

للاستخدام التشخيصي في المختبر. للتصدير فقط.

كتالوج رقم 20005715

الغرض من الاستخدام

يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx مُخصّصًا لإجراء التسلسل لمكتبات الحمض النووي عند استخدامها في الفحوصات التشخيصية المخبرية. ويجب استخدام جهاز NextSeq 550Dx مع برنامج تحليلي وكواشف تشخيصية مخبرية مُحددة ومُسجّلة، أو مُصدّق عليها أو معتمدة.

آليات العمل الأساسية

يُعدّ Illumina جهاز NextSeq 550Dx مُصمّمًا لإجراء تسلسل لمكتبات الحمض النووي باستخدام فحوصات التشخيص المخبرية كما أنه مُصمّم للاستخدام من قِبَل موظفي المختبرات السريرية المؤهلين والمُدرّبين في الإجراءات التشخيصية المخبرية المُجرّاة في المعامل السريرية. وبالنسبة للإدخال الخاص به، فإن NextSeq 550Dx يستخدم المكتبات المُنشأة من الحمض النووي حيث تُضاف مؤشرات العينة والتسلسلات المُلقطة إلى الأهداف المُضخمة. وتُلقط مكتبات العينة على إحدى خلايا التدفق وتخضع لإجراء التسلسل في الجهاز باستخدام كيمياء التسلسل من خلال التخليق (SBS). وتستخدم كيمياء التسلسل من خلال التخليق (SBS) طريقة أداة الإنهاء القابلة للانعكاس لاكتشاف القواعد النيوكليوتيدية الفردية الموسومة بمادة فلورية لأنها تكون مُدمجة في أشرطة الحمض النووي DNA النامية. ويُجرى برنامج Real-Time Analysis (RTA) تحليلًا للصورة والاستدعاء الأساسي ويُعيّن درجة الجودة لكل قاعدة، وذلك في كل دورة تسلسل. وعند الانتهاء من التحليل الأساسي، يُمكن تنفيذ تحليل ثانوي على الجهاز لمعالجة الاستدعاءات الأساسية. يستخدم NextSeq 550Dx نماذج تحاليل ثانوية مختلفة بناءً على سير العمل. وبالنسبة لوحداث متغير الخط الجنسي أو المتغير الجسدي، تتضمن المعالجة موزّع البيانات، وإنشاء ملف FASTQ، والمحاذة، واستدعاء المتغير وإنشاء ملفات بتنسيق استدعاء المتغير (VCF وgVCF). تتضمن ملفات VCF وgVCF معلومات حول المتغيرات التي تم العثور عليها في مواقع مُحددة في الجينوم المرجعي.

تكوين التشغيل المزدوج

يتضمّن NextSeq 550Dx أحد تكوينات التشغيل المزدوج لتمكين استخدام الجهاز إما في وضع تشخيصي (DX) وإما للاستخدام البحثي (RUO) فقط. وتُنفذ فحوصات التسلسل التشخيصية المخبرية، بما في ذلك وحدات متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي، في الوضع التشخيصي. ولا يجوز استخدام سوى كواشف التسلسل الخاصة بالتشخيص المخبري في الوضع التشخيصي. وتم وضع خصائص الأداء وقيود الإجراءات الخاصة بجهاز NextSeq 550Dx باستخدام وحدتي متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي في الوضع التشخيصي.

قيود الإجراءات

1. لأغراض الاستخدام في التشخيص المخبري فقط.

2. يُمكن لوحداث متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي، عند استخدامها مع مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) أو مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة)، تقديم ما يلي:

• إخراج التسلسل ≤ 90 جيجا قاعدة (Gb)

• طول القراءة (في عملية تشغيل مزدوجة الطرفين) 2×150 زوجًا قاعديًا (bp)

- قواعد مساوية لدرجة الجودة $30 \leq 75\%$ أو أكبر منها عند طول القراءة 2×150 زوجًا قاعديًا
- تحصل 75% من القواعد أو أكبر درجات جودة بقيمة $30 \leq$ على مقياس فريد (Phred)، ما يُشير إلى دقة استدعاء أساسي أكبر من 99.9%
- 3. لا يُجري برنامج الفحص محاذاة للقراءات التي تحتوي على الإنديل (الإدخالات، أو الحذوفات أو حالات الدمج)، والتي يكون فيها طول المحتوى < 25 زوجًا قاعديًا. وبالتالي، يتعذر على برنامج الفحص اكتشاف الإنديل الذي يكون طوله < 25 زوجًا قاعديًا.
- 4. قد لا يعمل برنامج الفحص على محاذاة قراءات الأمبليكون ذات المحتوى المتغير المرتفع، ما يؤدي إلى الإبلاغ عن أن المنطقة من النمط ذي النوع البري. يتضمّن مثل هذا المحتوى المرتفع ما يلي:
 - قراءات تشتمل على أكثر من ثلاث من طفرات الإنديل
 - قراءات بطول 30 زوجًا قاعديًا على الأقل مع محتوى متغير النيوكليوتيد المفرد ($4\% > \text{SNV}$) من إجمالي طول الأمبليكون المستهدف (باستثناء مناطق المسبار)
 - قراءات بطول > 30 زوجًا قاعديًا مع محتوى متغير النيوكليوتيد المفرد $10\% > \text{SNV}$) من إجمالي طول الأمبليكون (بما في ذلك مناطق المسبار)
- 5. قد ترد المتغيرات كبيرة الحجم، التي تشمل متغيرات متعدد النيوكليوتيدات (MNVs) وطفرات الإنديل الكبيرة، كمتغيرات أصغر حجمًا منفصلة في ملف الإخراج بتنسيق VCF.
- 6. يُمكن تصفية متغيرات الحذف أو تقويتها عند شمول اثنين من جزيئات الأمبليكون المُتجانبة إذا كان طول الحذف أكبر من التداخل بين جزيئات الأمبليكون المُتجانبة أو يُساويها.
- 7. لا يتمكّن النظام من الكشف عن الإنديل إذا حدث بجوار أحد المُشروعات مباشرةً ولا توجد أي جزيئات أمبليكون مُتداخلة. بالنسبة للمناطق ذات جزيئات الأمبليكون المتداخلة، لا يمكن للفحص اكتشاف الحذوفات عندما تكون منطقة التداخل أقل من حجم الحذف الذي يجب الكشف عنه. فعلى سبيل المثال، إذا كانت منطقة التداخل بين اثنين من جزيئات الأمبليكون المتجاورة عبارة عن قاعدتين، فعندئذٍ يتعذر على الفحص الكشف عن أي حذوفات بما في ذلك هاتان القاعدتان. ويُمكن الكشف عن أحد حذوفات القواعد الفردية في أي من هاتين القاعدتين.
- 8. وكما هو الحال في أي سير عمل خاص بإعداد مكتبة تستند إلى التهجين، يمكن أن يؤثر كل من تعدد الأشكال الأساسي، أو الطفرات، أو الإدخالات أو الحذوفات في المناطق المرتبطة بقليل النيوكليوتيد، على الأليل الذي يُجرى فحصه بالمسبار والاستدعاءات التي تُجرى خلال عملية التسلسل. على سبيل المثال:
 - قد لا يتم تضخيم المتغير في مرحلة المطاوعة مع متغير في منطقة المُشروع الذي تنتج عنه نتيجة سلبية مزيفة.
 - قد تمنع المتغيرات في منطقة المُشروع من تضخيم الأليل المرجعي، ما ينتج عنه استدعاء غير صحيح لمتغير متمائل الزيجوت.
 - قد تتسبب متغيرات الإنديل في منطقة المُشروع في استدعاء إيجابي كاذب عند نهاية القراءة المجاورة للمُشروع.
- 9. يُمكن تصفية الإنديل نتيجة انحراف الشريط إذا حدث بالقرب من نهاية قراءة واحدة وتم قصه بشكل طفيف أثناء عملية المحاذاة.
- 10. لم يتم التحقق من متغيرات متعدد النيوكليوتيدات (MNVs) الصغيرة وترد في وحدة المتغير الجسدي فقط.
- 11. ترد الحذوفات في ملف بتنسيق VCF في إحداثيات القاعدة السابقة وفقًا لتنسيق VCF. ولذلك، ضع في اعتبارك المتغيرات المُجاورة قبل الإبلاغ بأن أحد الاستدعاءات الأساسية الفردية عبارة عن مرجع متمائل الزيجوت.
- 12. القيود الخاصة بالخط الجنسي:
 - يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx مُصممًا لتقديم نتائج كمية لاستدعاء متغير الخط الجنسي (على سبيل المثال، متمائل الزيجوت، ومتغير الزيجوت ونمط النوع البري)، وذلك باستخدام وحدة متغير الخط الجنسي لمدير التشغيل المحلي الخاصة بجهاز NextSeq 550Dx.
 - وعند الاستخدام مع وحدة متغير الخط الجنسي، يكون الحد الأدنى للتغطية لكل جزيء من جزيئات الأمبليكون اللازم لاستدعاء المتغير بصورة دقيقة هو 150 مرة. ونتيجة لذلك، يلزم وجود 150 جزءًا داعمًا من الحمض النووي، وهو ما يُكافئ 300 قراءة متداخلة مقترنة الطرفين. ويؤثر عدد العينات والعدد الإجمالي للقواعد المُستهدفة على التغطية. وقد يؤثر محتوى الجوانين والسيوزين GC والمحتوى الجينومي الأخر على التغطية.
 - يُمكن أن يؤثر تباين عدد النسخ على ما إذا تم تعريف أحد المتغيرات على أنه متمائل الزيجوت أم متغير الزيجوت.
 - تتم تصفية المتغيرات في سياق تكراري معين في ملفات بتنسيق VCF. يُستخدم مُرشح تكرار RMxN لتصفية المتغيرات إذا كان تسلسل المتغير بأكمله أو جزء منه موجودًا بشكل متكرر في الجينوم المرجعي المُجاور لموقع المتغير. ولاستدعاء متغير الخط الجنسي، يلزم وجود تسعة تكرارات على الأقل في المرجع حتى تتم تصفية المتغير. ويتم النظر في التكرارات التي يصل طولها حتى 5 أزواج قاعدية فقط ($R5 \times 9$).

