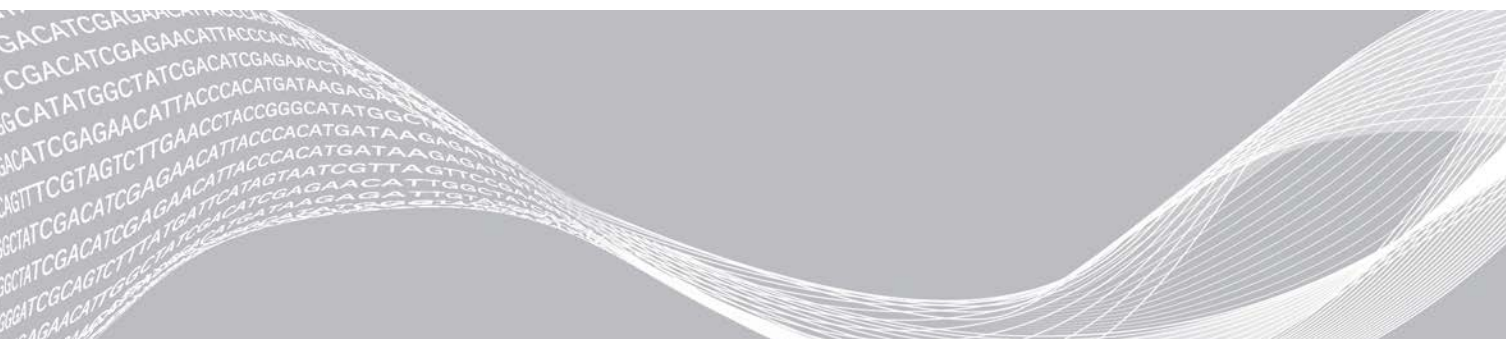


Moduł analityczny lokalnego menedżera przebiegu do oznaczania 139 wariantów genotypu mukowiscydozy, wer. 2.0

Instrukcja wykonywania procedur

DO STOSOWANIA W DIAGNOSTYCE IN VITRO

Przegląd	3
Wprowadzanie informacji o przebiegu	3
Metody analityczne	5
Wyświetlanie przebiegu i wyników	5
Plik z danymi śledzenia serii	6
Raport z wyników	6
Pomoc techniczna	9



Niniejszy dokument oraz jego treść stanowią własność firmy Illumina, Inc. oraz jej podmiotów zależnych („Illumina”) i są przeznaczone wyłącznie do użytku zgodnego z umową przez klienta firmy w związku z użytkowaniem produktów opisanych w niniejszym dokumencie, z wyłączeniem innych celów. Niniejszy dokument oraz jego treść nie będą wykorzystywane ani rozpowszechniane do innych celów i/lub publikowane w inny sposób, ujawniane ani kopiowane bez pisemnej zgody firmy Illumina. Firma Illumina na podstawie niniejszego dokumentu nie przenosi żadnych licencji podlegających przepisom w zakresie patentów, znaków towarowych czy praw autorskich ani prawa powszechnemu lub prawom pokrewnym osób trzecich.

W celu zapewnienia właściwego i bezpiecznego użytkowania produktów opisanych w niniejszym dokumencie podane instrukcje powinny być ściśle przestrzegane przez wykwalifikowany i właściwie przeszkolony personel. Przed rozpoczęciem użytkowania tych produktów należy zapoznać się z całą treścią niniejszego dokumentu.

NIEZAPOZNANIE SIĘ LUB NIEDOKŁADNE PRZESTRZEGANIE WSZYSTKICH INSTRUKCJI PODANYCH W NINIEJSZYM DOKUMENCIE MOŻE SPOWODOWAĆ USZKODZENIE PRODUKTÓW LUB OBRAŻENIA CIAŁA UŻYTKOWNIKÓW LUB INNYCH OSÓB ORAZ USZKODZENIE INNEGO MIENIA, A TAKŻE SPOWODUJE UNIEWAŻNIENIE WSZELKICH GWARANCJI DOTYCZĄCYCH PRODUKTÓW.

FIRMA ILLUMINA NIE PONOSI ODPOWIEDZIALNOŚCI ZA NIEWŁAŚCIWE UŻYTKOWANIE PRODUKTÓW (W TYM ICH CZĘŚCI I OPROGRAMOWANIA) OPISANYCH W NINIEJSZYM DOKUMENCIE.

