në mostrat femërore u vu re nga prania e leximeve të amplikonit të kromozomit Y në mostrat femërore.

Mbartja brenda një ekzekutimi mund të futet gjatë krijimit të grupit, identifikimit të bazës së ciklit të indeksit dhe demultipleksimit të mostrës. Për analizën e transferimit të mostrës brenda një renditjeje, një grup biblioteke i përbërë nga 46 replikime secila prej mostrave mashkullore dhe femërore plus katër kontrole pa model u renditën një herë në instrumentin NextSeq 550Dx. Mbartja e mostrës brenda një serie u vlerësua duke krahasuar mbulimin e amplikonit të kromozomit Y të secilës replikatë femërore me mbulimin mesatar të amplikonit të kromozomit Y të të gjitha replikatave meshkuj në grup. Mesatarja e vëzhguar e transferimit brenda periudhës ishte 0.084%.

Për analizimin e transferimit të mostrës nga një seri në tjetrën, u përgatitën dy bashkime bibliotekash dhe u renditën njëra pas tjetrës në një instrument NextSeq 550Dx. Bashkimi i parë përmbante 46 kopje të mostrës femërore plus dy kontrole pa model. Bashkimi i dytë përmbante 46 kopje të mostrës mashkullore plus dy kontrole pa model. Të dy bashkimet përdorën të njëjtin grup adaptorësh indeksi. Grupi femëror u rendit i pari, i ndjekur nga një renditje pasuese me grupin mashkullor, i ndjekur nga një renditje tjetër e përsëritur e grupit femëror. Mbartja e mostrës nga një seri në tjetrën u vlerësua duke krahasuar mbulimin e amplikonit të kromozomit Y midis përsëritjeve përkatëse të ekzekutimit të përsëritur të grupit të femrave dhe grupit të meshkujve. Mesatarja e vëzhguar e transferimit nga një fazë në tjetrën ishte 0.0076%.

Futja e ADN-së

Gjaku (vija germinale)

Diapazoni i hyrjes së ADN-së së gjakut për përgatitjen e bibliotekës së Kompletit të personalizueshëm të amplikonit të TruSeq Custom Dx duke përdorur rrjedhën e punës së modulit të variantit të linjës germinale u krijua për Instrumentin NextSeq 550Dx. Ky diapazon u vlerësua duke kryer një studim hollimi serial duke përdorur 13 mostra të Gjenomit të platinut me një analizë përfaqësuese të projektuar për të marrë informacion për gjene të ndryshme që mbulojnë 12,588 baza në 23 kromozome të ndryshme. Biblioteka u rendit në dy instrumente NextSeq 550Dx duke përdorur një grup të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle).

Pesë mostra u analizuan në dublikatë në pesë nivele të hyrjes së ADN-së që variojnë nga 250 ng deri në 12 ng (250 ng, 100 ng, 50 ng, 25 ng dhe 12 ng). Tetë mostra u analizuan si një replikim i vetëm në secilin prej pesë niveleve të hyrjes së ADN-së. Për përcaktimin e saktësisë, gjenotipet e mostrës u krahasuan me versionin 2016-1.0 të Gjenomeve të platinut. Rezultatet u përcaktuan për secilin nivel të të dhënave hyrëse. PPA për secilin lloj varianti (SNV, futje dhe fshirje) paraqitet në [Tabela 1](#); NPA paraqitet në [Tabela 2](#). Të gjitha nivelet e të dhënave hyrëse kishin saktësi të ngjashme. Doza e rekomanduar e ADN-së për Kompletin e personalizimit të amplikonit TruSeq Dx është 50 ng, me 25 ng dhe 100 ng, duke siguruar një limit të poshtëm dhe të sipërm për të përmbushur karakteristikat e performancës.

Tabela 1 Rezultatet PPA për çdo të dhënë të ADN-së sipas llojit të variantit

Futja e ADN-së	Lloji i	Variantet e	TP	FN	Varianti pa	PPA
----------------	---------	-------------	----	----	-------------	-----

(ng)	variantit	pritura	identifikim			(%)
12	SNV	2412	2381	31	0	98.7
25			2404	8	0	99.7
50			2403	9	0	99.6
100			2412	0	0	100
250			2412	0	0	100
12	Futja	808	784	3	21	99.6
25			781	5	22	99.4
50			786	2	20	99.8
100			786	0	22	100
250			786	0	22	100
12	Fshirja	758	732	12	14	98.4
25			737	7	14	99.1
50			742	2	14	99.7
100			744	0	14	100
250			744	0	14	100

Tabela 2 NPA për çdo hyrje të ADN-së

Futja e ADN-së (ng)	TN	FP	Asnjë identifikim i referimit	NPA (%)
12	430940	4	26	>99.9
25	430936	0	34	100
50	430936	2	32	>99.9
100	430942	0	28	100
250	430942	0	28	100

FFPE (Somatike)

Diapazoni i hyrjes së ADN-së së fiksuar në formalinë të ngulitur në parafinë (FFPE) për Kompletin e personalizimit të amplikonit TruSeq Dx për përgatitjen e bibliotekës duke përdorur rrjedhën e punës të Modulit të variantit somatik u krijua për instrumentin NextSeq 550Dx. Diapazoni i hyrjes së ADN-së u vlerësua duke kryer një studim të hollimit serial duke përdorur tre mostra të Gjenomit të platinut me një analizë përfaqësuese të projektuar për të kërkuar për gjene të ndryshme që mbulojnë 12,588 baza në 23 kromosome të ndryshme. Linjat qelizore të Gjenomit të platinut GM12878 dhe GM12877 u fiksuan në formalinë dhe u ngulitën në parafinë, e më pas u nxor ADN-ja. GM12878 u hollua me GM12877 në mënyrë të tillë që frekuencat e aleleve të varianteve (VAF) të 79 varianteve (55 SNV, 9 futje dhe 15 fshirje) të ishin afër 0.025, 0.05 ose 0.10. Përveç kësaj, secila

mostër kishte 91 variante me frekuenca më të larta varianti deri në 1.0 VAF. Mostrat u përpunuan në dublikatë në pesë nivele të futjes së ADN-së me një cikël sasior delta mesatar (dCq) prej 2.1, 3.6, 4.6, 6.0 dhe 7.8, siç është matur nga Amplikoni i personalizimit TruSeq Dx - Kompleti FFPE QC. Çdo bibliotekë u rendit në dy instrumente NextSeq 550Dx duke përdorur dy seri të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle). Për përcaktimin e saktësisë, identifikimet e varianteve të mostrës u krahasuan me versionin 2016-1.0 të Gjenomit të platinës. PPA për secilin lloj varianti (SNV, futje dhe fshirje) paraqitet në [Tabela 3](#); NPA paraqitet në [Tabela 4](#). Të dhënat e rekomanduara të ADN-së për variantet në 0.05 VAF ose më lart janë dCq ≤ 4, ku 4.6 ofron një limit më të ulët për të përmbushur karakteristikat e performancës.

Tabela 3 Rezultatet PPA për çdo të dhënë të ADN-së sipas llojit të variantit

Mesatarja e dCq-së	Lloji i variantit	Variantet e pritura	Asnjë identifikim i pritur	VAF i hollimit të synuar					
				0.025		0.05		0.10	
				Varianti pa identifikim	PPA (%)	Varianti pa identifikim	PPA (%)	Varianti pa identifikim	PPA (%)
2.1	SNV	808	Nuk zbatohet.	196	100	0	100	0	100
3.6				250	99.3	4	100	0	100
4.6				251	94.6	51	99.2	5	100
6.0				257	65.3	213	91.4	100	100
7.8				254	69.3	185	90.7	100	100
2.1	Futja	264	8	66	96.5	8	100	8	100
3.6				62	97.0	8	100	8	100
4.6				48	96.3	21	100	8	100
6.0				40	80.4	47	98.2	24	95.8
7.8				57	87.0	56	96.2	31	100
2.1	Fshirja	304	16	58	100	16	100	16	100
3.6				80	100	16	100	16	100
4.6				65	95.4	28	100	16	100
6.0				78	74.8	105	94.0	36	100
7.8				76	75.0	79	95.1	57	98.8

Tabela 4 NPA për çdo hyrje të ADN-së

Mesatarja e dCq-së	Lloji normal i pritur	VAF i hollimit të synuar					
		0.025		0.05		0.10	
		Asnjë identifikim i referimit	NPA (%)	Asnjë identifikim i referimit	NPA (%)	Asnjë identifikim i referimit	NPA (%)
2.1	93688	344	100	260	100	324	100
3.6		400	100	332	100	380	100
4.6		1308	100	1336	100	784	100
6.0		3900	>99.9	3296	>99.9	2996	100
7.8		3020	>99.9	2880	>99.9	2448	>99.9

Ndjeshmëria Analitike (Limiti i boshllëkut [LoB] dhe Limiti i zbulimit [LoD])

Ky studim u krye për të vlerësuar Limitin e boshllëkut (LoB) dhe Limitin e zbulimit (LoD) për Modulin e varianteve somatike në instrumentin NextSeq 550Dx. Kjo u krye duke përdorur një analizë përfaqësuese të projektuar për të gjetur gjene të ndryshme që mbulojnë 12,588 baza në 23 kromosome të ndryshme. Linjat qelizore të Gjenomit të platinut GM12878 dhe GM12877 u fiksuan në formalinë dhe u ngulitën në parafinë, e më pas u nxor ADN-ja. GM12878 u hollua me GM12877 në mënyrë të tillë që frekuencat e varianteve të 74 varianteve (53 SNV, 7 futje dhe 14 fshirje) ishin 0.05 ± 0.02 . GM12877 dhe GM12878 i holluar (GM12878-D) u analizuan gjatë gjashtë ditëve të njëpasnjëshme të fillimit me një instrument të vetëm, duke alternuar midis dy serive të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle), për një total prej gjashtë ekzekutimesh të renditjes. Kjo analizë rezultoi në 60 përsëritje për secilin variant në GM12878-D dhe 72 përsëritje për secilën koordinatë përkatëse të tipit normal në GM12877 për secilin grup reagentësh. LoB dhe LoD u llogaritën duke përdorur metodën klasike të deklaruar në CLSI EP17-A2 duke përdorur opsionin joparametrik. LoB dhe LoD u llogaritën për SNV-të, futjet dhe fshirjet veçmas duke bashkuar frekuencat e varianteve për një lloj të caktuar varianti. Gabimi i Tipit I u përcaktua si 0.01 dhe gabimi i Tipit II u përcaktua si 0.05.

Për LoB, frekuencat e varianteve të grupuara u renditën nga më e ulëta në më të lartën dhe u llogarit pozicioni i renditjes së 99-të për secilën seri të reagentit për secilin lloj varianti (Tabela 5). Moduli i varianteve somatike përdor një kufi (LoB efektive) prej 0.026 VAF për të përcaktuar zbulimin cilësor të varianteve. LoB i llogaritur verifikoi që ky kufi rezulton në një gabim të Tipit I prej jo më shumë se 0.01.

Tabela 5 Kufiri i boshllëkut

Lloji i variantit	Vëzhgime totale	LoB e reagentit Seria 1 (%)	LoB e reagentit Seria 2 (%)
SNV	3816	0.77	0.77
Futja	504	0.56	0.56
Fshirja	1008	1.20	1.20

Për LoD, përqindja e frekuencës individuale të mutacionit për secilën seri reagenti për secilin lloj varianti që bie nën kufirin prej 0.026 u llogarit [Tabela 6](#). Meqenëse përqindjet ishin më të vogla se gabimi i Tipit II prej 5% (0.05), mediana e frekuencave të kombinuara të varianteve u llogarit si LoD ([Tabela 6](#)). LoD për secilin lloj varianti u mor si vlera më e madhe nga dy vlerat e llogaritura për dy seritë e reagentëve - 4,97% për SNV-të, 5,12% për futjet dhe 5,26% për fshirjet.