• قد ينتج عن وجود إنديل ومتغير نيوكليوتيد مفرد (SNV) في موقع واحد الإبلاغ عن متغير واحد فقط.

13. القيود الجسدية المُحددة.

- يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx، مُصمّمًا لتقديم نتائج نوعية لاستدعاء المتغير الجسدي (على سبيل المثال، وجود متغير جسدي بنسبة تواتر متغيرة أكبر من 0.026 أو مساوية لها مع حدّ للكشف يبلغ 0.05)، وذلك باستخدام وحدة المتغير الجسدي لمدير التشغيل المحلي الخاصة بجهاز NextSeq 550Dx.
- وعند الاستخدام مع وحدة المتغير الجسدي، يكون الحدّ الأدنى للتغطية لكل أمبليكون لازم لاستدعاء المتغير بصورة دقيقة هو 450 مرة لكل تجمع من تجمعات قليل النيوكليوتيد. ونتيجة لذلك، يلزم وجود 450 جزءًا داعمًا من الحمض النووي لكل تجمع من تجمعات قليل النيوكليوتيد، وهو ما يُكافئ 900 قراءة متداخلة مقترنة الطرفين. ويؤثر عدد العينات والعدد الإجمالي للقواعد المُستهدفة على التغطية. وقد يؤثر محتوى الجوانين والسيتوزين GC والمحتوى الجينومي الآخر على التغطية.
- بالنسبة لاستدعاء المتغير الجسدي، يلزم وجود ستة تكرارات على الأقل في المرجع حتى تتم تصفية المتغير، ويتم النظر في التكرارات التي يصل طولها حتى 3 أزواج قاعدية فقط (R3x6).
- لا تستطيع وحدة المتغير الجسدي التمييز بين متغيرات الخط الجنسي والمتغيرات الجسدية. تُعدّ الوحدة مُصمّمة للكشف عن المتغيرات عبر مجموعة من تواترات المتغيرات، إلا إنه يتعدّد استخدام تواتر المتغير للتمييز بين المتغيرات الجسدية ومتغيرات الخط الجنسي.
- يؤثر النسيج العادي في العينة على اكتشاف المتغيرات. إذ يعتمد الحدّ المُبلغ عنه للاكتشاف على تواتر المتغير بالنسبة إلى إجمالي الحمض النووي المُستخلص من كل من أنسجة الورم والأنسجة العادية.

مكونات المنتج

يتكون Illumina NextSeq 550Dx مما يلي:

1. جهاز NextSeq 550Dx (كتالوج رقم 20005715)

2. المكونات البرمجية لجهاز NextSeq 550Dx، بما في ذلك ما يلي:

تطبيق البرنامج	الوظيفة	الوصف
برنامج تشغيل NextSeq 550Dx (NOS)	للتحكم في تشغيل الجهاز	يُدير تطبيق برنامج التشغيل NOS عملية تشغيل الجهاز أثناء إجراء التسلسل ويعمل على إنشاء الصور للاستخدام من خلال برنامج Real-Time Analysis (RTA).
برنامج Real-Time Analysis (RTA)	لإجراء التحليل الأولي	يُحوّل تطبيق برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA) الصور التي يُنشئها برنامج التشغيل NOS لكل شريحة في كل دورة من دورات عملية تشغيل التسلسل إلى ملفات استدعاء أساسي، والتي تُعدّ بمثابة إدخال لنماذج تحليل مدير التشغيل المحلي. ولا يحتوي تطبيق برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA) على واجهة مستخدم.
مدير التشغيل المحلي	واجهة تحديد النموذج	يُعدّ برنامج Local Run Manager (مدير التشغيل المحلي) أحد الحلول المُدمجة في الجهاز لإدارة المستخدم، وتحديد نموذج التحليل المناسب ومراقبة الحالة.

تطبيق البرنامج	الوظيفة	الوصف
وحدة المتغير الجسدي	إجراء التحليل الثانوي	يُعالج برنامج وحدة تحليل مدير التشغيل المحلي الاستدعاءات الأساسية من خلال التحليل الثانوي تتضمن تلك المعالجة عملية توزيع البيانات، وإنشاء ملفات FASTQ، والمحاذاة، واستدعاء المتغير وإعداد التقارير. يُنشئ تطبيق أداة استدعاء المتغير (Pisces) ملفات VCF التي تتضمن معلومات حول المتغيرات التي عُثِر عليها في مواقع مُحددة في أحد الجينومات المرجعية، كما يتضمن تكرار المتغير الذي تم قياسه.
وحدة متغير الخط الجنسي	إجراء التحليل الثانوي	يُعالج برنامج وحدة تحليل مدير التشغيل المحلي الاستدعاءات الأساسية من خلال التحليل الثانوي تتضمن تلك المعالجة عملية توزيع البيانات، وإنشاء ملفات FASTQ، والمحاذاة، واستدعاء المتغير وإعداد التقارير. يُنشئ تطبيق أداة استدعاء المتغير (Pisces) ملفات VCF التي تتضمن معلومات حول المتغيرات التي عُثِر عليها في مواقع مُحددة في أحد الجينومات المرجعية، كما يُعرّف كل متغير على أنه متغاير الزيجوت أو متماثل الزيجوت.

3. اختياري خلدن Illumina DRAGEN لجهاز NextSeq 550Dx (كتالوج رقم 20086130)، بما في ذلك المكون البرمجي التالي:

تطبيق البرنامج	الوظيفة	الوصف
Illumina Run Manager	واجهة لاختيار وحدة التطبيق	يتم تثبيت برنامج Illumina Run Manager على خادم DRAGEN الاختياري والموجود خارج الجهاز. يتيح برنامج Illumina Run Manager إدارة المستخدمين، واختيار وحدة التحليل، ومراقبة حالة عملية تشغيل التسلسل والتحليل.

يتوفر خادم Illumina DRAGEN Server الاختياري لجهاز NextSeq 550Dx في بلدان محددة. اتصل بممثل شركة Illumina للاستفسار عن التوافر الإقليمي.

ظروف التشغيل

لمزيد من المعلومات حول ظروف التشغيل، راجع قسم "الاعتبارات البيئية" في دليل إعداد الموقع لجهاز NextSeq 550Dx (مستند رقم 1000000009869).

العنصر	المواصفات
درجة الحرارة	احرص على أن تكون درجة حرارة المعمل من 19° مئوية إلى 25° مئوية (22° مئوية ± 3° مئوية). تُعدّ درجة الحرارة هذه هي درجة حرارة التشغيل للجهاز. واحرص على ألا تختلف درجة الحرارة المحيطة أكثر من 2° ± درجة مئوية أثناء الاستخدام.
الرطوبة	احرص على أن تكون الرطوبة النسبية غير المتكاثفة بين 20 و80%.

للاطلاع على أحدث إرشادات الأمان، والتنبيهات والمعلومات الخاصة بأنظمة Illumina، راجع قسم الأمان والشبكات.