© 2021 Illumina, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Wszystkie znaki towarowe są własnością firmy Illumina, Inc. lub ich odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje na temat znaków towarowych można znaleźć na stronie www.illumina.com/company/legal.html.

Przeгляд

Moduł analityczny lokalnego menedżera przebiegu do oznaczania 139 wariantów genotypu mukowiscydozy, wer. 2.0, przeznaczony jest do użytku z zestawem TruSight do oznaczania 139 wariantów genotypu mukowiscydozy. Test wykrywa 139 istotnych klinicznie, wywołujących mukowiscydozę mutacji i wariantów genu błonowego regulatora przewodnictwa związanego z mukowiscydozą (*CFTR*) w genomowym DNA wyodrębnionym z próbek ludzkiej pełnej krwi obwodowej. Moduł analityczny wykonuje wtórne analizy oraz generuje raporty z przebiegów sekwencjonowania przy użyciu zestawu TruSight do oznaczania wariantów genotypu mukowiscydozy. Patrz: ulotka dołączona do opakowania zestawu *TruSight do oznaczania wariantów genotypu mukowiscydozy* (nr dokumentu: 1000000097720).

Moduł analityczny dokonuje oceny krótkich regionów amplifikowanego DNA, czyli amplikonów, pod kątem wariantów. Celowane sekwencjonowanie amplikonów zapewnia wysokie pokrycie określonych regionów w dużej liczbie próbek.

Informacje na temat niniejszego przewodnika

W niniejszym przewodniku zawarto instrukcje dotyczące konfigurowania parametrów przebiegu sekwencjonowania i analiz przy użyciu modułu analitycznego do oznaczania 139 wariantów genotypu mukowiscydozy, wer. 2.0. Korzystanie z oprogramowania wymaga podstawowej znajomości aktualnej wersji systemu operacyjnego Windows oraz interfejsu użytkownika działającego w oparciu o przeglądarkę internetową. Informacje na temat panelu lokalnego menedżera przebiegu i ustawień systemu zawarto w *Instrukcji obsługi oprogramowania lokalnego menedżera przebiegu do systemu MiSeqDx* (nr dokumentu: 1000000011880).

Wprowadzanie informacji o przebiegu

Ustawianie parametrów

- 1 Zaloguj się do lokalnego menedżera przebiegu.
- 2 Wybierz polecenie **Create Run** (Utwórz przebieg), a następnie wybierz opcję **CF 139-Variant 2.0** (Oznaczenie 139 wariantów genotypu mukowiscydozy — wer. 2.0).
- 3 Wprowadź nazwę przebiegu, która identyfikuje przebieg od sekwencjonowania po analizę. Nazwa może zawierać znaki alfanumeryczne, spacje, znaki podkreślenia lub łączniki (maksimum 40 znaków).
- 4 **[Opcjonalnie]** Wprowadź opis przebiegu. Nazwa może zawierać znaki alfanumeryczne, spacje, znaki podkreślenia lub łączniki (maksimum 150 znaków).
- 5 Wprowadź numer serii i datę ważności zestawu do przygotowania biblioteki.

Określanie próbek do przebiegu

Określ próbki do uwzględnienia w przebiegu za pomocą jednej z poniższych opcji.

- ▶ **Ręczne wprowadzanie próbek** – użyj pustej tabeli na ekranie Create Run (Tworzenie przebiegu). Sugerowane dołki z próbkami zostaną podświetlone.
- ▶ **Importowanie próbek** – przejdź do pliku zewnętrznego w formacie wartości rozdzielonych przecinkami (*.csv). Szablon jest dostępny do pobrania na ekranie Create Run (Tworzenie przebiegu).