Tabela 6 Kufiri i zbulimit

Seria e reagentit	Lloji i variantit	Vëzhgime totale	# i matjeve të VAF < 2.6%	% e matjeve të VAF < 2.6%	Kufiri i zbulimit (%)
1	SNV	3180	53	1.7	4.94
	Futja	420	6	1.4	5.08
	Fshirja	840	7	0.8	5.22
2	SNV	3180	51	1.6	4.97
	Futja	420	5	1.2	5.12
	Fshirja	840	7	0.80	5.26

Saktësia

Linja germinale

Studimi i mëposhtëm u krye për të vlerësuar saktësinë e identifikimit të variantit të Modulit të variantit të linjës germinale në Instrumentin NextSeq 550Dx duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle). 13 mostra unike të Gjenomit të platinit u analizuan duke përdorur një analizë përfaqësuese të projektuar për të kërkuar për një sërë gjenesh që mbulojnë 12,588 baza (150 amplikone) në 23 kromozome të ndryshme. U kryen gjithsej nëntë analiza duke përdorur tre instrumente renditjeje, tre seri reagenti dhe tre operatorë gjatë pesë ditëve të fillimit. Saktësia u përcaktua për SNV-të, futjet dhe fshirjet duke krahasuar rezultatet me një metodë referimi të përbërë të karakterizuar mirë, Gjenomi i platinit versioni 2016-1.0. Rajonet gjenomike të sigurta u përcaktuan bazuar në këtë metodë referimi, përveç nëse specifikohet ndryshe.

Tabela 7 Përmbledhje e marrëveshjes së linjës germinale

Kriteret	Vëzhgime totale ¹	Rezultati nga vëzhgimi ²	Rezultati nga ekzekutimi ³
PPA për SNV	819	98.7	>99.9
PPA për futjet	819	95.0	98.9
PPA për fshirjet	819	100	100
NPA	819	100	100
OPA	819	>99.9	>99.9

¹Llogaritur si numri i mostrave për ekzekutim (91) x numri i ekzekutimeve (9) = 819.

²Vlera më e ulët e vëzhguar nga replikimi i mostrës në të 9 ekzekutimet.

³Vlera më e ulët kur të dhënat nga çdo ekzekutim analizohen në përmbledhje.

Tabela 8 përmban të dhënat e studimit të paraqitura me përputhje përqindjeje pozitive dhe negative në bazë të mostrës, ku rezultatet e varianteve krahasohen me versionin 2016-1.0 të Gjenomit të platinit për llogaritjet e PPA-së. Të tre llojet e varianteve (SNV-të, futjet dhe fshirjet) janë të kombinuara. Meqenëse metoda e referencës ofron rezultate vetëm për variantet dhe futjet/fshirjet me një nukleotid të vetëm, rezultatet e bazës jo-variante krahasohen me ndërtimin e renditjes referuese të gjenomit njerëzor hg19 për llogaritjet e NPA-së.

Tabela 8 Marrëveshja e linjës germinale për mostër

Mostra	Shkalla mesatare e identifikimi t	Variante t e pritura ¹	TP	FN	Varianti pa identifiki m	TN	FP	PPA	NPA	OPA
NA12877	>99.9	4788	4788	0	0	756762	0	100	100	100
NA12878	>99.9	8505	8379	1	125	751464	0	>99.9	100	>99.9
NA12879	>99.9	6048	5985	5	58	757701	0	99.9	100	>99.9
NA12880	>99.9	6993	6930	0	63	757638	0	100	100	100
NA12881	>99.9	7875	7811	3	61	751653	0	>99.9	100	>99.9
NA12882	>99.9	6300	6174	3	123	754803	0	>99.9	100	>99.9
NA12883	>99.9	7119	7056	0	63	751905	0	100	100	100
NA12884	>99.9	7182	7119	6	57	754146	0	99.9	100	>99.9
NA12885	>99.9	7686	7560	2	124	754173	0	>99.9	100	>99.9
NA12886	>99.9	7245	7182	7	56	752469	0	99.9	100	>99.9
NA12887	>99.9	7119	7119	0	0	750645	0	100	100	100
NA12888	>99.9	6804	6804	0	0	756065	0	100	100	100
NA12889	>99.9	7434	7371	1	62	750015	0	>99.9	100	>99.9

¹ Numri total i varianteve në të gjitha replikat e mostrës në 9 ekzekutime.

Tabela 9 përmban të dhënat e studimit të paraqitura në bazë të mostrës, ku rezultatet e variantit krahasohen me metodën e referencës së përbërë të karakterizuar mirë. Zbulimi vlerësohet për secilin lloj varianti – SNV-të, futjet dhe fshirjet – veçmas. Pozicionet referuese përjashtohen.

Tabela 9 Marrëveshja e linjës germinale për mostër sipas llojit të variantit

Mostra	SNV-të			Futjet			Fshirjet		
	Të pritura	TP	FN	Të pritura	TP	FN	Të pritura	TP	FN
NA12877	2331	2331	0	1323	1323	0	1134	1134	0
NA12878	5733	5733	0	1260	1197	1	1512	1449	0
NA12879	3591	3591	0	1323	1260	5	1134	1134	0
NA12880	4221	4221	0	1512	1512	0	1260	1197	0
NA12881	4914	4913	1	1512	1449	2	1449	1449	0
NA12882	3717	3717	0	1386	1323	3	1197	1134	0
NA12883	4284	4284	0	1449	1449	0	1386	1323	0
NA12884	4284	4284	0	1575	1512	6	1323	1323	0
NA12885	4725	4725	0	1575	1512	2	1386	1323	0
NA12886	4347	4347	0	1449	1386	7	1449	1449	0
NA12887	4284	4284	0	1323	1323	0	1512	1512	0
NA12888	4158	4158	0	1449	1449	0	1197	1197	0
NA12893	4599	4599	0	1386	1323	1	1449	1449	0

Mostrat u analizuan më tej për identifikimin e futjeve dhe fshirjeve të vogla (indeleve). Një përmbledhje e përgjithshme paraqitet në [Tabela 10](#). Kishte gjithsej 71 indele që varionin në madhësi nga 1-24 bp për futjet dhe 1-25 bp për fshirjet.

Tabela 10 Përmbledhje e zbulimit të indelit të linjës germinale

Varianti Lloji	Variantet e pritura	TP	FN	Varianti pa identifikim	PPA
Futja	18522	18018	27	477	99.9
Fshirja	17388	17073	0	315	100

Analiza përfaqësuese përbëhet nga 150 amplikone të dizajnuara për të mbuluar përmbajtje të ndryshme gjenomike. Përmbajtja e GC-së e amplikoneve varionte nga 0.19-0.87. Amplikonët gjithashtu kishin një gamë të përsëriturash të nukleotideve të vetme (p.sh., PolyA, PolyT), dinukleotideve dhe trinukleotideve. Të dhënat u përpiluan në bazë të çdo amplikoni (Tabela 11) për të përcaktuar efektin e përmbajtjes gjenomike në përqindjen e identifikimeve të sakta. Përqindja e identifikimeve të sakta përbëhet nga identifikimet variante dhe referuese dhe është më pak se 100% nëse ka identifikime të pasakta ose nuk ka fare identifikime.

Tabela 11 Saktësia e nivelit të amplikonit në vijën germinale

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
1	1	36450499	36450591	93	93	Indeli	0.22	76167	0	0	100
2	1	109465122	109465200	79	79	Poly A (5), Poly C (5), indeli	0.38	64701	0	0	100
3	1	218353867	218353957	91	91	Indeli	0.4	74529	0	0	100
4	1	223906657	223906748	92	92	Indeli	0.49	75348	0	0	100
5	1	228526602	228526682	81	81	Poly G (5)	0.69	66339	0	0	100
6	1	236372039	236372108	70	70	Poly T (10), indeli	0.39	57330	0	0	100
7	1	247812041	247812128	88	88	Poly A (5), CT (3), TAA (3), indeli	0.27	72072	0	0	100
8	2	55862774	55862863	90	90	Indeli	0.28	73710	0	0	100
9	2	87003930	87004009	80	80	Indeli	0.38	65520	0	0	100
10	2	177016721	177016805	85	81	N/A	0.65	66339	0	0	100
11	2	186625727	186625801	75	75	Poly A (8)	0.35	61425	0	0	100
12	2	190323504	190323591	88	88	Poly T (5)	0.42	72072	0	0	100
13	2	200796740	200796826	87	87	Poly T (5), indeli	0.31	71253	0	0	100
14	2	212245049	212245139	91	91	Poly T (5), Poly A (6), indeli	0.3	74529	0	0	100
15	2	228147052	228147144	93	93	Indeli	0.43	76167	0	0	100
16	2	235016350	235016422	73	73	Poly T (5), indeli	0.42	59787	0	0	100
17	3	4466229	4466321	93	93	AT(3), indeli	0.27	74823	0	1344	98.2
18	3	46620561	46620643	83	83	N/A	0.43	67977	0	0	100
19	3	49851331	49851400	70	70	CT(3), indeli	0.49	57330	0	0	100

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
20	3	189713161	189713248	88	88	Poly A (5), Poly T (5), Poly A (9), TG (3)	0.41	72072	0	0	100
21	3	190106030	190106104	75	74	Indeli	0.57	60543	0	63	99.9
22	4	2233667	2233744	78	78	Poly A (6)	0.26	63882	0	0	100
23	4	7780541	7780637	97	97	Poly G (6), Poly T (5), Poly A (5)	0.42	79443	0	0	100
24	4	15688604	15688681	78	78	N/A	0.29	63882	0	0	100
25	4	56236521	56236586	66	62	Poly A (5), indeli	0.36	50778	0	0	100
26	4	102839244	102839314	71	69	Poly A (5)	0.46	56511	0	0	100
27	4	164446743	164446804	62	62	Poly A (7), indeli	0.27	50778	0	0	100
28	5	1882081	1882158	78	75	N/A	0.78	61425	0	0	100
29	5	14769061	14769144	84	84	GT(3), CCA(3)	0.62	68796	0	0	100
30	5	41069808	41069871	64	64	N/A	0.39	52416	0	0	100
31	5	74077114	74077196	83	83	Poly A (6), indeli	0.3	67977	0	0	100
32	5	147475343	147475409	67	67	Poly T (5)	0.37	54873	0	0	100
33	5	149323731	149323821	91	91	CT(4), AG(3)	0.55	74529	0	0	100
34	5	155662213	155662287	75	75	Indeli	0.43	61425	0	0	100
35	6	6318713	6318814	102	102	Poly G (6)	0.68	83538	0	0	100
36	6	24949983	24950074	92	92	Indeli	0.63	75348	0	0	100
37	6	31084900	31084999	100	94	GCT(5), indeli	0.61	76608	0	378	99.5
38	6	32147987	32148084	98	98	Poly T (5), TCT (3), CTT (3)	0.55	80262	0	0	100
39	6	32986864	32986958	95	95	Indeli	0.53	77805	0	0	100
40	6	33408498	33408583	86	86	Poly C (6)	0.7	70434	0	0	100
41	6	41647401	41647495	95	94	Poly G (5), indeli	0.61	76986	0	0	100
42	6	112435865	112435955	91	91	Poly A (5)	0.44	74529	0	0	100
43	7	22202076	22202148	73	73	N/A	0.44	59787	0	0	100
44	7	66276100	66276187	88	88	Indeli	0.35	72072	0	0	100
45	7	77365735	77365821	87	87	Poly A (7), AG (4)	0.26	71253	0	0	100

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
46	7	110939946	110940030	85	85	Indeli	0.38	69615	0	0	100
47	7	128533468	128533557	90	90	Poly G (5), indeli	0.62	73710	0	0	100
48	7	149503875	149503965	91	91	Poly G (6), Poly C (6), indeli	0.71	74529	0	0	100
49	7	154404519	154404599	81	66	N/A	0.31	54054	0	0	100
50	7	156476507	156476599	93	93	Indeli	0.35	76167	0	0	100
51	8	1817312	1817394	83	83	N/A	0.42	67977	0	0	100
52	8	24811020	24811109	90	89	Poly G (7), CTC (4), indeli	0.61	72171	0	720	99.0
53	8	76518625	76518691	67	67	Indeli	0.3	54873	0	0	100
54	9	103054909	103055006	98	98	Poly G (6)	0.67	80262	0	0	100
55	9	105586150	105586214	65	65	Indeli	0.32	53235	0	0	100
56	9	107620823	107620918	96	96	N/A	0.49	78624	0	0	100
57	9	123769149	123769231	83	83	AT(3)	0.37	67977	0	0	100
58	9	138995345	138995441	97	97	Poly C (6), indeli	0.68	79443	0	0	100
59	10	5987120	5987198	79	78	Poly G (5), indeli	0.47	63882	0	0	100
60	10	11784629	11784726	98	91	GC(3)	0.87	74529	0	0	100
61	10	27317777	27317855	79	79	Poly T (5)	0.3	64701	0	0	100
62	10	33018351	33018440	90	90	Poly A (5), Poly T (5)	0.2	73710	0	0	100
63	10	45084159	45084253	95	95	Indeli	0.35	77805	0	0	100
64	10	55892599	55892687	89	88	AC(11), indel	0.42	71747	0	325	99.5
65	10	101611250	101611329	80	80	N/A	0.49	65520	0	0	100
66	10	118351373	118351453	81	81	N/A	0.51	66339	0	0	100
67	11	8159816	8159912	97	96	N/A	0.45	78624	0	0	100
68	11	30177648	30177717	70	70	Indeli	0.46	57330	0	0	100
69	11	47470345	47470444	100	100	N/A	0.65	81900	0	0	100
70	11	59837679	59837740	62	62	Indeli	0.37	50778	0	0	100
71	11	64418856	64418957	102	102	N/A	0.59	83538	0	0	100