المعدات والمواد

المعدات والمواد المطلوبة، التي تباع بصورة منفصلة

مجموعة كواشف (75 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 دورة)، كتالوج رقم 20028870
مجموعة كواشف (300 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 دورة)، كتالوج رقم 20028871

المعدات والمواد المطلوبة، غير متوفرة

المستهلكات التي يلزم على المستخدم توفيرها من أجل عمليات تشغيل التسلسل

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
مناديل كحولية، أيزوبروبيل بنسبة 70% أو إيثانول، بنسبة 70%	VWR، كتالوج رقم 95041-714 (أو ما يعادله) مورد المختبر العام	تنظيف خلايا التدفق والأغراض العامة
أنسجة معملية قليلة الوبر	VWR، كتالوج رقم 21905-026 (أو ما يعادله)	تنظيف خلايا التدفق والأغراض العامة

المستهلكات التي يوفرها المستخدم من أجل صيانة الجهاز

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
تركيز NaOCl 5%، (هيبوكلوريت الصوديوم)	Sigma-Aldrich، كتالوج رقم 239305 (أو ما يعادل درجة جودة المختبرات)	غسل الجهاز باستخدام غسيل ما بعد التشغيل اليدوي؛ المخفف إلى 0.12%
توين 20	Sigma-Aldrich، كتالوج رقم P7949	غسل الجهاز باستخدام خيارات الغسل اليدوي؛ المخفف إلى 0.05%
ماء، عالي الجودة وفقاً لمعايير المختبرات	مورد المختبر العام	غسل الجهاز (غسيل يدوي)
مرشح الهواء	Illumina، كتالوج رقم 20063988	تنظيف كمية الهواء التي يستوعبها الجهاز للتبريد

إرشادات استخدام الماء عالي الجودة وفقاً لمعايير المختبرات

استخدم دائماً الماء عالي الجودة وفقاً لمعايير المختبرات أو ماء منزوع الأيونات لتنفيذ إجراءات الجهاز. لا تستخدم ماء الصنبور أبداً. قم باستخدام الفئات التالية فقط من المياه أو ما يعادلها:

- الماء منزوع الأيونات
- Illumina PW1
- ماء 18 ميغا أوم (MΩ)
- مياه عالية النقاء (Milli-Q)
- مياه فائقة النقاء (Super-Q)
- مياه بدرجة بيولوجيا جزئية

التحذيرات والاحتياطات

تنبيه



يحظر القانون الفيدرالي الأمريكي بيع هذا الجهاز سواء بواسطة الطبيب أم ممارس آخر مُرخَّص له بموجب قانون الولاية التي يعمل بها أو بناء على طلب منه لاستخدام الجهاز أو بتوصية منه باستخدامه.

1. تحتوي بعض مكونات الكواشف التي تقدّمها Illumina للاستخدام مع جهاز NextSeq 550Dx على مواد كيميائية يُحتمل أن تكون خطيرة. قد تحدث الإصابة الشخصية عن طريق استنشاق تلك المواد، وابتلاعها، وملامستها للجلد والعين. ارتدِ معدات الحماية، بما في ذلك واقية العين، والقفازات، ومعطف المختبر المناسب لتجنب التعرض للمخاطر. تعامل مع الكواشف المستخدمة باعتبارها نفايات كيميائية وتخلص منها وفقاً للقوانين واللوائح الإقليمية، والوطنية، والمحلية المعمول بها. للحصول على معلومات إضافية ذات صلة بالبيئة والصحة والسلامة، راجع أوراق بيانات السلامة (SDS) على support.illumina.com/sds.html.
2. تعامل مع جميع عينات الدم كما لو كانت مُعدية لفيروس نقص المناعة البشرية (HIV)، وفيروس التهاب الكبد الوبائي من النوع (HBV) (B)، والعوامل الأخرى المسببة للأمراض التي تنتقل عبر الدم (وسائل الوقاية العالمية).
3. قد يؤدي عدم اتباع الإجراءات كما هو موضح إلى نتائج مشوية بالأخطاء أو انخفاض جودة العينة بدرجة كبيرة.
4. اتخذ الاحتياطات المعملية المعتادة. ولا تستخدم الفمّ لسحب المواد بطريقة الشفط. وتجنب تناول الطعام، أو المشروبات أو التدخين في مناطق العمل المُخصصة. وارتدِ القفازات والمعاطف المختبرية التي يُمكن التخلص منها عند التعامل مع العينات وكواشف المجموعة. واغسل يديك جيداً بعد التعامل مع العينات وكواشف المجموعة.
5. يلزم الحفاظ على الممارسات المختبرية السليمة والنظافة الصحية المختبرية الجيدة لمنع منتجات تفاعل سلسلة البوليميرات (PCR) من تلوّث الكواشف، والأجهزة وعينات الحمض النووي الجينومي. فقد يتسبب تلوّث تفاعل سلسلة البوليميرات (PCR) في ظهور نتائج غير دقيقة وغير موثوق بها.
6. لمنع التلوّث، تأكد من وجود معدات ومستهلكات مُخصصة في مناطق ما قبل التضخيم وما بعد التضخيم (مثل، الماصّات، وأطراف الماصّة، وموانع الحرارة، والخلاطات الدوامية وأجهزة الطرد المركزي).
7. يجب أن يتطابق مؤشر اقتران العينة تماماً مع تصميم تخطيط اللوحة المطبوع. يعمل مدير التشغيل المحلي على ملء مَشْرعات المؤشر المرتبطة بأسماء العينة تلقائياً، وذلك عند إدخالها في الوحدة. ونصح المستخدم بالتحقق من مَشْرعات المؤشر المرتبطة بالعينات قبل بدء عملية تشغيل التسلسل. وقد ينتج عن حالات عدم التطابق بين نتائج العينة ومُخطط اللوحة عدم القدرة على تحديد العينة الإيجابية والإبلاغ غير الصحيح عن النتائج.
8. يُوصى بشدة بتثبيت برنامج مضاد الفيروسات الذي يُوفره المستخدم لحماية جهاز الكمبيوتر ضد الفيروسات. واستشر دليل المستخدم للاطلاع على تعليمات التثبيت.

9. لا تشغّل NextSeq 550Dx مع إزالة أي لوحة من اللوحات. إذ قد يؤدي تشغيل الجهاز مع إزالة أيّ من الألواح إلى احتمال التعرض للجهد الخطي وفولتية التيار المباشر.
10. لا تلمس منصة خلية التدفق في حجرة خلية التدفق. إذ يعمل السخّان في هذه الحجرة بين 22 درجة مئوية و95 درجة مئوية وقد يؤدي إلى حدوث حروق.
11. يزن الجهاز 185 رطلاً تقريباً، وقد يسبب إصابة خطيرة إذا سقط أو أُسبِت مناولته.
12. تترك شركة Illumina الحاجة المستمرة لإدارة تهديدات الأمن السيبراني، وللحصول على أحدث الإرشادات والتنبيهات والمعلومات الأمنية لأنظمة Illumina، يرجى الرجوع إلى قسم الأمن والشبكات.

تعليمات الاستخدام

تتطلب التعليمات التالية لاستخدام جهاز NextSeq 550Dx استخدام الكواشف المتوفرة في مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High-Output (300 Reagent Kit v2.5 دورة) أو مجموعة كواشف (75 Reagent Kit v2.5 دورة) NextSeq 550Dx High-Output (دورة).

إنشاء عملية تشغيل

أنشئ عملية تشغيل تسلسل باستخدام مدير التشغيل المحلي أو Illumina Run Manager. تتوفر تعليمات استخدام مدير التشغيل المحلي أدناه وفي الدليل المرجعي لجهاز NextSeq 550Dx (مستند رقم 1000000009513). للحصول على تعليمات حول كيفية إنشاء عملية تشغيل باستخدام Illumina Run Manager، راجع دليل برنامج Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx (المستند رقم 200025239).

للحصول على تعليمات حول الاختيار بين مدير التشغيل المحلي أو Illumina Run Manager، راجع دليل برنامج Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx (المستند رقم 200025239). للحصول على تعليمات مفصلة حول تطبيقات معينة، راجع دليل الوحدة أو التطبيق الخاص بالفحص المحدد. تتعلق التعليمات التالية باستخدام وحدات مدير التشغيل المحلي لـ Germline و Somatic Variant.

تعيين المَعْلَمَات

1. سجّل الدخول إلى مدير التشغيل المحلي.
 2. حدد **Create Run** (إنشاء عملية تشغيل)، وحدد **Somatic Variant** أو **Germline Variant**.
 3. أدخل اسم عملية التشغيل التي تُحدد عملية التشغيل بدايةً من التسلسل حتى التحليل. استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو المسافات، أو الشرطات السفلية، أو الشرطات.
 4. [اختياري] أدخل وصفاً للتشغيل للمساعدة في تحديد هوية التشغيل. استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو المسافات، أو الشرطات السفلية، أو الشرطات.
 5. حدد عدد العينات ومجموعة المؤشرات من القائمة المنسدلة. راجع المعلومات التالية عند إجراء التحديد.
- تتضمن القائمة المنسدلة أعداد العينات مع مجموعة المؤشرات. على سبيل المثال، يشير الخيار Set 1-24 إلى 24 عينة سيتم اختبارها، مع استخدام مؤشرات من مجموعة المؤشرات 1.
 - تشير أرقام مجموعات المؤشر إلى مجموعات مختلفة من أزواج مؤشر i5 و i7. وتوفر كل من Set 1 (المجموعة 1) و Set 2 (المجموعة 2) تنوعاً في المؤشرات. يتم توفير مجموعتين من المؤشرات للمساعدة في منع استنفاد مجموعة واحدة.
 - اختر عدد العينات الأقرب لعدد العينات التي تختبرها. وإذا لم يكن العدد الدقيق للعينات موجوداً في القائمة، فحدد العدد الأقرب ولكن الأقل من عدد العينات التي تختبرها. على سبيل المثال، إذا كنت تريد اختبار 18 عينة، فحدد 16 عينة.
 - العينة المقترحة يتم تمييز آبار العينات ومجموعات المؤشرات التي تستوفي متطلبات تنوع المؤشرات باللون الأخضر.