Ręczne wprowadzanie próbek

- 1 Wprowadź niepowtarzalną nazwę próbki w polu Sample Name (Nazwa próbki). Nazwa może zawierać znaki alfanumeryczne, łączniki lub znaki podkreślenia (maksimum 40 znaków).
- 2 Kliknij prawym klawiszem myszy, aby wybrać dodatnią lub ujemną próbkę kontrolną. Aby można było zapisać przebieg, musi on zawierać co najmniej jedną dodatnią i jedną ujemną próbkę kontrolną.
- 3 **[Opcjonalnie]** Wprowadź opis próbki w odpowiadającej jej karcie Description (Opis). Nazwa może zawierać znaki alfanumeryczne, łączniki lub znaki podkreślenia (maksimum 50 znaków).
- 4 **[Opcjonalnie]** Wybierz adapter indeksu 1 z listy rozwijanej Index 1 (i7) (Indeks 1 [i7]). Krok ten jest opcjonalny, ponieważ kombinacje indeksów i7 oraz i5 w domyślnym układzie wypełniane są automatycznie.
- 5 **[Opcjonalnie]** Wybierz adapter indeksu 2 z listy rozwijanej Index 2 (i5) (Indeks 2 [i5]). Krok ten jest opcjonalny, ponieważ kombinacje indeksów i7 oraz i5 w domyślnym układzie wypełniane są automatycznie.
- 6 Wybierz ikonę **Drukuj**, aby wyświetlić układ płytki.
- 7 Wybierz opcję **Print** (Drukuj), aby wydrukować układ płytki jako materiał referencyjny do przygotowania bibliotek.
- 8 **[Opcjonalnie]** Wybierz opcję **Export** (Eksportuj), aby wyeksportować informacje o próbce.
- 9 Wybierz opcję **Save Run** (Zapisz przebieg). W przypadku wprowadzenia danych dla mniej niż 24 próbek zostanie wyświetlone okno Insufficient Sample (Niewystarczająca liczba próbek). Wybierz **Proceed** (Kontynuuj), aby kontynuować lub **Cancel** (Anuluj), aby dokonać edycji próbek.



PRZESTROGA

Wykonywanie przebiegu z liczbą próbek mniejszą niż 24 nie zostało zwalidowane przez firmę Illumina. Więcej informacji można znaleźć w ulotce dołączonej do opakowania zestawu TruSight do oznaczania wariantów genotypu mukowiscydozy (nr dokumentu: 1000000097720).

Importowanie próbek

Informacje na temat próbek można zaimportować z dwóch rodzajów plików:

- ▶ Pliku z informacjami o próbce wyeksportowanego uprzednio z modułu do oznaczania 139 wariantów genotypu mukowiscydozy, wer. 2.0, przy użyciu funkcji eksportowania.
- ▶ Szablону, który można wygenerować przy użyciu polecenia **Template** (Szablon) na ekranie Create Run (Utwórz przebieg). Plik szablonu zawiera właściwe nagłówki kolumn do zaimportowania danych wraz z symbolami zastępczymi w każdej kolumnie. Szablon należy dostosować przy użyciu zewnętrznego edytora:
 - 1 Dodaj informacje o próbce dla każdej próbki w przebiegu.
 - 2 Po wprowadzeniu wszystkich informacji usuń pozostałe symbole zastępcze w nieużywanych komórkach.
 - 3 Zapisz plik szablonu.

Aby zaimportować informacje o próbce:

- 1 Wybierz polecenie **Import Samples** (Importuj próbki), znajdź plik docelowy na liście, a następnie wybierz go.
- 2 Wybierz ikonę **Drukuj**, aby wyświetlić układ płytki.
- 3 Wybierz opcję **Print** (Drukuj), aby wydrukować układ płytki jako materiał referencyjny do przygotowania bibliotek.
- 4 **[Opcjonalnie]** Wybierz opcję **Export** (Eksportuj), aby wyeksportować informacje o próbce do pliku zewnętrznego.
- 5 Wybierz opcję **Save Run** (Zapisz przebieg).
W przypadku wprowadzenia danych dla mniej niż 24 próbek zostanie wyświetlone okno Insufficient Sample (Niewystarczająca liczba próbek). Wybierz **Proceed** (Kontynuuj), aby kontynuować lub **Cancel** (Anuluj), aby dokonać edycji próbek.



PRZESTROGA

Wykonywanie przebiegu z liczbą próbek mniejszą niż 24 nie zostało zwalidowane przez firmę Illumina. Więcej informacji można znaleźć w ulotce dołączonej do opakowania zestawu TruSight do oznaczania wariantów genotypu mukowiscydozy (nr dokumentu: 1000000097720).

Edycja przebiegu

Instrukcje na temat edycji informacji dotyczących przebiegu przed rozpoczęciem sekwencjonowania zawarto w *Instrukcji obsługi oprogramowania lokalnego menedżera przebiegu do systemu MiSeqDx (nr dokumentu: 1000000011880)*.

Metody analityczne

Opis metod analitycznych dotyczących zestawu TruSight do oznaczania wariantów genotypu mukowiscydozy znajduje się w ulotce dołączonej do opakowania tego zestawu (*nr dokumentu: 1000000097720*).