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
72	11	93529612	93529684	73	73	Poly A (5)	0.4	59787	0	0	100
73	11	101347052	101347136	85	85	N/A	0.42	69615	0	0	100
74	11	102477336	102477426	91	91	Poly G (6)	0.55	74529	0	0	100
75	11	118406285	118406369	85	85	Indeli	0.53	69615	0	0	100
76	11	120357801	120357885	85	85	Poly A (5), CA (3), indeli	0.34	69615	0	0	100
77	11	125769313	125769397	85	85	GA(3)	0.52	69615	0	0	100
78	12	2834770	2834853	84	84	Poly C (5), indeli	0.52	68796	0	0	100
79	12	26811004	26811096	93	93	Poly A (7), AC (4)	0.33	76167	0	0	100
80	12	30881766	30881846	81	81	N/A	0.49	66339	0	0	100
81	12	88474105	88474175	71	71	Poly A (6)	0.35	58149	0	0	100
82	12	120966872	120966966	95	95	Poly G (5)	0.68	77805	0	0	100
83	13	24167504	24167576	73	73	N/A	0.52	59787	0	0	100
84	13	25816961	25817049	89	88	Poly A (5), Poly T (7), Poly A (7), indeli	0.22	72072	0	0	100
85	13	44880112	44880200	89	89	Indeli	0.49	72891	0	0	100
86	13	77665218	77665294	77	77	Indeli	0.39	63063	0	0	100
87	14	31619327	31619393	67	67	GA(3),TA(3)	0.39	54873	0	0	100
88	14	39517884	39517966	83	83	N/A	0.25	67977	0	0	100
89	14	46958962	46959034	73	72	Poly T (5), indeli	0.19	58642	0	326	99.4
90	14	58050030	58050110	81	81	Indeli	0.38	66339	0	0	100
91	14	82390559	82390649	91	91	Indeli	0.35	74529	0	0	100
92	14	92549544	92549609	66	66	Poly A (5)	0.41	54054	0	0	100
93	14	102808496	102808589	94	94	Indeli	0.62	76986	0	0	100
94	15	43170751	43170848	98	96	Poly C (5)	0.45	78624	0	0	100
95	15	63446149	63446216	68	68	Indeli	0.25	55692	0	0	100
96	15	77879807	77879901	95	93	Poly G (5), indeli	0.68	76167	0	0	100
97	15	81625334	81625428	95	95	Poly T (6)	0.43	77805	0	0	100

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
98	15	85438263	85438334	72	71	Indeli	0.65	58149	0	0	100
99	15	89817413	89817503	91	91	N/A	0.36	74529	0	0	100
100	15	89864274	89864343	70	70	Indeli	0.56	57330	0	0	100
101	16	1894910	1894972	63	63	N/A	0.27	51597	0	0	100
102	16	28997904	28997998	95	95	Poly C (5)	0.67	77805	0	0	100
103	16	53682908	53682994	87	87	TA(3)	0.41	71253	0	0	100
104	16	57954406	57954509	104	104	Poly C (5)	0.67	85176	0	0	100
105	16	85706375	85706465	91	91	Poly T (5), indeli	0.37	74529	0	0	100
106	17	3563920	3564008	89	89	GC(3)	0.64	72891	0	0	100
107	17	3594191	3594277	87	87	Poly C (5), indeli	0.67	71247	0	6	100
108	17	3970090	3970180	91	91	Indeli	0.46	74529	0	0	100
109	17	16084945	16085037	93	93	Indeli	0.26	76167	0	0	100
110	17	33998759	33998849	91	89	Poly T (5)	0.54	72891	0	0	100
111	17	39589691	39589774	84	82	Poly A (13), indeli (x2)	0.29	66343	27	788	98.8
112	17	41244394	41244484	91	91	Poly A (5)	0.34	74529	0	0	100
113	17	45438866	45438957	92	92	Poly A (7), AT(3), AT(4), AT(4), indeli	0.26	75348	0	0	100
114	17	61502432	61502510	79	79	Indeli	0.41	64413	0	288	99.6
115	17	64023582	64023667	86	86	Poly T (7)	0.22	70434	0	0	100
116	17	72308237	72308320	84	84	GAG(3)	0.62	68796	0	0	100
117	18	2616456	2616522	67	67	GA(3)	0.31	54873	0	0	100
118	18	6980478	6980568	91	91	N/A	0.37	74529	0	0	100
119	18	9888026	9888094	69	69	Poly A (6), TG (3)	0.43	56511	0	0	100
120	18	38836999	38837073	75	75	Poly A (5), indeli	0.37	61425	0	0	100
121	18	47405382	47405462	81	81	CTC(3), indeli	0.47	66339	0	0	100
122	18	54815665	54815749	85	85	CT(3), indeli	0.45	69615	0	0	100
123	18	59773996	59774060	65	65	N/A	0.48	53235	0	0	100

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
124	19	625143	625241	99	99	N/A	0.59	81081	0	0	100
125	19	18121418	18121491	74	74	N/A	0.68	60605	1	0	100
126	19	18186574	18186643	70	70	N/A	0.64	57330	0	0	100
127	20	746056	746149	94	94	N/A	0.61	76986	0	0	100
128	20	10633195	10633276	82	82	AC(3)	0.59	67158	0	0	100
129	20	17705633	17705708	76	76	CT(3)	0.58	62244	0	0	100
130	20	21766821	21766890	70	70	GT(3), TG(4), indeli	0.46	57330	0	0	100
131	20	25278421	25278521	101	101	Indeli	0.63	82719	0	0	100
132	20	50897302	50897368	67	67	Indeli	0.36	54873	0	0	100
133	20	62331904	62331994	91	88	Poly G (6)	0.73	72072	0	0	100
134	20	62690860	62690946	87	87	Indeli	0.57	71253	0	0	100
135	21	30300823	30300888	66	66	Indeli	0.35	54054	0	0	100
136	21	33694176	33694273	98	98	Poly T (6), CA (3)	0.54	80262	0	0	100
137	21	36710706	36710792	87	87	GT(3), indeli	0.39	71253	0	0	100
138	21	46644924	46644992	69	69	Poly A (6), AG (3), indeli	0.32	56439	0	72	99.9
139	21	46705575	46705664	90	90	Poly T (5), Poly A (6)	0.5	73710	0	0	100
140	22	25750774	25750873	100	100	Indeli	0.63	81900	0	0	100
141	22	32439233	32439329	97	97	N/A	0.68	79443	0	0	100
142	22	37409844	37409940	97	97	Indeli	0.46	79443	0	0	100
143	22	37637596	37637694	99	99	N/A	0.6	81081	0	0	100
144	22	47081347	47081438	92	92	Indeli	0.66	75348	0	0	100
145	X	15870424	15870492	69	69	Poly T (5)	0.26	56511	0	0	100
146	X	135288543	135288611	69	69	Poly C (5)	0.62	56511	0	0	100
147	X	135290777	135290847	71	71	N/A	0.52	58149	0	0	100
148	Y	2655397	2655461	65	0	N/A	0.55	0	0	0	N/A
149	Y	2655519	2655609	91	0	N/A	0.48	0	0	0	N/A
150	Y	2655609	2655679	71	0	Poly A (5)	0.37	0	0	0	N/A

Rezultatet e renditjes për mostrën NA12878 u krahasuan me një gjenotip shumë të besueshëm për NA12878, të përcaktuar nga Institutet Kombëtare të Standardeve dhe Teknologjisë (NIST) (v.2.19). Nga 150 amplikone, 92 amplikone ishin të përfshirë plotësisht brenda rajoneve gjenomike me besim të lartë, 41 amplikone kishin mbivendosje të pjesshme dhe 17 amplikone nuk kishin mbivendosje në renditjen NIST. Ky rezultat rezultoi në 10,000 koordinata për përsëritje për krahasim. Identifikimet bazë pa variant u krahasuan me ndërtimin e renditjes referuese të gjenomit njerëzor hg19. Rezultatet e saktësisë janë paraqitur në [Tabela 12](#).

Tabela 12 Marrëveshja e linjës germinale të mostrës NA12878 me bazën e të dhënave NIST

Mostra	# i amplikoneve	Shkalla mesatare e identifikimit	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
NA12878	133	>99.9	6552	1	610470	0	>99.9	100	>99.9

Bazuar në të dhënat e ofruara nga ky studim me nëntë ekzekutime i linjës germinale, Instrumenti NextSeq 550Dx mund të bëjë vazhdimisht renditjen:

- Përmbajtjen e GC $\geq 19\%$ (të gjitha të identifikuara baza në 819 amplikone të renditur me 19% përmbajtje GC të identifikuara saktë me shkallë pa identifikim prej 0.6%)
- Përmbajtjen e GC-së $\leq 87\%$ (të gjitha të identifikuara baza në 819 amplikone të renditur me 87% përmbajtje GC të identifikuara saktë pa asnjë identifikim)
- Gjatësitë e PolyA ≤ 9 (të gjitha bazat e identifikuara në 819 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyA prej nëntë nukleotidesh të identifikuar saktë pa asnjë identifikim)
- Gjatësitë e PolyT ≤ 10 (të gjitha bazat e identifikuara në 819 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyT prej dhjetë nukleotidesh të identifikuar saktë pa asnjë identifikim)
- Gjatësitë e PolyG ≤ 7 (të gjitha bazat e identifikuara në 819 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyG prej shtatë nukleotidesh të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim prej 1.0%)
- Gjatësitë e PolyC ≤ 6 (të gjitha bazat e identifikuara në 2457 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyC prej gjashtë nukleotidesh u identifikuan saktë pa asnjë identifikim)
- Gjatësitë e përsëritura të dinukleotideve $\leq 11x$ (të gjitha bazat e identifikuara në 819 amplikone të renditura që përmbajnë një përsëritje dinukleotidesh 11x u identifikuan saktë me një shkallë pa identifikim prej 0.5%)
- Gjatësitë e përsëritura të trinukleotideve $\leq 5x$ (të gjitha bazat e identifikuara në 819 amplikone të renditura që përmbajnë një përsëritje trinukleotidesh 5x u identifikuan saktë me një shkallë pa identifikim prej 0.5%)
- Gjatësitë e futjes ≤ 24 (66343 nga 66370 baza të identifikuara në 819 amplikone të renditur që përmbajnë një futje 24-nukleotidesh të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim prej 1.2%; nuk ndodhën identifikime të pasakta në rajonin që përmban futje 24-nukleotidesh)
- Gjatësitë e fshirjes ≤ 25 (të gjitha bazat e identifikuara në 2457 amplikone të renditura që përmbajnë një fshirje prej 25 nukleotidesh të identifikuar saktë me vlerë zero pa identifikim)

Somatike

Studimi i përshkruar këtu u përdor për të vlerësuar saktësinë e identifikimit të variantit të Modulit të variantit somatike në Instrumentin NextSeq 550Dx duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle).

Ky studim përdori një analizë përfaqësuese të projektuar për të kërkuar për një sërë gjenesh që mbulojnë 12,588 baza (150 amplikone) në 23 kromosome të ndryshme. ADN-ja e Gjenomit të platinut u nxor nga blloqet e trajtuara me FFPE për të krijuar gjashtë mostra unike për vlerësim në studim.

Mostra e ADN-së GM12877 u hollua me mostrën e ADN-së GM12878 për të krijuar GM12877-D5 dhe GM12877-D7 si një grup variantesh unike heterozigote me frekuenca varianti afër 5% dhe 7%. Mostra e ADN-së GM12878 u hollua në mënyrë të ngjashme me mostrën e ADN-së GM12877 për të krijuar GM12878-D5 dhe GM12878-D7. Secila prej mostrave u analizua trefish, përveç mostrave të holluara, të cilat u analizuan në gjashtë kopje. U kryen gjithsej nëntë analiza duke përdorur tre instrumente renditjeje, tre seri reagenti dhe tre operatorë gjatë pesë ditëve të fillimit. Saktësia u përcaktua për SNV-të, futjet dhe fshirjet duke krahasuar rezultatet me metodën e referimit të përbërë të karakterizuar mirë, Gjenomin e platinut versioni 2016- 1.0. Rajonet gjenomike të sigurta u përcaktuan bazuar në këtë metodë referimi, përveçse kur specifikohet ndryshe.