استيراد ملفات البيان لعملية التشغيل

1. تأكد من أن ملفات البيان التي ترغب في استيرادها متاحة في أحد مواقع الشبكة التي يُمكن الوصول إليها أو على محرك USB.
2. حدد **Import Manifests** (استيراد ملفات البيان).
3. انتقل إلى ملف البيان، وحدد ملفات البيان التي تريد إضافتها.

ملاحظة لجعل ملفات البيان متاحة لجميع عمليات التشغيل التي تستخدم وحدة تحليل Germline Variant أو Somatic Variant، أضف ملفات البيان باستخدام ميزة Module Settings (إعدادات الوحدة). تتطلب هذه الميزة أذونات المسؤول على مستوى المستخدم. لمزيد من المعلومات، راجع الدليل المرجعي لجهاز NextSeq 550Dx (مستند رقم 1000000009513).

تحديد العينات لعملية التشغيل

- حدد العينات لعملية التشغيل باستخدام أحد الخيارات والتوجيهات التالية.
- إدخال العينات يدويًا - استخدم الجدول الفارغ الموجود على شاشة Create Run (إنشاء عملية التشغيل).
- استيراد العينات - انتقل إلى ملف خارجي بتنسيق (*.csv) مع قيم مفصولة بفاصلة. يتوفر قالب للتنزيل على شاشة Create Run (إنشاء عملية تشغيل).

إدخال العينات يدويًا

1. أدخل اسم العينة الفريد (وحدة تحليل المتغير الجسدي) أو مُعرّف العينة (وحدة تحليل متغير الخط الجسدي).
2. استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو الشرطات أو الشرط السفلية.
3. [اختياري] بالنسبة للعينات ذات عنصر التحكم الإيجابي أو السلبي، انقر بزر الماوس الأيمن على نوع التحكم وحدده. يقوم عنصر التحكم في مَجْمَع عينة واحد بملء المَجْمَع المقابل تلقائيًا في التجمّع الآخر باسم عنصر التحكم ذاته.
3. [اختياري] أدخل وصف العينة في حقل Sample Description (وصف العينة).
4. استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو الشرطات أو الشرط السفلية.
4. حدد محوّل المؤشر 1 من القائمة المنسدلة للمؤشر 1 (i7).
5. وعند استخدامك مجموعات العينة المقترحة، سيعمل البرنامج على التعبئة التلقائية لمحولات المؤشر i7 و i5 التي تُلبّي متطلبات التنوّع للمؤشر. وإذا لم يكن العدد الدقيق للعينات التي تختبرها مُدرجًا في القائمة، فتأكد من تحديد محولات المؤشر للمجموعات الإضافية.
5. حدد محوّل المؤشر 2 من القائمة المنسدلة للمؤشر 2 (i5).
6. حدد أحد ملفات البيان من القائمة المنسدلة لملفات البيان.
7. تتطلب العينات في التجمع أ وجود ملف بيان مختلف عن العينات الموجودة في التجمع ب.
7. اختر أحد الخيارات لعرض مخطط اللوحة، أو طباعته أو حفظه كمرجع لإعداد المكتبات:
- حدد رمز **Print** (طباعة) لعرض مخطط اللوحة. حدد **Print** (طباعة) لطباعة مخطط اللوحة.
- حدد **Export** (تصدير) لتصدير معلومات العينة إلى ملف خارجي.
8. حدد **Save Run** (حفظ عملية التشغيل).

استيراد العينات

1. حدد **Import Samples** (استيراد العينات) واستعرض للوصول إلى موقع ملف معلومات العينة. هناك نوعان من الملفات التي يمكنك استيرادها.

- حدد **Template** (قالب) من شاشة **Create Run** (إنشاء تشغيل) لإنشاء تخطيط لوحة جديد. ويحتوي ملف القالب على رؤوس الأعمدة الصحيحة للاستيراد. أدخل معلومات العينة في كل عمود للعينات الموجودة في التشغيل. احذف المعلومات التجريبية في الخلايا غير المستخدمة، ثم احفظ الملف.
- استخدم ملفًا لمعلومات العينة تم تصديره من وحدة **Germline Variant** أو **Somatic Variant** باستخدام ميزة **Export** (تصدير).
- 2. حدد رمز **Print** (طباعة) لعرض مخطط اللوحة.
- 3. حدد **Print** (طباعة) لطباعة مخطط اللوحة كمرجع لإعداد المكتبات.
- 4. حدد **Save Run** (حفظ عملية التشغيل).

إعداد خرطوشة الكاشف

تأكد من اتباع إرشادات خرطوشة الكاشف بعناية للحصول على تسلسل ناجح.

1. أخرج خرطوشة الكاشف من التخزين في درجة حرارة من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية.
2. اختر إحدى الطرق التالية لإذابة الكواشف. لا تغمر الخرطوشة. بعد إذابة الخرطوشة، جففها قبل المتابعة إلى الخطوة التالية.

درجة الحرارة	الوقت المتبقي للإذابة	حد الاستقرار
حمام مياه في درجة حرارة من 15 درجة مئوية إلى 30 درجة مئوية	60 دقيقة	لا يتجاوز 6 ساعات
من درجتين مئويتين إلى 8 درجات مئوية	7 ساعات	لا يتجاوز 5 أيام

ملاحظة إذا حدث زوبان لأكثر من خرطوشة واحدة في الحمام المائي نفسه، فاترك وقتًا إضافيًا للذوبان.

3. اقلب الخرطوشة خمس مرات لمزج المواد الكاشفة.
 4. افحص الجزء السفلي من الخرطوشة للتأكد من إذابة الكواشف وخلوها من الرواسب. تأكد من إذابة المواضع 29، و30، و31، و32، نظرًا لأنها الأكبر وتستغرق وقتًا أطول للذوبان.
 5. اضغط بلطف على الحافة لتقليل فقاعات الهواء.
- للحصول على أفضل النتائج، انتقل مباشرة إلى تحميل العينة وإعداد عملية التشغيل.

تحضير خلية التدفق

1. أزل علبه خلية التدفق الجديدة من التخزين في درجة حرارة من 2 إلى 8 درجات مئوية.
2. أخرج الحزمة الرقايقية من الصندوق واتركها جانبًا في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة.

تحضير المكتبات للتسلسل

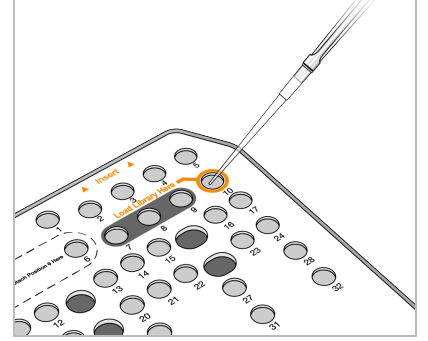
غير مكتباتك وخففها إلى حجم تحميل بمقدار 1.3 مل. من الناحية العملية، قد يختلف تركيز التحميل حسب تحضير المكتبة وطرق القياس الكمي. يعتمد تخفيف مكتبات العينات على مدى تعقيد التجمعات قليلة النوكليوتيد. للحصول على توجيهات حول كيفية إعداد مكتبات العينات للتسلسل، بما في ذلك التخفيف والتجميع بالمكتبة، راجع قسم إرشادات الاستخدام لمجموعة أدوات إعداد المكتبة المستخدمة. يلزم تحسين كثافة الكتلة على تطبيق NextSeq 550Dx.

تحميل المكتبات في خرطوشة الكاشف

1. نظف السداة الرقايقية التي تغطي الخزان رقم 10 المكتوب عليه **Load Library Here** (حمل المكتبة هنا) باستخدام منديل قليل الوبر.
2. اخترق السداة برأس ماصة ونظيفة 1 مل.

3. حمل 1.3 مل من المكتبات المعدة في الخزان رقم #10 المكتوب عليه **Load Library Here** (حمل المكتبة هنا). تجنب لمس السدادة الرقائعية أثناء توزيع المكتبات.

الشكل 1 تحميل المكتبات



إعداد عملية تشغيل التسلسل

راجع الدليل المرجعي لجهاز NextSeq 550Dx (مستند رقم 1000000009513) للحصول على إرشادات إعداد التشغيل الكاملة.

1. سجّل الدخول إلى NextSeq 550Dx باستخدام كلمة مرور برنامج مدير التشغيل المحلي الخاصة بك أو Illumina Run Manager.