Wyświetlanie przebiegu i wyników

- 1 Kliknij nazwę przebiegu na ekranie głównym oprogramowania lokalnego menedżera przebiegu.
- 2 Przejrzyj parametry sekwencjonowania na karcie Run Overview (Przegląd przebiegu).
- 3 **[Opcjonalnie]** Aby skopiować ścieżkę dostępu do folderu wyników przebiegu, kliknij ikonę **Kopiuj do schowka**.
- 4 Wybierz kartę Sequencing Information (Informacje dotyczące sekwencjonowania), aby przejrzeć parametry przebiegu i informacje o materiałach eksploatacyjnych.
- 5 Wybierz kartę Samples and Results (Próbki i wyniki), aby wyświetlić wyniki analizy.
Na karcie znajduje się lista zbiorcza informacji o próbce z podaniem wskaźnika rozpoznań, wyniku analizy i informacji o próbkach kontrolnych.
 - ▶ Jeśli analizę powtarzano, rozwiń listę Select Analysis (Wybierz analizę) i wybierz odpowiednią analizę.
- 6 **[Opcjonalnie]** Kliknij dwukrotnie w polu Comment (Komentarz), aby dodać komentarz na temat próbki wymienionej na liście. Kliknij **Save Changes** (Zapisz zmiany).
- 7 Wybierz z listy próbki, aby wyświetlić szczegółowe informacje na temat wariantów.

Informacje dotyczące wariantów wykrytych w próbkach wyświetlane są poniżej listy próbek.



UWAGA

Każde zapisanie zmian skutkuje utworzeniem pliku wyników w folderze **Alignment** (Dopasowanie).

Do nazwy tego pliku dołączony jest znacznik daty i godziny o formacie **RRMMDD_GGMMSS**.

Więcej informacji na temat kart Run Overview (Przegląd przebiegu) i Sequencing Information (Informacje dotyczące sekwencjonowania) oraz sposobu ponownego umieszczania analizy w kolejce zawarto w *Instrukcji obsługi oprogramowania lokalnego menedżera przebiegu do systemu MiSeqDx (nr dokumentu: 100000011880)*.

Plik z danymi śledzenia serii

Aby wyświetlić plik **LotTracking.txt**, po zakończeniu analizy wybierz jedną z następujących opcji:

- ▶ Kliknij polecenie **Export Lot Tracking Data** (Eksportuj dane śledzenia serii) na karcie Sample and Results (Próbki i wyniki).
- ▶ Otwórz plik w folderze **Alignment** (Dopasowanie).
Ścieżka dostępu do folderu **Alignment** (Dopasowanie) podana jest w polu Analysis Folder (Folder analizy) na karcie Sample and Results (Próbki i wyniki).
 - ▶ **[Opcjonalnie]** Aby skopiować ścieżkę dostępu do folderu analiz, kliknij ikonę **Kopiuj do schowka**.

Po zakończeniu analizy plik z danymi śledzenia serii jest zapisywany w folderze **Alignment** (Dopasowanie) danego przebiegu. Na przykład: **MiSeqAnalysis\. **N** to kolejna liczba, która zwiększa się wraz z każdym ponownym umieszczeniem analizy w kolejce. **RRMMDD_GGMMSS** to znacznik daty i godziny wykonania przebiegu.**

Raport z wyników

Po zakończeniu analizy wtórnej podsumowanie wyników analitycznych znajdzie się na karcie Samples and Results (Próbki i wyniki). Podsumowanie wyników umieszczane jest również w pliku wyników analiz, będącym pojedynczym plikiem tekstowym rozdzielonym tabulatorami o nazwie **TruSightCF139VariantAssay.txt**.

Dane zawarte w pliku wyników są danymi wyświetlanymi na karcie Samples and Results (Próbki i wyniki).

Aby wyświetlić plik wyników analizy **TruSightCF139VariantAssay.txt**, wybierz jedną z następujących opcji:

- ▶ Kliknij polecenie **Export Data** (Eksportuj dane) na karcie Sample and Results (Próbki i wyniki).
- ▶ Otwórz plik w folderze **Alignment** (Dopasowanie).
Ścieżka dostępu do folderu **Alignment** (Dopasowanie) podana jest w polu Analysis Folder (Folder analizy) na karcie Sample and Results (Próbki i wyniki).