Tabela 13 Përmbledhje e marrëveshjes somatike

Kriteret	Vëzhgime totale ¹	Rezultati nga vëzhgimi ²	Rezultati nga ekzekutimi ³
PPA për SNV	378	98.9	99.9
PPA për futjet	378	96.9	99.9
PPA për fshirjet	378	97.1	99.9
NPA	378	>99.9	>99.9
OPA	378	>99.9	>99.9

¹Llogaritur si numri i mostrave për ekzekutim (42) x numri i ekzekutimeve (9) = 378.

²Vlera më e ulët e vëzhguar nga replikimi i mostrës në të 9 ekzekutimet.

³Vlera më e ulët kur të dhënat nga çdo ekzekutim analizohen në përmbledhje.

Tabela 14 përmban të dhënat e studimit të paraqitura me përputhje përqindjeje pozitive dhe negative në bazë të mostrës, ku rezultatet e varianteve krahasohen me metodën e referencës së përbërë të karakterizuar mirë për llogaritjet e PPA-së. Të tre llojet e varianteve (SNV-të, futjet dhe fshirjet) janë të kombinuara. Meqenëse metoda e referencës ofron rezultate vetëm për variantet dhe futjet/fshirjet me një nukleotid të vetëm, rezultatet e bazës jo-variante krahasohen me ndërtimin e renditjes referuese të gjenomit njerëzor hg19 për llogaritjet e NPA-së.

Tabela 14 Marrëveshja somatike për mostrën

Mostra	Shkalla mesatare e identifikimit	Të pritura	TP	FN	Varianti pa identifikim	TN	FP	PPA	NPA	OPA
GM12877	98.7	2052	2025	0	27	318682	15	100	>99.9	>99.9
GM12878	98.8	3645	3564	0	81	317645	0	100	100	100
GM12879	99.8	2592	2538	0	54	323614	2	100	>99.9	>99.9
GM12884	99.8	3078	3024	0	54	322038	5	100	>99.9	>99.9
GM12885	99.8	3294	3213	0	81	322121	0	100	100	100
GM12888	99.8	2916	2889	0	27	323048	2	100	>99.9	>99.9
GM12877-D5	99.8	9288	8930	0	358	630621	0	100	100	100
GM12877-D7	99.7	9288	9032	0	256	629719	0	100	100	100
GM12878-D5	99.5	9288	8699	42	547	628582	0	99.5	100	>99.9
GM12878-D7	99.7	9288	9108	0	180	629803	0	100	100	100

Tabela 15 përmban të dhënat e studimit të paraqitura në bazë të mostrës, ku rezultatet e variantit krahasohen me metodën e referencës së përbërë të karakterizuar mirë. Zbulimi vlerësohet për secilin lloj varianti – SNV-të, futjet dhe fshirjet – veçmas. Pozicionet referuese përjashtohen.

Tabela 15 Marrëveshja somatike për mostrën sipas llojit të variantit

Mostra	SNV-të			Futjet			Fshirjet		
	Të pritura	TP	FN	Të pritura	TP	FN	Të pritura	TP	FN
GM12877	999	999	0	567	567	0	486	459	0
GM12878	2457	2457	0	540	513	0	648	594	0
GM12879	1539	1539	0	567	540	0	486	459	0
GM12884	1836	1836	0	675	648	0	567	540	0
GM12885	2025	2025	0	675	648	0	594	540	0
GM12888	1782	1782	0	621	621	0	513	486	0
GM12877-D5	5454	5392	0	1782	1647	0	2052	1891	0
GM12877-D7	5454	5406	0	1782	1728	0	2052	1898	0

Mostra	SNV-të			Futjet			Fshirjet		
	Të pritura	TP	FN	Të pritura	TP	FN	Të pritura	TP	FN
GM12878-D5	5454	5192	28	1782	1651	9	2052	1856	5
GM12878-D7	5454	5445	0	1782	1719	0	2052	1944	0

Dhjetë mostrat u analizuan më tej për identifikimin e futjeve dhe fshirjeve të vogla (indeleve) (Tabela 16). Kishte gjithsej 71 indele që varionin në madhësi nga 1-24 bp për futjet dhe 1-25 bp për fshirjet.

Tabela 16 Përmbledhje e zbulimit të indelit somatik

Lloji i variantit	Variantet e pritura	TP	FN	Varianti pa identifikim	PPA
Futja	10773	10282	9	482	99.2
Fshirja	11502	10667	5	830	>99.9

150 amplikonët u krijuan për të mbuluar përmbajtje të ndryshme gjenomike. Përmbajtja e GC-së në amplikone varionte nga 0.19–0.87%. Amplikonët kishin gjithashtu një gamë të përsëriturash të nukleotideve të vetme (p.sh. PolyA, PolyT), dinukleotideve dhe trinukleotideve. Të dhënat u përpiluan në bazë të çdo amplikoni (Tabela 17) për të përcaktuar efektin e përmbajtjes gjenomike në përqindjen e identifikimeve të sakta. Përqindja e identifikimeve të sakta përbëhet nga identifikimet variante dhe referuese dhe është më pak se 100% nëse ka identifikime të pasakta ose nuk ka fare identifikime.

Tabela 17 Saktësia në nivel amplikoni somatik

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
1	1	36450499	36450591	93	93	Indeli	0.22	35066	0	88	99.7
2	1	109465122	109465200	79	79	Poly A (5), Poly C (5), indeli	0.38	29827	0	35	99.9
3	1	218353867	218353957	91	91	Indeli	0.4	34202	0	283	99.2
4	1	223906657	223906748	92	92	Indeli	0.49	34613	0	163	99.5
5	1	228526602	228526682	81	81	Poly G (5)	0.69	30571	0	47	99.8
6	1	236372039	236372108	70	70	Poly T (10), indeli	0.39	26452	0	8	100.0
7	1	247812041	247812128	88	88	Poly A (5), CT (3), TAA (3), indeli	0.27	33148	0	116	99.7
8	2	55862774	55862863	90	90	Indeli	0.28	33928	0	92	99.7
9	2	87003930	87004009	80	80	Indeli	0.38	30218	0	22	99.9
10	2	177016721	177016805	85	81	N/A	0.65	30616	0	2	>99.9
11	2	186625727	186625801	75	75	Poly A (8)	0.35	28017	0	499	98.3
12	2	190323504	190323591	88	88	Poly T (5)	0.42	33207	0	57	99.8
13	2	200796740	200796826	87	87	Poly T (5), indeli	0.31	32524	9	718	97.8
14	2	212245049	212245139	91	91	Poly T (5), Poly A (6), indeli	0.3	33972	0	456	98.7
15	2	228147052	228147144	93	93	N/A	0.43	35051	0	103	99.7
16	2	235016350	235016422	73	73	Poly T (5), indeli	0.42	27459	0	136	99.5
17	3	4466229	4466321	93	93	AT(3), indeli	0.27	34534	0	620	98.2
18	3	46620561	46620643	83	83	N/A	0.43	31339	0	44	99.9
19	3	49851331	49851400	70	70	CT(3), indeli	0.49	26373	0	87	99.7

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
20	3	189713161	189713248	88	88	Poly A (5), Poly T (5), Poly A (9), TG (3)	0.41	32829	0	857	97.5
21	3	190106030	190106104	75	74	Indeli	0.57	27925	0	47	99.8
22	4	2233667	2233744	78	78	Poly A (6)	0.26	29327	4	162	99.4
23	4	7780541	7780637	97	97	Poly G (6), Poly T (5), Poly A (5)	0.42	36585	0	117	99.7
24	4	15688604	15688681	78	78	N/A	0.29	29427	0	57	99.8
25	4	56236521	56236586	66	62	Poly A (5), indeli	0.36	23356	5	75	99.7
26	4	102839244	102839314	71	69	Poly A (5)	0.46	25942	0	140	99.5
27	4	164446743	164446804	62	62	Poly A (7), indeli	0.27	22944	0	560	97.6
28	5	1882081	1882158	78	75	N/A	0.78	28299	0	53	99.8
29	5	14769061	14769144	84	84	GT(3), CCA(3)	0.62	31658	0	94	99.7
30	5	41069808	41069871	64	64	N/A	0.39	24120	0	72	99.7
31	5	74077114	74077196	83	83	Poly A (6), indeli	0.3	31297	0	77	99.8
32	5	147475343	147475409	67	67	Poly T (5)	0.37	25277	0	55	99.8
33	5	149323731	149323821	91	91	CT(4), AG(3)	0.55	34308	0	90	99.7
34	5	155662213	155662287	75	75	Indeli	0.43	28266	0	163	99.4
35	6	6318713	6318814	102	102	Poly G (6)	0.68	38489	0	67	99.8
36	6	24949983	24950074	92	92	Indeli	0.63	34730	0	46	99.9
37	6	31084900	31084999	100	94	GCT(5), indeli	0.61	35057	0	483	98.6
38	6	32147987	32148084	98	98	Poly T (5), TCT (3), CTT (3)	0.55	36647	0	406	98.9
39	6	32986864	32986958	95	95	Indeli	0.53	35681	0	238	99.3
40	6	33408498	33408583	86	86	Poly C (6)	0.7	32438	0	70	99.8
41	6	41647401	41647495	95	94	Poly G (5), indeli	0.61	35441	0	91	99.7
42	6	112435865	112435955	91	91	Poly A (5)	0.44	34354	0	44	99.9
43	7	22202076	22202148	73	73	N/A	0.44	27575	0	28	99.9
44	7	66276100	66276187	88	88	Indeli	0.35	33060	0	213	99.4
45	7	77365735	77365821	87	87	Poly A (7), AG (4)	0.26	32423	0	489	98.5

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
46	7	110939946	110940030	85	85	Indeli	0.38	32074	0	56	99.8
47	7	128533468	128533557	90	90	Poly G (5), indeli	0.62	33791	0	281	99.2
48	7	149503875	149503965	91	91	Poly G (6), Poly C (6), indeli	0.71	34316	0	82	99.8
49	7	154404519	154404599	81	66	N/A	0.31	24901	0	47	99.8
50	7	156476507	156476599	93	93	Indeli	0.35	35067	0	87	99.8
51	8	1817312	1817394	83	83	N/A	0.42	31365	0	9	>99.9
52	8	24811020	24811109	90	89	Poly G (7), CTC (4), indeli	0.61	32781	0	890	97.4
53	8	76518625	76518691	67	67	Indeli	0.3	25228	0	146	99.4
54	9	103054909	103055006	98	98	Poly G (6)	0.67	36968	0	76	99.8
55	9	105586150	105586214	65	65	Indeli	0.32	24472	0	100	99.6
56	9	107620823	107620918	96	96	N/A	0.49	36203	0	85	99.8
57	9	123769149	123769231	83	83	AT(3)	0.37	31329	0	45	99.9
58	9	138995345	138995441	97	97	Poly C (6), indeli	0.68	36472	0	201	99.5
59	10	5987120	5987198	79	78	Poly G (5), indeli	0.47	29473	0	11	>99.9
60	10	11784629	11784726	98	91	GC(3)	0.87	34188	0	213	99.4
61	10	27317777	27317855	79	79	Poly T (5)	0.3	29843	0	19	99.9
62	10	33018351	33018440	90	90	Poly A (5), Poly T (5)	0.2	33968	0	68	99.8
63	10	45084159	45084253	95	95	Indeli	0.35	35829	0	81	99.8
64	10	55892599	55892687	89	88	AC(11), indel	0.42	32098	88	2048	93.8
65	10	101611250	101611329	80	80	N/A	0.49	30217	0	28	99.9
66	10	118351373	118351453	81	81	N/A	0.51	30531	0	96	99.7
67	11	8159816	8159912	97	96	N/A	0.45	36105	0	192	99.5
68	11	30177648	30177717	70	70	Indeli	0.46	26318	0	153	99.4
69	11	47470345	47470444	100	100	N/A	0.65	37785	0	24	99.9
70	11	59837679	59837740	62	62	Indeli	0.37	23368	0	68	99.7
71	11	64418856	64418957	102	102	N/A	0.59	38546	0	10	>99.9