2. من الشاشة الرئيسية لبرنامج NOS، حدد **Sequence** (تسلسل).

3. حدد إحدى عمليات التشغيل من القائمة ثم حدد **Next** (التالي).

تفتح سلسلة من شاشات إعداد عملية التشغيل بالترتيب التالي: تحميل خلية التدفق، وتحميل خرطوشة المخفف، وتحميل خرطوشة الكاشف، وفحص ما قبل التشغيل.

ملاحظة لا يمكن الوصول إلى عمليات التشغيل إلا باستخدام مدير عمليات التشغيل نفسه الذي تم استخدامه عند تخطيط عملية التشغيل. للحصول على تعليمات

حول كيفية تعيين برنامج مدير عمليات التشغيل (Run Manager Software)، راجع دليل برنامج Illumina Run Manager for

NextSeq 550Dx (المستند رقم 200025239).

4. عندما تظهر شاشة Load Flow Cell (تحميل خلية التدفق)، نظّف خلية التدفق ومن ثمّ قم بتحميلها.

- أزل خلية التدفق من حزمة الرقاقة.

- افتح الحزمة البلاستيكية الشفافة ذات الشكل الصدفي وأزل خلية التدفق

- نظّف السطح الزجاجي لجزء التدفق بقطعة قماش مبللة بالكحول وخالية من الوبير. ثم جفف الزجاج باستخدام منديل المختبر قليل الوبير

- تأكد من نظافة السطح الزجاجي لخلية التدفق. كرر خطوة التنظيف، إذا لزم الأمر.

- أزل خلية التدفق المستعملة في إحدى عمليات التشغيل السابقة.

- قم بمحاذاة خلية التدفق فوق دبابيس المحاذاة وضع خلية التدفق على منصتها.

5. حدد **Load** (تحميل).

يُغلق الباب تلقائيًا، ويظهر معرف خلية التدفق على الشاشة، ويُفحص أجهزة الاستشعار.

6. اتبع توجيهات البرنامج لتفريغ حاوية الكواشف المستعملة، وقم بتحميل خرطوشة التخزين المؤقت لجهاز NextSeq 550Dx وكذلك قم بتحميل خرطوشة

الكاشف لجهاز NextSeq 550Dx.

عند تحميل خرطوش التخزين المؤقت وخرطوش الكواشف لجهاز NextSeq 550Dx، يقرأ البرنامج رقاقت تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID)

ويُسجّلها. وتظهر مُعرّفات خرطوشة التخزين المؤقت وخرطوشة الكاشف على الشاشة كما يجري فحص أجهزة الاستشعار.

7. عند اكتمال الفحص التلقائي ما قبل التشغيل، حدد **Start** (البداية). (لا يلزم هذا إذا تمت التهيئة للبدء تلقائيًا).
8. تفتح شاشة Sequencing (التسلسل) عند بدء عملية التشغيل. تُوفر هذه الشاشة تمثيلًا بصريًا لعملية التشغيل قيد التقدم، بما في ذلك الكثافات ودرجات الجودة (Q-scores).

النتائج

يُعد Real-Time Analysis (RTA) عبارة عن برنامج متكامل يُجري تحليلًا للصورة والاستدعاء الأساسي ويُعيّن درجة الجودة لكل قاعدة، لكل دورة تسلسل. وعند الانتهاء من التحليل الأولي، تبدأ الوحدة المحددة للتطبيق بإجراء التحليل الثانوي تلقائيًا. تُعدّ عمليات التحليل الثانوي المُوضّحة هنا مُخصصة لوحدة مدير التشغيل المحلي متغيّر الخط الجنسي والمتغيّر الجسدي جهاز NextSeq 550Dx.

نظام موزّع البيانات

يُقارن موزّع البيانات كل تسلسل لقراءة المؤشر بتسلسلات المؤشر المحددة لعملية التشغيل. ولا يتم النظر في قيم الجودة في هذه الخطوة. تُحدّد قراءات المؤشر باستخدام الخطوات التالية:

- تُرقم العينات بدءًا من 1 حسب الترتيب المُدرّج بها لعملية التشغيل.
- يُعدّ رقم العينة 0 مخصصًا للعناقيد التي لم تُعيّن إلى إحدى العينات.
- تُعيّن العناقيد إلى إحدى العينات عندما يتطابق تسلسل المؤشر تمامًا أو عندما يكون هناك ما يصل إلى حالة عدم تطابق واحدة لكل قراءة مؤشر.

إنشاء ملف FASTQ

بعد توزيع البيانات، يُنشئ البرنامج ملفات التحليل الوسيطة بتنسيق FASTQ، وهو تنسيق نصي يُستخدم لتمثيل عمليات التسلسل. تتضمّن ملفات FASTQ قراءات لكل عينة ودرجات الجودة المرتبطة بها. وتُستثنى العناقيد التي لم تمر من الفلتر.

يحتوي كل ملف من ملفات FASTQ على قراءات لعينة واحدة فقط، ويُضمن اسم تلك العينة في اسم ملف FASTQ. في وحدتي Germline و Somatic Variant، يتم إنشاء ثمانية ملفات FASTQ لكل عينة لكل مجموعة oligo pool، بواقع أربعة ملفات من القراءة 1 (Read 1) وأربعة ملفات من القراءة 2 (Read 2). ينتج عن هذا المخرج إجمالي 8 و 16 ملف FASTQ لكل عينة لـ Germline و Somatic، على التوالي. تُعدّ ملفات FASTQ بمثابة الإدخال الأولي للمحاذاة.

المحاذاة

خلال خطوة المحاذاة، تعمل خوارزمية سميث ووترمان ذات التنسيق الخاص على محاذاة العناقيد من كل عينة مقابل تسلسلات الأمبليكون المُحددة في ملف البيان. تُجري خوارزمية سميث ووترمان ذات التنسيق الخاص عمليات محاذاة شبيهة عامة للتسلسل لتحديد المناطق المشابهة بين عمليتي تسلسل. وبدلاً من مقارنة التسلسل الإجمالي، تُقارن خوارزمية سميث ووترمان مقاطع من جميع الأطوال الممكنة.

يجري تقييم كل قراءة ذات نهاية مُقترنة فيما يتعلّق بالمحاذاة الخاصة بها مع تسلسلات المسبار ذات الصلة بهذه القراءة.

- يجري تقييم القراءة رقم 1 مقابل المتمم المعكوس الخاص بقليل النيوكليوتيد ذي الموقع الكروموسومي المحدد المتماشي مع الاتجاه (DLSO).
- يجري تقييم القراءة رقم 2 مقابل قليل النيوكليوتيد ذي الموقع الكروموسومي المحدد عكس الاتجاه (ULSO).
- إذا كانت بداية القراءة تُطابق تسلسل المسبار بما لا يتجاوز حالة عدم تطابق واحدة، فستتم محاذاة الطول الكامل للقراءة مقابل الأمبليكون المستهدف لهذا التسلسل.
- إذا كانت بداية القراءة تُطابق تسلسل المسبار بما لا يتجاوز ثلاثة اختلافات (حالات عدم التطابق أو التحولات نتيجة الإنديل الأساسي)، تتم محاذاة الطول الكامل للقراءة مقابل الأمبليكون المستهدف لهذا التسلسل.
- لا تتم ملاحظة الإنديل الموجود في نطاق DLSO و ULSO بسبب كيمياء الفحص.

تتم تصفية عمليات المحاذاة من نتائج المحاذاة حسب معدلات عدم التطابق على منطقة الاهتمام أو الأمبليكون بالكامل، وفقاً لطول الأمبليكون. وتُكتب عمليات المحاذاة التي تمت تصفيتها في ملفات المحاذاة بوصفها "غير محاذة" كما أنها ليست مستخدمة في استدعاء المتغير.

استدعاء المتغير

صُمم تطبيق أداة استدعاء المتغير Pisces لإجراء استدعاءات لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة ومتغيرات الإنديل من المكتبات المُعدة للجهاز.

التقارير وملفات الإخراج الإضافية

تُنتج وحدة تحليل المتغير تقارير بتنسيق PDF وتقارير بتنسيق محدد بعلامات جدولة (txt.*) تعرض المقاييس مثل عمق التسلسل وعدد المتغيرات. كما تُنتج الوحدات ملفات الإخراج مثل ملفات بتنسيق VCF وتنسيق استدعاء المتغير الجينومي (gVCF) لتطبيقات استدعاء المتغير.