UWAGA

Aby skopiować ścieżkę dostępu do folderu analiz, kliknij ikonę **Kopiuj do schowka**.

Pliki z wynikami analiz dla każdego przebiegu sekwencjonowania przechowywane są na aparacie i zapisywane w folderach **MiSeqAnalysis\ oraz **MiSeqAnalysis\. **N** to kolejna liczba, która zwiększa się wraz z każdym ponownym umieszczeniem analizy w kolejce. **RRMMDD_GGMMSS** to znacznik daty i godziny wykonania przebiegu.****

Informacje zawarte w pliku z wynikami analizy

Plik z wynikami analizy (TruSightCF139VariantAssay.txt) składa się z trzech sekcji: nagłówek pliku, informacji o próbce oraz informacji o wariantach wykrytych w próbce. Nagłówek jest umieszczony na początku pliku i zawiera ogólne informacje na temat przebiegu. Uwaga: dla każdego przebiegu generowany jest tylko jeden nagłówek pliku. Natomiast informacje dotyczące próbki i wariantów obecnych w próbce podawane są osobno dla każdej próbki uwzględnionej w analizie. Sekcje te łączone są w pary dla każdej z próbek.

W poniższej tabeli zawarto opis każdego wiersza w nagłówku pliku zawierającym informacje na temat przebiegu:

Tabela 1 Nagłówek pliku (informacje nt. przebiegu)

Nagłówek wiersza	Opis
Test	Opis wykonywanego testu.
Run ID (Identyfikator przebiegu)	Identyfikator przebiegu generowany przez oprogramowanie MiSeq Operating Software (MOS) na początku przebiegu sekwencjonowania.
Run Date (Data przebiegu)	Data (RRMMDD) uruchomienia przebiegu sekwencjonowania w oprogramowaniu MOS.
Analysis Version (Wersja analizy)	Wersja oprogramowania użytego do analizy.

W poniższej tabeli zawarto opis każdego wiersza w sekcjach informacji o próbce:

Tabela 2 Informacje o próbce

Nagłówek wiersza	Opis
Sample ID (Identyfikator próbki)	Nazwa próbki nadana w momencie tworzenia przebiegu połączona z identyfikatorem analizy przypisanym przez oprogramowanie lokalnego menedżera przebiegu. W przypadku ponownego umieszczenia przebiegu w kolejnej części identyfikatora próbki zawierająca jej nazwę pozostanie niezmieniona, natomiast zmieniony zostanie identyfikator analizy. Pole to występuje wyłącznie w pliku *.txt.
Sample Name (Nazwa próbki)	Nazwa próbki podana w momencie tworzenia przebiegu.
Control (Próbka kontrolna)	Rodzaj próbki kontrolnej podany przy tworzeniu przebiegu. Dostępne wartości to: dodatnia lub ujemna. Puste pole wskazuje na użycie jedynie próbki analitycznej.
Comment (Komentarz)	Opcjonalne pole tekstowe na komentarze. Komentarze z poprzedniego przebiegu analizy nie są przenoszone do następnego przebiegu.
Performance (Wynik)	Pass (Powodzenie) lub Fail (Niepowodzenie) na podstawie wskaźnika rozpoznań nukleotydów. Dla dodatniej próbki kontrolnej: <ul style="list-style-type: none">• PASS (Powodzenie) — wskaźnik rozpoznań $\geq 99\%$• FAIL (Niepowodzenie) — wskaźnik rozpoznań $< 99\%$ Dla ujemnej próbki kontrolnej: <ul style="list-style-type: none">• PASS (Powodzenie) — wskaźnik rozpoznań $\leq 10\%$• FAIL (Niepowodzenie) — wskaźnik rozpoznań $> 10\%$ Dla próbki nieoznaczonej jako dodatnia lub ujemna próbka kontrolna: <ul style="list-style-type: none">• PASS (Powodzenie) — wskaźnik rozpoznań $\geq 99\%$• FAIL (Niepowodzenie) — wskaźnik rozpoznań $< 99\%$
Sample Call Rate (Wskaźnik rozpoznań dla próbki)	Liczba pozycji wariantowych spełniających wcześniej zdefiniowaną wartość progową przedziału ufności podzieloną przez łączną liczbę przeanalizowanych pozycji wariantowych. Wskaźnik rozpoznań opisywany jest w odniesieniu do próbki i podawany jako wartość procentowa obliczana według wzoru: 1 minus [liczba pozycji z niepełnymi rozpoznaniem nukleotydów podzielona przez łączną liczbę sekwencjonowanych pozycji].