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
72	11	93529612	93529684	73	73	Poly A (5)	0.4	27516	0	78	99.7
73	11	101347052	101347136	85	85	N/A	0.42	32083	0	48	99.9
74	11	102477336	102477426	91	91	Poly G (6)	0.55	34047	0	369	98.9
75	11	118406285	118406369	85	85	Indeli	0.53	32065	0	74	99.8
76	11	120357801	120357885	85	85	Poly A (5), CA (3), indeli	0.34	32083	0	47	99.9
77	11	125769313	125769397	85	85	GA(3)	0.52	32103	0	27	99.9
78	12	2834770	2834853	84	84	Poly C (5), indeli	0.52	31645	16	525	98.3
79	12	26811004	26811096	93	93	Poly A (7), AC (4)	0.33	34824	0	330	99.1
80	12	30881766	30881846	81	81	N/A	0.49	30497	0	121	99.6
81	12	88474105	88474175	71	71	Poly A (6)	0.35	26773	0	65	99.8
82	12	120966872	120966966	95	95	Poly G (5)	0.68	35830	9	72	99.8
83	13	24167504	24167576	73	73	N/A	0.52	27498	0	114	99.6
84	13	25816961	25817049	89	88	Poly A (5), Poly T (7), Poly A (7), indeli	0.22	32824	0	566	98.3
85	13	44880112	44880200	89	89	Indeli	0.49	33574	0	77	99.8
86	13	77665218	77665294	77	77	Indeli	0.39	29075	0	31	99.9
87	14	31619327	31619393	67	67	GA(3),TA(3)	0.39	25313	0	13	99.9
88	14	39517884	39517966	83	83	N/A	0.25	31360	0	22	99.9
89	14	46958962	46959034	73	72	Poly T (5), indeli	0.19	26499	0	717	97.4
90	14	58050030	58050110	81	81	Indeli	0.38	30494	0	133	99.6
91	14	82390559	82390649	91	91	Indeli	0.35	34313	0	86	99.7
92	14	92549544	92549609	66	66	Poly A (5)	0.41	24555	0	1527	94.1
93	14	102808496	102808589	94	94	Indeli	0.62	35472	0	69	99.8
94	15	43170751	43170848	98	96	Poly C (5)	0.45	36264	0	24	99.9
95	15	63446149	63446216	68	68	Indeli	0.25	25667	0	37	99.9
96	15	77879807	77879901	95	93	Poly G (5), indeli	0.68	34745	0	432	98.8
97	15	81625334	81625428	95	95	Poly T (6)	0.43	35870	0	40	99.9

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
98	15	85438263	85438334	72	71	Indeli	0.65	26762	0	76	99.7
99	15	89817413	89817503	91	91	N/A	0.36	34286	0	112	99.7
100	15	89864274	89864343	70	70	Indeli	0.56	26449	0	11	>99.9
101	16	1894910	1894972	63	63	N/A	0.27	23809	0	5	>99.9
102	16	28997904	28997998	95	95	Poly C (5)	0.67	35860	0	50	99.9
103	16	53682908	53682994	87	87	TA(3)	0.41	32835	0	60	99.8
104	16	57954406	57954509	104	104	Poly C (5)	0.67	39177	0	144	99.6
105	16	85706375	85706465	91	91	Poly T (5), indeli	0.37	34075	0	323	99.1
106	17	3563920	3564008	89	89	GC(3)	0.64	33632	0	11	>99.9
107	17	3594191	3594277	87	87	Poly C (5), indeli	0.67	32752	0	134	99.6
108	17	3970090	3970180	91	91	Indeli	0.46	34343	0	82	99.8
109	17	16084945	16085037	93	93	Indeli	0.26	35077	0	78	99.8
110	17	33998759	33998849	91	89	Poly T (5)	0.54	33553	0	89	99.7
111	17	39589691	39589774	84	82	Poly A (13), indeli (x2)	0.29	30554	53	2296	92.9
112	17	41244394	41244484	91	91	Poly A (5)	0.34	34360	0	38	99.9
113	17	45438866	45438957	92	92	Poly A (7), AT(3), AT(4), AT(4), indeli	0.26	34367	0	418	98.8
114	17	61502432	61502510	79	79	Indeli	0.41	29751	0	119	99.6
115	17	64023582	64023667	86	86	Poly T (7)	0.22	32176	0	340	99.0
116	17	72308237	72308320	84	84	GAG(3)	0.62	31604	7	141	99.5
117	18	2616456	2616522	67	67	GA(3)	0.31	25273	8	45	99.8
118	18	6980478	6980568	91	91	N/A	0.37	34386	0	12	>99.9
119	18	9888026	9888094	69	69	Poly A (6), TG (3)	0.43	25692	0	399	98.5
120	18	38836999	38837073	75	75	Poly A (5), indeli	0.37	27923	0	893	96.9
121	18	47405382	47405462	81	81	CTC(3), indeli	0.47	30598	0	20	99.9
122	18	54815665	54815749	85	85	CT(3), indeli	0.45	31969	0	161	99.5
123	18	59773996	59774060	65	65	N/A	0.48	24531	0	48	99.8

Amplikoni	Kromozomi	Fillimi i amplikonit	Fundi i amplikonit	Madhësia e fragmentit të analizuar	Bazat në rajonet e besueshme	Përmbajtja gjenomike e amplikonit	Përmbajtja e GC-së	Identifikimet e sakta	Identifikimet e pasakta	Pa identifikime	% e identifikimeve të sakta
124	19	625143	625241	99	99	N/A	0.59	37298	0	124	99.7
125	19	18121418	18121491	74	74	N/A	0.68	27881	0	109	99.6
126	19	18186574	18186643	70	70	N/A	0.64	26442	0	26	99.9
127	20	746056	746149	94	94	N/A	0.61	35501	0	31	99.9
128	20	10633195	10633276	82	82	AC(3)	0.59	30951	0	72	99.8
129	20	17705633	17705708	76	76	CT(3)	0.58	28686	0	42	99.9
130	20	21766821	21766890	70	70	GT(3), TG(4), indeli	0.46	26372	0	88	99.7
131	20	25278421	25278521	101	101	Indeli	0.63	38159	0	20	99.9
132	20	50897302	50897368	67	67	Indeli	0.36	25188	0	544	97.9
133	20	62331904	62331994	91	88	Poly G (6)	0.73	32969	0	309	99.1
134	20	62690860	62690946	87	87	Indeli	0.57	32818	0	77	99.8
135	21	30300823	30300888	66	66	Indeli	0.35	24758	9	181	99.2
136	21	33694176	33694273	98	98	Poly T (6), CA (3)	0.54	36902	0	160	99.6
137	21	36710706	36710792	87	87	GT(3), indeli	0.39	32841	0	48	99.9
138	21	46644924	46644992	69	69	Poly A (6), AG (3), indeli	0.32	25939	0	280	98.9
139	21	46705575	46705664	90	90	Poly T (5), Poly A (6)	0.5	33942	0	78	99.8
140	22	25750774	25750873	100	100	Indeli	0.63	37733	0	86	99.8
141	22	32439233	32439329	97	97	N/A	0.68	36617	0	49	99.9
142	22	37409844	37409940	97	97	Indeli	0.46	36525	0	162	99.6
143	22	37637596	37637694	99	99	N/A	0.6	37398	0	24	99.9
144	22	47081347	47081438	92	92	Indeli	0.66	34754	0	22	99.9
145	X	15870424	15870492	69	69	Poly T (5)	0.26	26046	0	36	99.9
146	X	135288543	135288611	69	69	Poly C (5)	0.62	26019	0	63	99.8
147	X	135290777	135290847	71	71	N/A	0.52	26780	0	58	99.8
148	Y	2655397	2655461	65	0	N/A	0.55	0	0	0	NA
149	Y	2655519	2655609	91	0	N/A	0.48	0	0	0	NA
150	Y	2655609	2655679	71	0	Poly A (5)	0.37	0	0	0	NA

Rezultatet e renditjes për mostrën GM12878 u krahasuan me një gjenotip shumë të besueshëm për NA12878, të përcaktuar nga Institutet Kombëtare të Standardeve dhe Teknologjisë (NIST) (v.2.19). Nga 150 amplikone, 92 amplikone ishin të përfshirë plotësisht brenda rajoneve gjenomike me besim të lartë, 41 amplikone kishin mbivendosje të pjesshme dhe 17 amplikone nuk kishin mbivendosje në renditjen NIST. Ky rezultat rezultoi në 10,000 koordinata për përsëritje për krahasim. Identifikimet bazë pa variant u krahasuan me ndërtimin e renditjes referuese të gjenomit njerëzor hg19. Rezultatet e saktësisë janë paraqitur në [Tabela 18](#).

Tabela 18 Pajtueshmëria somatike e mostrës GM12878 me bazën e të dhënave NIST

Mostra	# i amplikoneve	Shkalla mesatare e identifikimit	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
GM12878	133	98.8	2808	0	258488	0	100	100	100

Bazuar në të dhënat e ofruara nga ky studim somatik me nëntë ekzekutime, Instrumenti NextSeq 550Dx mund të bëjë vazhdimisht renditjen:

- Përmbajtja e GC $\geq 19\%$ (të gjitha bazat e identifikuara në 378 amplikone të renditur me 19% përmbajtje GC të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim prej 2.6%)
- Përmbajtja e GC $\leq 87\%$ (të gjitha bazat e identifikuara në 378 amplikone të renditur me 87% përmbajtje GC të identifikuar saktë me shkallë pa identifikim prej 0.6%)
- Gjatësitë e PolyA ≤ 9 (të gjitha bazat e identifikuara në 378 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyA prej nëntë nukleotidesh të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim prej 2.5%)
- Gjatësitë e PolyT ≤ 10 (të gjitha bazat e identifikuara në 378 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyT prej dhjetë nukleotidesh të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim më të vogël se 0.1%)
- Gjatësitë e PolyG ≤ 6 (të gjitha bazat e identifikuara në 2268 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyG prej gjashtë nukleotidesh të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim prej 0.5%)
- Gjatësitë e PolyC ≤ 6 (të gjitha bazat e identifikuara në 756 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje PolyC prej gjashtë nukleotidesh të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim prej 0.4%)
- Gjatësitë e përsëritura të dinukleotideve $\leq 4x$ (të gjitha bazat e identifikuara në 1890 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje dinukleotidesh 4x u identifikuan saktë me një shkallë pa identifikim prej 0.9%)
- Gjatësitë e përsëritura të trinukleotideve $\leq 5x$ (të gjitha bazat e identifikuara në 378 amplikone të renditur që përmbajnë një përsëritje trinukleotidesh 5x u identifikuan saktë me një shkallë pa identifikim prej 1.4%)
- Gjatësitë e futjes ≤ 23 (të gjitha bazat e identifikuara në 378 amplikone të renditur që përmbajnë një futje 23-nukleotidesh të identifikuar saktë me shkallë pa identifikim prej 0.8%)

- Gjatësitë e fshirjes ≤ 25 (të gjitha bazat e identifikuar në 1134 amplikone të renditura që përmbajnë një fshirje prej 25 nukleotidesh të identifikuar saktë me një shkallë pa identifikim prej 0.7%)

Preçizion

Saktësia e Instrumentit NextSeq 550Dx u përcaktua duke analizuar 13 mostra unike të Gjenomit të platinit duke përdorur tre instrumente, tre seri reagenti dhe tre operatorë për të krijuar nëntë renditje gjatë pesë ditëve të fillimit. Analiza përfaqësuese, mostrat dhe metoda referuese janë të njëjta siç përshkruhet për studimin e saktësisë së linjës germinale. Kontributet e preçizionit përcaktuan nga analiza e komponentëve të variancës duke përdorur VAF si variabël përgjigjeje dhe duke llogaritur devijimet standarde në nivelin e komponentëve për instrumentin, serinë e reagentit, operatorin dhe ditën e fillimit ([Tabela 19](#)). Numri i përgjithshëm i vëzhgimeve të përdorura në analizë për secilin komponent të ndryshueshmërisë së instrumentit, operatorit ose lserisë së reagentit ishte përkatësisht 699, 176 dhe 235 për SNV-të, futjet dhe fshirjet.