إجراءات التحكم في الجودة

يُقيم برنامج NextSeq 550Dx جميع عمليات التشغيل، والعينات، وحالات الاستدعاء الأساسي مقابل مقاييس التحكم في الجودة. ويُوصى بعناصر التحكم الإيجابية والسلبية في إعداد المكتبة كما يلزم تقييمها. قم بتقييم عناصر التحكم كما يلي:

- **عناصر التحكم السلبية (عناصر التحكم دون قالب) أو عناصر التحكم السلبية الأخرى** - يجب أن تُنشئ النتيجة المتوقعة. إذا قامت عناصر التحكم السلبية بإنشاء نتيجة مختلفة عما هو متوقع، فإن ذلك يعني وقوع خطأ محتمل في تتبع العينة، أو التسجيل غير الصحيح لمُشرعات الفهرسة أو التلوث.
- **عينة عناصر التحكم الإيجابية** - يجب أن تُنشئ النتيجة المتوقعة. إذا قامت عناصر التحكم الإيجابية بإنشاء نتيجة مختلفة عما هو متوقع، فإن ذلك يعني وقوع خطأ محتمل في تتبع العينة، أو التسجيل غير الصحيح لمُشرعات الفهرسة.

خصائص الأداء

وُضعت خصائص الأداء لجهاز جهاز NextSeq 550Dx باستخدام وحدات متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي من مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx ومجموعة كواشف 300 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (دورة) وتم تأكيدها باستخدام مجموعة كواشف 300 NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (دورة). وتضمنت الدراسات فهرسة العينة، وترحيل العينة، ومدخلات الحمض النووي، والحساسية التحليلية (حدّ الفراغ/حدّ الكشف)، والدقة، والضبط، ومقارنة الطرق وقابلية الاستنساخ.

صُممت الدراسات التحليلية باستخدام مجموعة كواشف 300 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (دورة) لتقييم مطالبات الأداء التي نشأت سابقاً باستخدام مجموعة كواشف 300 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (دورة). كما تُوضّح النتائج أن لمجموعات الكواشف (إصدار 2 وإصدار 2.5) أداءً قابلاً للمقارنة باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. راجع النشرة الداخلية لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx للاطلاع على خصائص الأداء ذات الصلة بالعوامل قبل التحليلية مثل طرق الاستخلاص أو المواد المتداخلة.

التعريفات الخاصة بالحسابات المُستخدمة في خصائص الأداء

1. يتم حساب توافق النسبة الإيجابية (PPA) على أساس نسبة المواقع الكروموسومية المُصنّقة كمتغيرات من خلال إحدى الطرق المرجعية التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة.

- (عدد المواقع الكروموسومية للمتغير التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة) / (إجمالي عدد المواقع الكروموسومية للمتغير)
- يُطلق على المواقع الكروموسومية للمتغير التي يُبلغ عنها الفحص والمتوافقة مع الطريقة المرجعية اسم الإيجابيات الحقيقية (TPs). بينما يُطلق على المواقع الكروموسومية للمتغير التي يُبلغ عنها الفحص بوصفها استدعاءات مرجعية أو استدعاءات متغير مختلفة اسم السلبيات الكاذبة (FNs).

2. يتم حساب توافق النسبة السلبية (NPA) على أساس نسبة المواقع الكروموسومية المُصنَّفة كنوع بري من خلال إحدى الطرق المرجعية التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة.
 - (عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة) / (إجمالي عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري) يُطلق على المواقع الكروموسومية من النوع البري التي يُبلغ عنها الفحص والمتوافقة مع الطريقة المرجعية اسم السليبات الحقيقية (TNS). بينما يُطلق على المواقع الكروموسومية من النوع البري التي يُبلغ عنها الفحص كمتغيرات اسم الإيجابيات الكاذبة (FPS).
3. يتم حساب توافق النسبة الإجمالية (OPA) على أساس نسبة المواقع الكروموسومية التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة بالقياس إلى الطريقة المرجعية.
 - ((عدد المواقع الكروموسومية للمتغير التي أبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة) + (عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري التي أوردتها الفحص بصورة صحيحة)) / ((إجمالي عدد المواقع الكروموسومية للمتغير) + (إجمالي عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري))
4. لا تتضمن حسابات توافق النسبة الإيجابية (PPA)، وتوافق النسبة السلبية (NPA) وتوافق النسبة الإجمالية (OPA) حالات عدم الاستدعاء (المواقع الكروموسومية المرجعية أو الخاصة بالمتغير التي لا تلي واحدًا أو أكثر من مرشحات الجودة)
5. يتم حساب معدل الاستدعاء الكروموسومي الجسدي على أساس إجمالي عدد المواقع الكروموسومية التي تمر من الفلتر مقسومة على إجمالي عدد المواقع التي أُجري تسلسلها للكروموسومات من 1 إلى 22؛ وتُستثنى الكروموسومات X وY. لا ينظر هذا المقياس إلى توافق الاستدعاءات مع الطريقة المرجعية.

أداء مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة)

فهرسة العينة

تُعيّن مشرعات المؤشر الخاصة بالعينة، المُضافة أثناء إعداد المكتبة، تسلسلاً فريداً لكل حمض نووي خاص بالعينة. تسمح تلك التسلسلات الفريدة بجمع عينات عديدة معاً داخل عملية واحدة من عمليات تشغيل التسلسل. وتُستخدم فهرسة العينة لكل من عمليات سير الخط الجنسي والجسدي. وكان الغرض من هذه الدراسة إنشاء الحد الأدنى (8) والحد الأقصى (96) من عدد العينات التي يُمكن معالجتها في عملية تشغيل تسلسل واحدة باستخدام جهاز NextSeq 550Dx. وخضعت ثماني عينات فريدة من الجينوم البلاتيني للاختبار مع 12 مزيجاً مختلفاً من مشرّع الفهرسة لكل عينة. تمت مقارنة نتائج العينة من أربع عمليات من عمليات تشغيل التسلسل باستخدام وحدة متغير الخط الجنسي بالجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016.

وبالنسبة للمجموعة الأولى من عمليات التشغيل، فقد خضعت 96 مكتبة من مكتبات العينات الفريدة المفهرسة للاختبار باستخدام فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات التي تغطي 12,588 قاعدة لكل شريط عبر جميع الكروموسومات البشرية التي يبلغ عددها 23 للتحقق من قدرة الفحص على إجراء استدعاء النمط الجيني بصورة متنسقة لعينة محددة عبر مجموعات مشرّع الفهرسة المختلفة. وبالنسبة للمجموعة الثانية من عمليات التشغيل، تم تسلسل ثماني مكتبات عينات مفهرسة بشكل فريد في عمليتي تشغيل من عمليات تشغيل التسلسل للتحقق من الحد الأدنى لعدد المؤشرات المدعومة.

أما بالنسبة لعمليات التشغيل ذات المؤشر 96، كان توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة يتراوح من 98.7% إلى 100%، وكان توافق النسبة الإيجابية (PPA) للإدخالات والحدوفات يبلغ 100% بينما كان توافق النسبة السلبية (NPA) يبلغ 100% لكل مجموعة من المجموعات ذات المؤشر 96. وكانت قيم توافق النسبة الإيجابية (PPA) لدى عمليات التشغيل ذات الفهرس 8 تبلغ 100% (متغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحدوفات) وكان توافق النسبة السلبية (NPA) لكل مجموعة من المجموعات الثماني ذات الفهرس ثمانية يبلغ 100%.

ترحيل العينة

يسمح جهاز NextSeq 550Dx بإجراء التسلسل للعديد من العينات بالإضافة إلى عناصر التحكم في عملية تشغيل تسلسل واحدة. كما أُجريت دراسة لتقييم مدى ترحيل العينة داخل عملية تشغيل التسلسل (داخل عملية التشغيل) وبين عمليات تشغيل التسلسل (بين عملية تشغيل وأخرى). كما جرى اختبار اثنين من عينات الجينوم البلاتيني، إحداهما عينة ذكورية والأخرى عينة أنثوية، داخل الفحص التمثيلي المُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تغطي 12,588 قاعدة (150 أمبليكون) عبر 23 كروموسوماً مختلفاً، بما في ذلك كل من الستة كروموسومات الجنسية. كما أُجريت عملية التسلسل للمكتبات على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام وحدة متغير الخط الجنسي. ولوحظ ترحيل العينات الذكورية إلى العينات الأنثوية من خلال تواجد قراءات أمبليكون الكروموسوم Y في العينات الأنثوية.

قد تظهر عملية الترحيل داخل عملية التشغيل أثناء إنشاء العنقود، والاستدعاء الأساسي لدورة المؤشر وتوزيع البيانات الخاص بالعينة. وفيما يتعلق باختبار ترحيل العينة داخل عملية تشغيل التسلسل، أُجريت عملية التسلسل لمجموعة المكتبة التي تتكوّن من 46 نسخة، وكل منها تشمل عينات ذكورية وأنثوية بالإضافة إلى أربعة من عناصر التحكم دون قالب، مرة واحدة على جهاز NextSeq 550Dx. وأجري تقييم لترحيل العينة داخل عملية التشغيل من خلال مقارنة تغطية الأمبليكون الخاص بالكروموسوم Y لكل نسخة أنثوية بتغطية الأمبليكون المتوسطة للكروموسوم Y في جميع النسخ الذكورية في المجمع. وكانت القيمة المتوسطة للملاحظة للترحيل داخل عملية التشغيل هي 0.084%.