W poniższej tabeli zawarto opis każdej kolumny w sekcjach informacji o wariantach wykrytych w próbce.

Tabela 3 Informacje o wariantach wykrytych w próbce

Nagłówek kolumny	Opis
Mutations (Common Name) (Mutacje [Nazwa zwyczajowa])	Nazwa zwyczajowa wariantu powodującego mukowiscydozę zgodnie z opisem w bazie danych CFTR2. Nazwa pola w pliku *.txt to „Mutations (Common Name)” (Mutacje [Nazwa zwyczajowa]).
Mutation Type (Typ mutacji)	Typ wariantu. <ul style="list-style-type: none">• SNV — wariant pojedynczego nukleotydu• DIV — wariant delekcja/insercja• DEL — wariant z dużą delecją• PolyTGPolyT — genotyp poliTG/poliT w genie kodującym mukowiscydozę
dbSNP rsID	Identyfikator rs wariantu w bazie danych dbSNP, jeśli dotyczy.
CFTR Gene Region (Region genu CFTR)	Region genu CFTR (nr eksonu lub nr intronu), w którym jest obecny wariant.
Genomic Location (Lokalizacja w genomie)	Lokalizacja genomowa wariantu w chromosomie 7.
cDNA Name (HGVS) (Nazwa cDNA [HGVS])	Opis wariantu na poziomie DNA z zastosowaniem nazewnictwa sekwencji kodującego DNA (cDNA) zgodnie z zaleceniami stowarzyszenia Human Genome Variation Society (HGVS). Nazwa pola w pliku *.txt to „cDNA Name (HGVS)” (Nazwa cDNA [HGVS]).
Protein Name (HGVS) (Nazwa białka [HGVS])	Opis wariantu na poziomie białka z zastosowaniem nazewnictwa sekwencji białek zgodnie z zaleceniami stowarzyszenia Human Genome Variation Society (HGVS). Tytuł pola w pliku *.txt to „Protein Name (HGVS)” (Nazwa białka [HGVS]).
Result (Wynik)	Genotyp wariantu. W przypadku wariantów SNV, DIV i DEL: <ul style="list-style-type: none">• HET — Heterozygotyczny• HOM — Homozygotyczny W przypadku wariantu poliTG/poliT raportowany jest rzeczywisty genotyp. UWAGA: wariant poliTG/poliT jest raportowany jedynie w przypadku wykrycia wariantu R117H.
Interpretation (Interpretacja)	Pole to zawsze pozostawia się puste.

Pomoc techniczna

W celu uzyskania pomocy technicznej należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Illumina.

Witryna: www.illumina.com
Adres e-mail: techsupport@illumina.com

Numery telefonów do działu pomocy technicznej firmy Illumina

Region	Bezpłatne	Regionalne
Ameryka Północna	+1 800 809 4566	
Australia	+1 800 775 688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Belgia	+32 80077160	+32 34002973
Chiny	400 066 5835	
Dania	+45 80820183	+45 89871156
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francja	+33 805102193	+33 170770446
Hiszpania	+34 911899417	+34 800300143
Holandia	+31 8000222493	+31 207132960
Hongkong, Chiny	800960230	
Irlandia	+353 1800936608	+353 016950506
Japonia	0800 111 5011	
Korea Południowa	+82 80 234 5300	
Niemcy	+49 8001014940	+49 8938035677
Norwegia	+47 800 16836	+47 219 39693
Nowa Zelandia	0800 451 650	
Singapur	+1 800 579 2745	
Szwajcaria	+41 565800000	+41 800200442
Szwecja	+46 850619671	+46 200883979
Tajwan, Chiny	00806651752	
Wielka Brytania	+44 8000126019	+44 2073057197
Włochy	+39 800985513	+39 236003759
Inne kraje	+44 1799 534000	

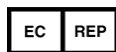
Karty charakterystyki – dostępne na stronie firmy Illumina pod adresem support.illumina.com/sds.html.

Dokumentacja produktu jest dostępna do pobrania w witrynie support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way
San Diego, California 92122, USA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (poza Ameryką Północną)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Sponsor australijski

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

DO STOSOWANIA W DIAGNOSTYCE IN VITRO

© 2021 r. Illumina, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

illumina®