Tabela 19 Rezultatet e preçizionit për instrumentin NextSeq 550Dx (Devijimi standard)

Elementi përbërës	Lloji i variantit	Komponenti SD		SD total	
		Maksimumi	Mesatare	Maksimumi	Mesatare
Seria	SNV	0.0076	0.0002	0.0833	0.0154
	Futja	0.0104	0.0000	0.0410	0.0157
	Fshirja	0.0046	0.0005	0.0560	0.0187
Instrumenti	SNV	0.0114	0.0003	0.0840	0.0153
	Futja	0.0138	0.0009	0.0407	0.0161
	Fshirja	0.0079	0.0008	0.0549	0.0187
Operatori	SNV	0.0226	0.0008	0.0841	0.0155
	Futja	0.0344	0.0010	0.0417	0.0164
	Fshirja	0.0083	0.0013	0.0547	0.0187
Dita	SNV	0.0277	0.0012	0.0825	0.0160
	Futja	0.0235	0.0012	0.0409	0.0169
	Fshirja	0.0271	0.0014	0.0548	0.0188

Krahasimi i metodës (platforma e renditjes)

Mostrat e gjakut të plotë dhe FFPE u vlerësuan në Instrumentin NextSeq 550Dx dhe instrumentin MiSeqDx duke përdorur rrjedhat e punës së linjës germinale dhe somatike Kompleti i personalizuar i aplikonit TruSeq Dx. Pajtueshmëria e frekuencës së varianteve për mostrat e gjakut dhe FFPE u vlerësua duke përdorur analiza të shumta përfaqësuese. [Figura 2](#) paraqet korrelacionin VAF midis dy instrumenteve për një analizë përfaqësuese dhe [Tabela 20](#) përmbledh këtë korrelacion sipas panelit të analizës. Bazuar në korrelacionin e fortë midis instrumentit MiSeqDx dhe Instrumentit NextSeq 550Dx, karakteristikat e performancës që lidhen me faktorët

para-analitike (p.sh., metodat e nxjerrjes ose substancat ndërhyrëse) përcaktohen të jenë të zbatueshme për të dy instrumentet. Shihni fletushkën e paketimit të Kompletit të personalizuar të amplikonit të TruSeq Dx për detaje të mëtejshme.

Figura 2 Korrelacioni VAF i MiSeqDx me instrumentet NextSeq 550Dx për mostrat FFPE (majtas) dhe gjaku (djathtas) duke përdorur analizën 1

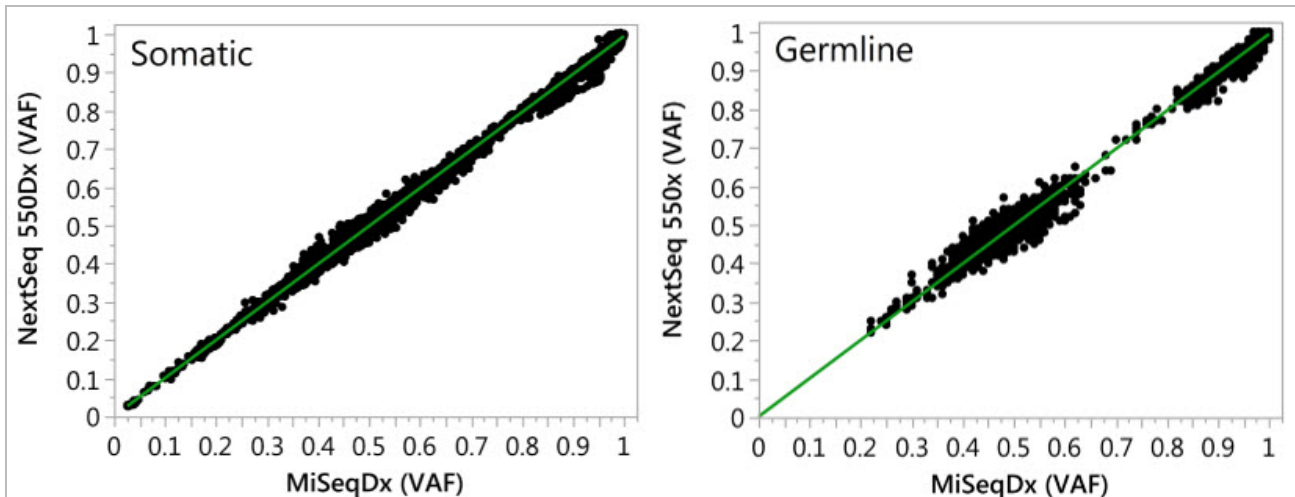


Tabela 20 Rezultatet e krahasimit të metodës duke përdorur gjak unik dhe mostrat FFPE

Burimi i gADN-së	Analiza (paneli oligo)	Kopjimet biologjike (mostrat)	Kopjimet teknike (për mostër)	Vëzhgime (# i varianteve)	Pjerrësi	Ndërprerje	Korrelacioni (R^2)
Gjaku	Analiza 1	45	2	8369 ¹	0.992	0.002	0.995 ²
Gjaku	Analiza 2	45	2	5457	0.995	0.005	0.981
FFPE	Analiza 1	46	2	8319	0.993	0.000	0.997 ²
FFPE	Analiza 3	40	1	280	0.969	0.015	0.978

¹Dy pika të të dhënave u hoqën bazuar në kufizimin e deklaruar për modulën e variantit linja germinale.

²Koeficienti i përcaktimit për grafikët VAF siç ilustron në Figurën 2.

Riprodhueshmëria

Riprodhueshmëria e Instrumentit NextSeq 550Dx u vlerësua duke përdorur mostra të Gjenomit të platinut me një analizë përfaqësuese të projektuar për të pyetur një sërë gjenesh që mbulojnë 12,588 baza në 23 kromosome të ndryshme duke përdorur 150 amplikone. Analiza e linjës germinale përbëhej nga shtatë përsëritje të 13 mostrave; analiza somatike përbëhej nga gjashtë përsëritje të shtatë mostrave në nivele të ndryshme të VAF-it. Mostrat u përgatitën duke përdorur Kompletin e personalizimit të amplikonit TruSeq Dx.

Analiza u krye në tre vende të jashtme duke përdorur një seri të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle). Në secilin vend u përdor një instrument i vetëm NextSeq 550Dx. Dy operatorë kryen analizën në secilin vend. Çdo operator kreu analiza në tre ditë fillimi jo të njëpasnjëshme për secilin lloj mostre për një total prej 36 analizash në të tre vendet. Kjo analizë rezultoi në 18 ekzekutime për të dyja flukset e punës, atë të linjës germinale dhe atë somatike.

Linja germinale

Variantet e linjës germinale me nivel VAF ≥ 0.2 raportohen si pozitive (variant). Për variantet e pritshme pozitive të linjës germinale, të dhënat u vlerësuan për shkallën pa identifikim dhe shkallën e saktë të identifikimeve pozitive brenda secilit lloj varianti (SNV, futje, fshirje). [Tabela 21](#) përmbledh normat e vëzhguara, së bashku me nivelet e ulëta dhe të sipërme të besimit 95% (LCL/UCL) të llogaritura duke përdorur metodën e Wilson Score, për secilin lloj varianti.

Tabela 21 Vëzhgimet e identifikimit të linjës germinale për rezultatet e pritura pozitive sipas llojit të variantit

Lloji i variantit	Pa identifikim			Identifikim pozitiv i saktë				
	Vëzhguar	Totali	Përqindja	Vëzhguar	Totali	Përqindja	95% LCL	95% UCL
SNV	16	110,376	0.014	110,349	110,360	99.99	99.98	99.99
Futjet	1026	37,044	2.77	36,018	36,018	100	99.99	100.00
Fshirjet	648	34,776	1.86	34,128	34,128	100	99.99	100.00

Variantet e linjës germinale me nivel VAF të < 0.2 raportohen si negative (tipi normal). Për vendndodhjet e pritshme negative të linjës germinale, të dhënat u vlerësuan për mungesë identifikimi dhe për normat e sakta të thirrjes së tipit normal. [Tabela 22](#) përmbledh normat e vëzhguara, së bashku me nivelet e ulëta dhe të sipërme të besimit 95% (LCL/UCL) të llogaritura duke përdorur metodën Wilson Score.

Tabela 22 Vëzhgimet e identifikimit të linjës germinale për rezultatet e pritura negative

Lloji i variantit	Pa identifikim			Identifikimi negativ i saktë				
	Vëzhguar	Totali	Përqindja	Vëzhguar	Totali	Përqindja	95% LCL	95% UCL
Lloji normal	4883	19,600,182	0.025	19,595,299	19,595,299	100	100.00	100.00

Variantet e linjës germinale me nivel VAF ≥ 0.2 dhe < 0.7 quhen heterozigotë pozitivë për variantin dhe variantet me nivel VAF ≥ 0.7 quhen homozigotë pozitivë për variantin. Mostrat e linjës germinale me variante heterozigote u përdorën për të përcaktuar nëse ndryshueshmëria e natyrshme e analizës do të ndikonte në përcaktimin e gjenotipit. Cx u përcaktua për të dy kufijtë (0.2 për gjenotipet heterozigote dhe 0.7 për gjenotipet homozigote), ku x është përqindja e analizave të përsëritura që tejkalojnë kufirin. Për kufirin e poshtëm prej 0.2 VAF, Cx ishte

$\geq 99.999\%$, duke treguar se $\geq 99.999\%$ e varianteve heterozigote do të quheshin heterozigotë. Lidhur me kufirin e sipërm prej 0.7 VAF, Cx ishte $\leq 0.001\%$, duke treguar kështu se $\leq 0.001\%$ e varianteve heterozigote do të quheshin homozigote. [Tabela 23](#) përmbledh rezultatet sipas llojit të variantit.

Variantet e linjës germinale me nivel VAF ≥ 0.2 dhe < 0.7 quhen heterozigotë pozitivë për variantin dhe variantet me nivel VAF ≥ 0.7 quhen homozigotë pozitivë për variantin. Mostrat e linjës germinale me variante heterozigote u përdorën për të përcaktuar nëse ndryshueshmëria e natyrshme e analizës do të ndikonte në përcaktimin e gjenotipit. Cx u përcaktua për të dy kufijtë (0.2 për gjenotipet heterozigote dhe 0.7 për gjenotipet homozigote), ku x është përqindja e analizave të përsëritura që tejkalojnë kufirin. Lidhur me kufirin e poshtëm prej 0.2 VAF, Cx ishte $\geq 99.999\%$, duke treguar kështu se $\geq 99.999\%$ e varianteve heterozigote do të quheshin heterozigotë. Për kufirin e sipërm prej 0.7 VAF, Cx ishte $\leq 0.001\%$, duke treguar se $\leq 0.001\%$ e varianteve heterozigote do të quheshin homozigote. [Tabela 23](#) përmbledh rezultatet sipas llojit të variantit.

Tabela 23 Vlerat Cx të linjës germinale për variantet heterozigote

Lloji i variantit	Kufiri në 0.2 VAF	Kufiri në 0.7 VAF
	$\geq 99.999\%$	$\leq 0.001\%$
SNV	94/94	94/94
Futjet	24/24	24/24
Fshirjet	35/35	35/35
Totali	153	153

Somatike

Variantet somatike me nivele VAF ≥ 0.026 raportohen si pozitive (variant). Vëzhgime me nivele VAF ≥ 0.01 dhe < 0.026 u konsideruan si të paqarta për qëllimet e kësaj analize (as pozitive as negative, të shënuara si frekuencë e ulët e variantit). Për të vlerësuar performancën, rezultatet u llogaritën në tre mënyra:

- Rasti më i mirë: Çdo rezultat i paqartë konsiderohej një identifikim pozitiv i saktë (pajtueshmëri me rezultatet e pritura)
- Rasti më i keq: Çdo rezultat i paqartë konsiderohej një identifikim i pasaktë (mospajtim me rezultatet e pritura)
- Rasti i përjashtimit: Çdo rezultat i paqartë u përjashtua nga analiza

Tri tabela, [Tabela 24](#), [Tabela 25](#) dhe [Tabela 26](#), përmbledhin rezultatet e identifikimeve për rastin më të mirë, rastin më të keq dhe rastin e përjashtimit, përkatësisht, së bashku me nivelet e ulëta dhe të sipërme të besimit 95% (LCL/UCL) të llogaritura duke përdorur metodën e Rezultatit Wilson.