لإجراء الاختبار الخاص بترحيل العينة من عملية تشغيل إلى أخرى، تم تجهيز اثنين من مجمعات المكتبة وإجراء التسلسل لها على التوالي على أحد أجهزة NextSeq 550Dx. وقد تضمّن المجمع الأول 46 نسخة من العينة الأنثوية بالإضافة إلى اثنين من عناصر التحكم دون قالب. وتضمّن المجمع الثاني 46 نسخة من العينة الذكورية بالإضافة إلى اثنين من عناصر التحكم دون قالب. واستخدم كلا المجمعين المجموعة نفسها من محولات المؤشر. وأجري التسلسل للمجمع الأنثوي أولاً، متبوعاً بعملية تشغيل تسلسل لاحقة للمجمع الذكوري، ثم عملية تشغيل تسلسل أخرى متكررة للمجمع الأنثوي. كما أُجري التقييم لترحيل العينة من عملية تشغيل إلى أخرى من خلال مقارنة تغطية الأمبليكون للكروموسوم Y بين النسخ المقابلة لكل من عملية التشغيل المتكررة للمجمع الأنثوي وعملية تشغيل المجمع الذكوري. وكانت القيمة المتوسطة للملاحظة للترحيل من عملية تشغيل إلى أخرى هي 0.0076%.

إدخال الحمض النووي

عينة الدم (الخط الجنسي)

تم إنشاء نطاق إدخال الحمض النووي الخاص بعينة الدم لإعداد مكتبة مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx باستخدام سير عمل وحدة متغير الخط الجنسي لجهاز NextSeq 550Dx. كما خضع هذا النطاق للتقييم من خلال إجراء دراسة تخفيف تسلسلي باستخدام 13 عينة من الجينوم البلازمي إلى جانب فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تُغطي 12,588 قاعدة عبر 23 كروموسوماً مختلفاً. وأجري تسلسل المكتبة على اثنين من أجهزة NextSeq 550Dx باستخدام دفعة واحدة من مجموعة كواشف (300) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (دورة).

هذا وقد خضعت خمس عينات للاختبار بنسختين عند خمسة مستويات إدخال للحمض النووي تتراوح من 250 نانوجرام إلى 12 نانوجرام (250 نانوجرام، و100 نانوجرام، و50 نانوجرام، و25 نانوجرام و12 نانوجرام). كما خضعت ثماني عينات للاختبار بنسخة واحدة عند كل مستوى من مستويات إدخال الحمض النووي الخمسة. ومن أجل تحديد الدقة، خضعت الأنماط الجينية الخاصة بالعينة للمقارنة بالجينومات البلازمية من الإصدار 1.0-2016. تم تحديد النتائج لكل مستوى من مستويات الإدخال. ستجد توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل نوع متغير (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات) معروضاً في الجدول 1؛ وستجد توافق النسبة السلبية (NPA) معروضاً في الجدول 2. كما إن جميع مستويات الإدخال تتمتع بمستوى الدقة نفسه. يُعدّ إدخال الحمض النووي الموصى به لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx هو 50 نانوجرام إلى جانب 25 نانوجرام و100 نانوجرام ما يوفّر الحد الأدنى والأقصى لتلبية خصائص الأداء.

الجدول 1 نتائج توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي حسب نوع المتغير

إدخال الحمض النووي (نانوجرام)	نوع المتغير	المتغيرات المتوقعة	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (%)
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	الإدخالات	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	الحدوفات	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

الجدول 2 توافق النسبة السلبية (NPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي

إدخال الحمض النووي (نانوجرام)	السلبيات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	حالات عدم الاستدعاء المرجعية	توافق النسبة السلبية (%)
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

العينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE (الجسدية)

تم إنشاء نطاق إدخال الحمض النووي الخاص بالعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين (FFPE) لإعداد مكتبة مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx باستخدام سير عمل وحدة المتغير الجسدي لجهاز NextSeq 550Dx. كما خضع نطاق إدخال الحمض النووي للتقييم من خلال إجراء دراسة تخفيف تسلسلي باستخدام ثلاث عينات من الجينوم البلاتيني إلى جانب فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تُغطي 12,588 قاعدة عير 23 كروموسومًا مختلفًا. وقد تم تثبيت خطوط الخلية ذات الجينوم البلاتيني GM12877 و GM12878 بالفورمالين ودمجها في البارافين متبوعة باستخراج الحمض النووي. وتم تخفيف خط الخلية GM12878 باستخدام GM12877 بحيث أصبحت ترددات أليل المتغير (VAFs) لـ 79 متغيرًا (55 متغير نيوكليوتيد مفرد، و 9 إدخالات و 15 من الحدوفات) تقترب من 0.025، أو 0.05، أو 0.10. بالإضافة إلى ذلك، كان لكل عينة 91 متغيرًا مع تكرارات متغير أعلى تصل إلى تردد أليل متغير 1.0. كما تمت معالجة العينات من خلال نسختين عند مستويات إدخال الحمض النووي الخمسة مع متوسط الدورة الكمية لدلتا (dCq) يبلغ 2.1، و 3.6، و 4.6، و 6.0 و 7.8 وفق قياسات مجموعة TruSeq Custom Amplicon Dx - FFPE QC. وقد أُجري تسلسل كل مكتبة على اثنين من أجهزة NextSeq 550Dx باستخدام دفعتين من مجموعة كواشف (300 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 دورة). ومن أجل تحديد الدقة، خضعت استدعاءات المتغيرات الخاصة بالعينة للمقارنة بالجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016. ستجد توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل نوع متغير (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحدوفات) معروضًا في الجدول 3؛ وستجد توافق النسبة السلبية (NPA) معروضًا في الجدول 4. يُعد إدخال الحمض النووي الموصى به للمتغيرات عند تردد أليل المتغير (VAF) 0.05 أو أعلى هو متوسط الدورة الكمية لدلتا (4) ≤ dCq إلى جانب 4.6 ما يوقر حدًا أدنى لتلبية خصائص الأداء.

الجدول 3 نتائج توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي حسب نوع المتغير

تردد أليل المتغير للتخفيف المستهدف						حالات عدم الاستدعاء المتوقعة	المتغيرات المتوقعة	نوع المتغير	متوسط الدورة الكمية لدلتا (dCq)
0.10	0.05		0.025		حالات عدم الاستدعاء				
توافق النسبة الإيجابية (%)	حالات عدم الاستدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (%)	حالات عدم الاستدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (%)	حالات عدم الاستدعاء المتغير				
100	0	100	0	100	196	لا تنطبق.	808	SNV	2.1
100	0	100	4	99.3	250				3.6
100	5	99.2	51	94.6	251				4.6
100	100	91.4	213	65.3	257				6.0
100	100	90.7	185	69.3	254				7.8
100	8	100	8	96.5	66	8	264	الإدخال	2.1
100	8	100	8	97.0	62				3.6
100	8	100	21	96.3	48				4.6
95.8	24	98.2	47	80.4	40				6.0
100	31	96.2	56	87.0	57				7.8
100	16	100	16	100	58	16	304	الحذوفات	2.1
100	16	100	16	100	80				3.6
100	16	100	28	95.4	65				4.6
100	36	94.0	105	74.8	78				6.0
98.8	57	95.1	79	75.0	76				7.8

الجدول 4 توافق النسبة السلبية (NPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي

تردد أليل المتغير للتخفيف المستهدف						النوع البري المتوقع	متوسط الدورة الكمية لدلتا (dCq)
0.10	0.05		0.025		حالات عدم الاستدعاء المرجعية		
توافق النسبة السلبية (%)	حالات عدم الاستدعاء المرجعية	توافق النسبة السلبية (%)	حالات عدم الاستدعاء المرجعية	توافق النسبة السلبية (%)	حالات عدم الاستدعاء المرجعية		

100	324	100	260	100	344	93688	2.1
100	380	100	332	100	400		3.6
100	784	100	1336	100	1308		4.6
100	2996	99.9<	3296	99.9<	3900		6.0
99.9<	2448	99.9<	2880	99.9<	3020		7.8

الحساسية التحليلية (حد الفراغ [LoB] وحد الكشف [LoD])

أجريت هذه الدراسة لتقييم حد الفراغ (LoB) وحد الكشف (LoD) الخاص بوحدة المتغير الجسدي على جهاز NextSeq 550Dx. وقد أُجري ذلك باستخدام فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تُغطي 12,588 قاعدة عبر 23 كروموسومًا مختلفًا. وقد تم تثبيت خطوط الخلية ذات الجينوم البلاتيني GM12878 و GM12877 بالفورمالين ودمجها في البارافين متبوعة باستخراج الحمض النووي. تم تخفيف خط الخلية GM12878 باستخدام GM12877 بحيث أصبحت ترددات المتغير لـ 74 متغيرًا (53 متغير نيوكليوتيد مفرد، و 7 إدخالات و 14 من الحذوفات) 0.02 ± 0.05 . وخضعت كل من GM12878 و GM12877 المُخففتين (GM12878-D) للاختبار على مدار ستة أيام تشغيل متتالية باستخدام جهاز واحد، مع التبديل بين اثنين من دفعات مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High (300 Output Reagent Kit v2 دورة)، لإجمالي ست من عمليات تشغيل التسلسل. ونتج عن هذا الاختبار 60 مستنسخًا لكل متغير في GM12878-D و 72 مستنسخًا لكل نظير مقابل من النوع البري في GM12877، وذلك لكل دفعة من الكواشف. تم حساب حد الفراغ (LoB) وحد الكشف (LoD) باستخدام النهج الكلاسيكي الموضح في إرشادات EP17-A2 لمعهد المعايير السريرية والمخبرية (CLSI) باستخدام الخيار غير المعلمي. كما تم حساب حد الفراغ (LoB) وحد الكشف (LoD) لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات بصورة منفصلة من خلال تجميع تكرارات المتغير لنوع متغير مُحدد. تم تحديد الخطأ من النوع الأول كـ 0.01، وتم تحديد الخطأ من النوع الثاني كـ 0.05.