Tabela 24 Vëzhgimet e Identifikimit somatik për rezultatet pozitive të pritura sipas llojit të variantit (Rasti më i mirë)

Lloji i variantit	Identifikim pozitiv i saktë				
	Vëzhguar	Totali	Përqindja	95% LCL	95% UCL

SNV	54,346	54,346	100	99.99	100.00
Futjet	18,036	18,036	100	99.98	100.00
Fshirjet	18,381	18,381	100	99.98	100.00

Tabela 25 Vëzhgimet e Identifikimit somatik për rezultatet pozitive të pritura sipas llojit të variantit (Rasti më i Keq)

Lloji i variantit	Identifikim pozitiv i saktë				
	Vëzhguar	Totali	Përqindja	95% LCL	95% UCL
SNV	54,346	54,346	100	99.99	100.00
Futjet	18,000	18,036	99.8	99.72	99.86
Fshirjet	18,381	18,381	100	99.98	100.00

Tabela 26 Vëzhgimet e Identifikimit somatik për rezultatet pozitive të pritura sipas llojit të variantit (Identifikimet e dyshimta u hoqën)

Lloji i variantit	Identifikim pozitiv i saktë				
	Vëzhguar	Totali	Përqindja	95% LCL	95% UCL
SNV	54,346	54,346	100	99.99	100.00
Futjet	18,000	18,000	100	99.98	100.00
Fshirjet	18,381	18,381	100	99.98	100.00

Variantet somatike me nivel $VAF < 0.01$ raportohen si identifikime negative (të tipit normal). Për vendndodhjet somatike të pritura negative, të dhënat u vlerësuan për shkallën pa identifikim dhe shkallën e saktë të identifikimit të tipit normal. Identifikimet e sakta të tipit normal u përcaktuan duke përjashtuar jo-identifikimet dhe duke zbritur identifikimet e vëzhguara që binin në zonën e dyshimtë (nivelet e $VAF \geq 0.01$ dhe < 0.026) si dhe identifikimet e pasakta që ishin mbi kufirin (nivelet e $VAF \geq 0.026$) nga totali. [Tabela 27](#) përmbledh rezultatet e vëzhguara, totale dhe të përqindjes për lokacionet negative somatike për shkallën pa identifikim dhe shkallën e saktë të identifikimit të tipit normal së bashku me nivelet e ulëta dhe të sipërme të besimit 95% (LCL/UCL) të llogaritura duke përdorur metodën Wilson Score.

Tabela 27 Vëzhgimet e identifikimit somatik për rezultatet e pritura negative

Varianti Lloji	Pa identifikim			Identifikim i saktë						
	Vëzhguar	Totali	Përqindja	I paqartë	E pasaktë	I saktë	Totali	Përqindja	95% LCL	95% UCL
Lloji normal	36,326	8,909,676	0.408	2254	121	8,870,975	8,873,350	99.97	99.972	99.974

Mostrat somatike në nivele të ndryshme të VAF për të njëjtin variant u vlerësuan për të përcaktuar C95 të analizës (brenda secilit lloj varianti). Për të vlerësuar ndryshueshmërinë pranë kufirit të analizës, u përdorën mostra që kishin nivele të pritura të VAF midis 0.02 dhe 0.07. C95 u përcaktua për secilin variant, me C95 më të lartë për secilin lloj varianti të raportuar në [Tabela 28](#).

Tabela 28 Përmbledhja somatike C95

Lloji i variantit	N	C95
SNV	74	0.0613
Futja	24	0.0573
Fshirja	33	0.0575

Kompleti i reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 Cikle) Performancë

Përmbledhje

NextSeq 550Dx mbështetet nga dy komplete reagenti: Kompleti i reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) dhe Kompleti i reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle). Për të demonstruar se Kompleti i reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) mund të përmbushë kërkesat e performancës analitike të verifikuara dhe vlerësuar me Kompleti i reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle), u kryen studime me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle). U kryen dy përgatitje biblioteka duke përdorur Kompletin e personalizimit të amplikonit TruSeq Dx, njëra me rrjedhën e punës të linjës germinale dhe tjetra me rrjedhën e punës somatike. Bibliotekat nga secila rrjedhë pune u analizuan me tre grupe të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) duke përdorur tre instrumente NextSeq 550Dx. Për më tepër, analiza për secilën rrjedhë pune përfshinte një përdorim të vetëm me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle).

Ndjeshmëria Analitike (Limiti i boshllëkut [LoB] dhe Limiti i zbulimit [LoD])

Verifikimi me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) tregoi se Instrumenti NextSeq 550Dx mund të zbulojë variante në 0.05 VAF me një gabim të Tipit II ≤ 0.05 dhe se kufiri prej 0.026 VAF i përdorur nga Moduli i varianteve somatike (LoB efektive) mbështet një gabim të Tipit I ≤ 0.01 . Bazuar në këto pretendime, pritet që një variant në 0.05 VAF të jetë më i madh ose i barabartë me 0.026 VAF në 95% të rasteve dhe që një pozicion i tipit normal të jetë më pak se 0.026 VAF në 99% të rasteve. Për t'u siguruar që këto pretendime u përmbushën me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle), u kryen matje të përsëritura në instrumentin NextSeq 550Dx me mostra të tipit normal (mostra LoB) dhe me mostra që përmbanin variante në 0.05 VAF (Mostra LoD) duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle). Përqindja e identifikimeve mbi dhe nën kufirin 0.026 u krahasua më pas me pretendimet e përcaktuara me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2 (300 cikle).

Analiza përfshiu dy mostra LoD, secila me një grup unik variantesh të synuara për 0.05 VAF dhe mostra përkatëse LoB që ishin të tipit normal për variantet e synuara. Për përgatitjen e bibliotekës, mostrat LoD dhe LoB u përpunuan në replikime prej tetë dhe shtatë njësisht, përkatësisht duke përdorur Kompletin e personalizuar të amplikonit TruSeq Dx. Bibliotekat u renditën fillimisht duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) për të identifikuar variantet/koordinatat gjenomike për vlerësimin LoB/LoD me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle). Të gjitha variantet me VAF mesatare midis 0.045 – 0.055 (Variantet LoD) bazuar në rezultatet nga Kompleti i reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) u përdorën për analizën LoD (N = 51 variante). Për analizën LoB, u vlerësuan 51 koordinatat gjenomike përkatëse.

Për vlerësimin e Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle), bibliotekat u renditën në tre seri gjatë tre ditëve të njëpasnjëshme duke përdorur të njëjtin instrument dhe grup të kompletit të reagentit. Kjo analizë arriti në 24 përsëritje për secilin nga 51 variantet e LoD dhe 21 përsëritje për secilën nga pozicionet përkatëse të tipit normal. Përqindja e identifikimeve të tipit normal me VAF < 0.026 janë dhënë në [Tabela 29](#). Përqindja e identifikimeve të varianteve LoD me VAF më të madhe ose të barabartë me 0.026 është dhënë në [Tabela 30](#).

Tabela 29 Proportion of Calls < (Përqindja e identifikimeve) 0.026 për pozicionet e tipit normal (Vlerësimi i pretendimeve LoB)

Varianti Lloji	Pozicionet e vlerësuara	Vëzhgime totale	# i Matjeve të VAF-it $\geq 2.6\%$	Raporti < 2.6%	Përqindja 95% Intervali i besimit
SNV	32	672	0	1	0.994 – 1
Futja	11	231	0	1	0.984 – 1
Fshirja	8	168	0	1	0.978 – 1

Tabela 30 Përqindja e identifikimeve ≥ 0.026 VAF për LoD Variantet (LoD Vlerësimi i kërkesës)

Varianti Lloji	Pozicionet e vlerësuara	Vëzhgime totale	# i Matjeve të VAF-it < 2.6%	# i Matjeve të VAF-it $\geq 2.6\%$	Raporti $\geq 2.6\%$	Përqindja 95% Intervali i besimit
SNV	32	768	1	767	0.999	0.993 – 1
Futja	11	264	3	261	0.989	0.967 – 0.996
Fshirja	8	192	2	190	0.99	0.963 – 0.997

Saktësia

Linja germinale

Studimi i mëposhtëm u krye për të vlerësuar saktësinë e identifikimit të variantit me Modulën e varianteve të linjës germinale duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle). Dymbëdhjetë mostra unike të Gjenomit të platinës u analizuan duke përdorur një analizë përfaqësuese. U kryen gjithsej 11 analiza duke përdorur tre instrumente NextSeq 550Dx dhe tre nga Kompletet e reagentin me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle).

Saktësia u përcaktua për SNV-të, futjet dhe fshirjet duke krahasuar rezultatet me një metodë referimi të përbërë të karakterizuar mirë, Gjenomi i platinës versioni 2016-1.0. Rezultatet e saktësisë nga një ekzekutim renditjeje të vetme me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) jepen për referencë. Një përmbledhje e rezultateve është dhënë në [Tabela 31](#).

Tabela 31 Përmbledhje e marrëveshjes së linjës germinale

Kriteret	Vëzhgime gjithsej (v2.5) ¹	Rezultati nga vëzhgimi (v2.5) ²	Rezultati nga vëzhgimi (v2) ³	Rezultati nga ekzekutimi (v2.5) ⁴	Rezultati nga ekzekutimi (v2) ⁴
PPA për SNV	1056	98.7	98.7	>99.9	>99.9
PPA për futjet	1056	100	100	100	100
PPA për fshirjet	1056	95.2	95.2	>99.9	>99.9
NPA	1056	100	100	100	100
OPA	1056	>99.9	>99.9	>99.9	>99.9

¹Llogaritur si numër i mostrave për ekzekutim x numër i ekzekutimeve (96 mostra për ekzekutim x 11 ekzekutime = 1056 vëzhgime).

²Vlera më e ulët e vëzhguar nga replikimi i mostrës në të gjitha ekzekutimet (bazuar në 11 ekzekutime për Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2.5).

³Vlera më e ulët e vëzhguar nga replikimi i mostrës në 1 ekzekutim (96 vëzhgime gjithsej).

⁴Vlera më e ulët kur të dhënat nga çdo ekzekutim analizohen në përmbledhje.

Somatike

Studimi i mëposhtëm u krye për të vlerësuar saktësinë e identifikimit të varianteve të Modullit të varianteve somatike në instrumentin NextSeq 550Dx duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle). Dhjetë mostra FFPE të Gjenomit të platinës (dy me variante të holluara deri në 0.05 VAF) u analizuan duke përdorur një analizë përfaqësuese. U kryen gjithsej 11 analiza duke përdorur tre instrumente NextSeq 550Dx dhe tre seri të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle).

Saktësia u përcaktua për SNV-të, futjet dhe fshirjet duke krahasuar rezultatet me një metodë referimi të përbërë të karakterizuar mirë, Gjenomi i platinës versioni 2016-1.0. Rezultatet e saktësisë nga një ekzekutim renditjeje të vetme me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) jepen për referencë. Një përmbledhje e rezultateve është dhënë në [Tabela 32](#).

Tabela 32 Përmbledhje e Marrëveshjes somatike

Kriteret	Vëzhgime totale (v2.5) ¹	Rezultati nga vëzhgimi (v2.5) ²	Rezultati nga vëzhgimi (v2) ³	Rezultati nga ekzekutimi (v2.5) ⁴	Rezultati nga ekzekutimi (v2) ⁴
PPA për SNV	528	100	100	100	100
PPA për futjet	528	96.9	96.9	> 99.9	> 99.9
PPA për fshirjet	528	100	100	100	100
NPA	528	> 99.9	> 99.9	> 99.9	> 99.9
OPA	528	> 99.9	> 99.9	> 99.9	> 99.9

¹Llogaritur si numri i mostrave për ekzekutim x numri i ekzekutimeve (48 mostra për ekzekutim x 11 ekzekutime = 528 vëzhgime).

²Vlera më e ulët e vëzhguar nga replikimi i mostrës në të gjitha ekzekutimet (bazuar në 11 ekzekutime për Kompletin e reagentit me rezultat të lartë të NextSeq 550Dx v2.5).

³Vlera më e ulët e vëzhguar nga replikimi i mostrës në 1 ekzekutim (96 vëzhgime gjithsej).

⁴Vlera më e ulët kur të dhënat nga çdo ekzekutim analizohen në përmbledhje.

Preçizion

Linja germinale

Saktësia e kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) me Modulin e varianteve të linjës germinale u vlerësua duke përdorur mostra të Gjenomit të platinut dhe një analizë përfaqësuese. Analia përbëhej nga një përgatitje e vetme biblioteke duke përdorur Kompletin e personalizimit të amplikonit TruSeq Dx dhe përfshinte 12 mostra të përpunuara me tetë replikime secila. Bibliotekat u renditën me tre seri të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) dhe tre instrumente NextSeq 550Dx për një total prej nëntë renditjesh.

Mostrat me variante heterozigote u përdorën për të përcaktuar nëse ndryshueshmëria e natyrshme e analizës do të ndikonte në identifikimin e gjenotipit (N = 153 variante unike heterozigote). Cx u përcaktua për të dy kufijtë e Modulit të varianteve të linjës germinale (0.2 për gjenotipet heterozigote dhe 0.7 për gjenotipet homozigote), ku x është përqindja e analizave të përsëritura që tejkalojnë kufirin. Për kufirin më të ulët prej 0.2 VAF, varianti me Cx minimal për Kompletin e reagentit NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) ishte > 99.9%, duke treguar se > 99.9% e varianteve heterozigote do të quheshin heterozigote. Për kufirin e sipërm prej 0.7 VAF, varianti me Cx maksimal për Kompletin e reagentit NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) ishte < 1.5%, që tregon se ≤ 1.5% e varianteve heterozigote do të quheshin homozigote. [Tabela 33](#) përmbledh rezultatet sipas llojit të variantit. Vlerat Cx nga ekzekutimi i vetëm i renditjes duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) jepen për referencë.

Tabela 33 Vlerat Cx të linjës germinale për variantet heterozigote

Lloji i variantit	N	Kufiri në 0.2 VAF		Kufiri në 0.7 VAF	
		Cx min (v2.5) ¹	Cx min (v2) ²	Cx maks (v2.5) ¹	Cx maks (v2) ²
SNV	94	>99.9%	>99.9%	1.5%	1.0%
Futjet	24	100%	100%	0%	<0.1%
Fshirjet	35	100%	>99.9%	<0.1%	<0.1%

¹Vlerat Cx bazuar në vlerësimet e Devijimit standard total nga analiza e komponentëve të variancës.

²Vlerat Cx bazuar në Devijimet standarde të mostrës.

Somatike

Saktësia e kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) me Modulin e varianteve somatike u vlerësua duke përdorur mostrat e Gjenomit platinum FFPE dhe një analizë përfaqësuese. Analiza përbëhej nga një përgatitje e vetme biblioteke duke përdorur Kompletin e personalizimit të amplikonit TruSeq Dx dhe përfshinte dy mostra me tetë replikime secila. Bibliotekat u renditën duke përdorur tre grupe të Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) dhe tre instrumente NextSeq 550Dx për një total prej nëntë renditjesh.

Variantet somatike me nivele të pritura të VAF ≤ 0.10 VAF (N = 131 variante unike) u përdorën për të vlerësuar ndryshueshmërinë e instrumentit pranë kufirit VAF të Modulit të varianteve somatike (variantet somatike me nivel VAF ≥ 0.026 quhen pozitive për variantin). Vlerat C95 u përcaktuan për secilin nga variantet somatike. Vlerat C95 përfaqësojnë VAF-në në të cilën probabiliteti për të qenë më i madh se kufiri i VAF-së së Modulit të varianteve somatike është 95%. Vlerat më të larta të C95 sipas llojit të variantit raportohen në [Tabela 34](#). Rezultatet e C95 nga një renditje e vetme duke përdorur Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) janë dhënë për referencë.

Tabela 34 Përmbledhje Somatike C95

Lloji i variantit	# i varianteve të vlerësuara	C95 (v2.5) ¹	C95 (v2) ²
SNV	74	0.064	0.063
Futjet	24	0.062	0.061
Fshirjet	33	0.060	0.060

¹Vlerat C95 bazuar në vlerësimet e Devijimit standard total nga analiza e komponentëve të variancës.

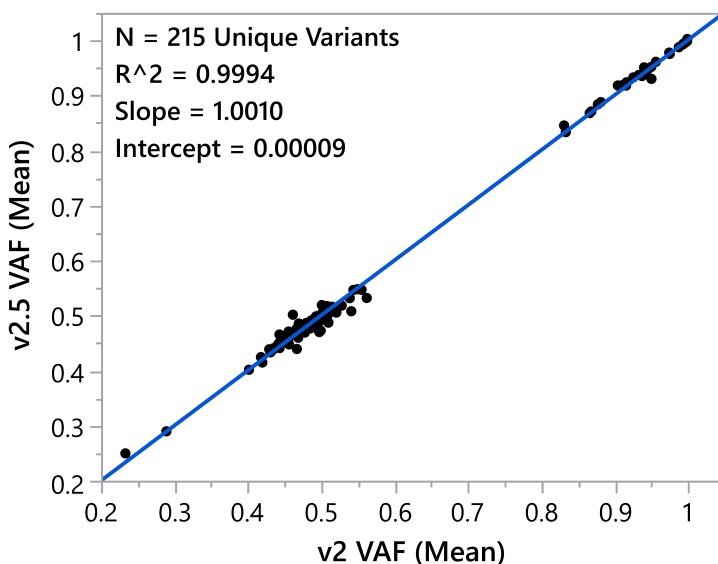
²Vlera C95 bazuar në Devijimet standarde të mostrës.

Krahasimi i metodës (kompleti i reagentit)

Linja germinale

Vlerat mesatare të VAF-ve nga 215 variante unike u vlerësuan në Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) dhe Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) duke përdorur rezultatet e krijuara nga Moduli i varianteve të linjës germinale. Mesataret e VAF u llogaritën nga 11 renditje (v2.5) dhe një renditje (v2). Të paktën tetë përsëritje u përdorën për të llogaritur mesataren për secilin variant. Figura 3 paraqet korrelacionin VAF midis dy kompleteve të reagentit. Bazuar në korrelacionin e fortë linear VAF dhe ngjashmërinë në rezultate midis kompleteve të reagentit, karakteristikat e performancës të verifikuara dhe vlerësuar fillimisht me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) me Modulin e variantit të linjës germinale përcaktohen të jenë të zbatueshme për Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle).

Figura 3 Korrelacioni i frekuencës së aleleve të variantit të Moduli të varianteve të linjës germinale (VAF) midis Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) dhe Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle).

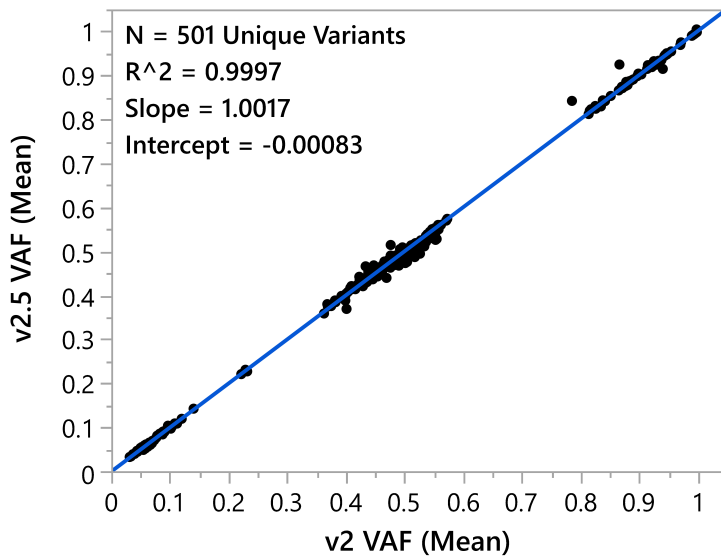


Somatike

Vlerat mesatare të VAF-ve për 501 variante unike u vlerësuan në të gjithë Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) dhe Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle) duke përdorur rezultatet e krijuara nga Moduli i varianteve somatike. Mesataret e VAF u llogaritën nga 11 renditje (v2.5) dhe një renditje (v2). Të paktën tre përsëritje u përdorën për të llogaritur mesataren për secilin variant unik. Figura 4 paraqet korrelacionin VAF midis dy kompleteve të reagentit. Bazuar në korrelacionin VAF dhe ngjashmërinë në rezultate midis kompleteve të reagentit, karakteristikat e performancës të verifikuara dhe

vlerësuara me Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) me Modulin e variantit somatik përcaktohen të jenë të zbatueshme për Kompletin e reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle).

Figura 4 Korrelacioni i Frekuencës së aleleve të variantit të Modulit të variantit somatik (VAF) midis Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2 (300 cikle) dhe Kompletit të reagentit me rezultat të lartë NextSeq 550Dx v2.5 (300 cikle).



Historia e ndryshimeve

Dokumenti	Data	Përshkrimi i ndryshimit
Dokumenti # 1000000030326 v07	Gusht 2023	U shtua përmbajtje për të mbështetur Serverin opsional Illumina DRAGEN për NextSeq 550Dx. Numri i pjesës së filtrit të ajrit të përditësuar. Numri i variantit FFPE (somatik) i përditësuar i përdorur për të përcaktuar frekuencat e aleleve të varianteve. Përmbledhje e azhurnuar e tabelës së Marrëveshjes së linjës germinale. U shtua paralajmërimi për kërcënimet e sigurisë kibernetike.
Dokumenti # 1000000030326 v06	Maj 2022	Përditësime të bëra për të korrigjuar përmbajtjen e shtuar pa dashje nga softueri burimor.

Dokumenti	Data	Përshkrimi i ndryshimit
Dokumenti # 1000000030326 v05	Nëntor 2021	U shtua një deklaratë paralajmërimi dhe masash paraprake rreth raportimit të incidenteve serioze. U shtua një deklaratë te Parimet e procedurës që specifikon përdoruesin e synuar. U hoq referenca për Kompletin e reagentit me rezultat të lartë v2 (300 cikle). U shtua referenca për Kompletin e reagentit me rezultat të lartë v2.5 (75 cikle).
Dokumenti # 1000000030326 v04	Gusht 2021	U shtua tabela e Historikut të rishikimit. U përditësua adresa e Përfaqësuesit të autorizuar të BE-së.

Patentat dhe markat tregtare

Ky dokument dhe përmbajtja e tij janë pronë e Illumina, Inc. dhe filialeve të saj ("Illumina"), dhe janë të destinuara vetëm për përdorim kontraktual nga klienti i saj në lidhje me përdorimin e produktit/produkteve të përshkruara këtu dhe për asnjë qëllim tjetër. Ky dokument dhe përmbajtja e tij nuk do të përdoren ose shpërndahen për ndonjë qëllim tjetër dhe/ose nuk do të komunikohen, zbulohen ose riprodhohen në asnjë mënyrë tjetër pa pëlqimin paraprak me shkrim të Illumina-s. Illumina nuk transferon asnjë licensë sipas patentës, markës tregtare, të drejtës së autorit ose të drejtave të saj të së drejtës së zakonshme, as të drejtave të ngjashme të ndonjë pale të tretë me anë të këtij dokumenti.

Udhëzimet në këtë dokument duhet të ndiqen në mënyrë strikte dhe të qartë nga një personel i kualifikuar dhe i trajnuar siç duhet, në mënyrë që të sigurohet përdorimi i duhur dhe i sigurt i produktit/produkteve të përshkruara këtu. E gjithë përmbajtja e këtij dokumenti duhet të lexohet dhe kuptohet plotësisht përpara se të përdoren produkte të tillë.

MOSLEXIMI DHE MOSNDJEKJA PLOTËSISHT E TË GJITHA UDHËZIMEVE TË PËRMBLEDHURA KËTU MUND TË REZULTOJË NË DËMTIM TË PRODUKTIT(VE), LËNDIM TË PERSONAVE, PËRFSHIRË PËRDORUES OSE TË TJERË, DHE DËMTIME TË PRONËS TJETËR, DHE DO TË ANULOJË ÇDO GARANCI TË ZBATUESHME PËR PRODUKTIN(ET).

ILLUMINA NUK MERR PËRSIPËR ASNJË PËRGJEGJËSI QË RRJEDH NGA PËRDORIMI I PAPËRSHTATSHËM I PRODUKTIT/PRODUKTEVE TË PËRSHKRUARA KËTU (PËRFSHIRË PJESËT E TYRE APO SOFTUERIN).

© 2023 Illumina, Inc. Të gjitha të drejtat të rezervuara.

Të gjitha markat tregtare janë pronë e Illumina, Inc. ose e pronarëve të tyre përkatës. Për informacion specifik mbi markën tregtare, referojuni www.illumina.com/company/legal.html.

Informacioni i kontaktit



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (jashtë Amerikës së Veriut)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Sponsori Australian

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

Etiketimi i produktit

Për një referencë të plotë të simboleve që shfaqen në paketimin dhe etiketimin e produktit, referojuni çelësit të simboleve te support.illumina.com në skedën *Documentation* (Dokumentacioni) për kompletin tuaj.