وبالنسبة لحد الفراغ (LoB)، تم فرز تكرارات المتغير المُجمعة من الأدنى إلى الأعلى، وتم حساب موقع المرتبة الـ 99 لكل دفعة كاشف لكل نوع متغير (الجدول 5). تستخدم وحدة المتغير الجسدي حدًا ثابتًا (حد الفراغ الفعّال) لتردد أليل المتغير (VAF) 0.026 لتحديد الكشف النوعي للمتغيرات. ساعد حد الفراغ (LoB) المحسوب في التحقق من أن هذا الحد الثابت نتج عنه خطأ من النوع الأول لما لا يزيد عن 0.01.

الجدول 5 حد الفراغ

نوع المتغير	إجمالي الملاحظات	دفعة كاشف حد الفراغ (1) (LoB) (%)	دفعة كاشف حد الفراغ (2) (LoB) (%)
SNV	3816	0.77	0.77
الإدخال	504	0.56	0.56
الحذوفات	1008	1.20	1.20

بالنسبة لحد الكشف (LoD)، تم حساب النسبة المئوية لتردد الطفرة الفردية لكل تشغيل كاشف لكل نوع متغير تقل عن الحد البالغ 0.026 (الجدول 6). نظرًا لأن النسب المئوية كانت أقل من الخطأ ذي النوع الثاني بنسبة 5% (0.05)، تم حساب متوسط تكرارات المتغير المدمجة بوصفه حد الكشف (الجدول 6). وتم اعتبار حد الكشف لكل نوع متغير هو القيمة الكبرى من بين القيمتين المحسوبتين لدفعتي الكواشف - بنسبة 4.97% لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة، و 5.12% للإدخالات و 5.26% للحذوفات.

الجدول 6 حد الكشف

دفعة كاشف	نوع المتغير	إجمالي الملاحظات	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF)	النسبة المئوية لقياسات تردد أليل المتغير (VAF)	حد كشف (%)
			< 2.6%	< 2.6%	

4.94	1.7	53	3180	SNV	1
5.08	1.4	6	420	الإدخال	
5.22	0.8	7	840	الحذوفات	
4.97	1.6	51	3180	SNV	2
5.12	1.2	5	420	الإدخال	
5.26	0.80	7	840	الحذوفات	

الدقة

Germline

أجريت الدراسة التالية لتقييم دقة استدعاء المتغير لوحدة متغير الخط الجنسي على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx (300 High Output Reagent Kit v2 دورة). وخضعت 13 عينة فريدة من الجينوم البلاتيني للاختبار باستخدام فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات التي تُعطي 12588 قاعدة (150 أمبايكون) عبر 23 كروموسومًا مختلفًا. أُجريت تسع عمليات تشغيل إجمالاً باستخدام ثلاث أجهزة تسلسل، وثلاثة من دفعات الكواشف وثلاثة مُشغلين على مدار خمسة أيام. تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات من خلال مقارنة النتائج بطريقة مرجعية مُركبة ذات سمات الواضحة للجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016. وتم تحديد المناطق الجينومية المؤكدة بناءً على هذه الطريقة المرجعية ما لم يُحدد خلاف ذلك.

الجدول 7 ملخص توافق الخط الجنسي

المعايير	إجمالي الملاحظات ¹	النتائج حسب الملاحظة ²	النتائج حسب عملية التشغيل ³
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة	819	98.7	<99.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لإدخالات	819	95.0	98.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لحذوفات	819	100	100
توافق النسبة السلبية (NPA)	819	100	100
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	819	<99.9	<99.9

¹ تم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل (91) x عدد عمليات التشغيل (9) = 819.

² أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عمليات التشغيل التي يبلغ عددها 9.

³ أقل قيمة عند تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصورة إجمالية.

يحتوي **الجدول 8** على بيانات الدراسة المُقدّمة مع توافق النسبة الإيجابية والسلبية على أساس العينة الواحدة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016 لحسابات توافق النسبة الإيجابية (PPA). وتُدمج أنواع المتغير الثلاثة (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات) ونظراً لأن الطريقة المرجعية لا تُقّم النتائج سوى لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة والإدخالات/الحذوفات، تخضع نتائج القاعدة التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة ببنية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19، وذلك لحسابات توافق النسبة السلبية (NPA).

الجدول 8 توافق الخط الجنسي لكل عينة

العينة	متوسط معدل الاستدعاء	المتغيرات المتوقعة ¹	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	السلبيات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
NA12877	99.9<	4788	4788	0	0	0	4788	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
NA12893	99.9<	7434	7371	1	62	750015	0	99.9<	100	99.9<

¹ إجمالي عدد المتغيرات في جميع نسخ العينة عبر 9 عمليات تشغيل.

يحتوي **الجدول 9** على بيانات الدراسة المُقدّمة على أساس كل عينة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة. تم تقييم الكشف لكل نوع متغير - متغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات - بشكل منفصل. وتُستثنى المواقع المرجعية.

الجدول 9 توافق الخط الجنسي لكل عينة حسب نوع المتغير

العينة	متغيرات النيوكليوتيدات المفردة			الإدخالات			الحذوفات		
	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة
NA12877	2331	2331	0	1323	1323	0	1134	1134	0
NA12878	5733	5733	0	1197	1260	1	1449	1512	0
NA12879	3591	3591	0	1260	1323	5	1134	1134	0
NA12880	4221	4221	0	1512	1512	0	1197	1260	0
NA12881	4914	4913	1	1449	1512	2	1449	1449	0
NA12882	3717	3717	0	1323	1386	3	1134	1197	0
NA12883	4284	4284	0	1449	1449	0	1323	1386	0

العينة	متغيرات النيوكليوتيدات المفردة			الإدخالات			الحذوفات		
	المتوقع	الإيجابية الحقيقية	السلبية الكاذبة	المتوقع	الإيجابية الحقيقية	السلبية الكاذبة	المتوقع	الإيجابية الحقيقية	السلبية الكاذبة
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

خضعت العينات للتحليل أيضاً لاستدعاء الإدخالات والحذوفات الصغيرة (الإنديل). يرد ملخص إجمالي في [الجدول 10](#). وكان هناك إجمالي 71 إنديلاً يتراوح حجمه من 1 إلى 24 زوجاً قاعدياً للإدخالات ومن 1 إلى 25 زوجاً قاعدياً للحذوفات.

الجدول 10 ملخص كشف إنديل الخط الجنسي

نوع المتغير	المتغيرات المتوقعة	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (PPA)
الإدخال	18522	18018	27	477	99.9
الحذوفات	17388	17073	0	315	100

كان الفحص التمثيلي يشمل 150 أمبليون ومُخصصًا لتغطية المحتوى الجينومي المتنوع. وكان محتوى GC الخاص بالأمبليون يتراوح من 0.19 إلى 0.87. وكان لدى الأمبليونات كذلك مجموعة من تكرارات النيوكليوتيد المفردة (مثل، A المتعدد و T المتعدد)، وثنائي النيوكليوتيد، وثلاثي النيوكليوتيد. تم تجميع البيانات على أساس كل أمبليون (الجدول 11) لتحديد تأثير المحتوى الجينومي على نسبة الاستدعاءات الصحيحة. تتكون نسبة الاستدعاءات الصحيحة من استدعاءات المتغير والاستدعاءات المرجعية كما أنها أقل من 100% في حال كانت هنا إما استدعاءات غير صحيحة أو حالات عدم الاستدعاء.

الجدول 11 الدقة على مستوى الأمبليون للخط الجنسي

الأمبليون	الكروموسومات	بداية الأمبليون	نهاية الأمبليون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأمبليون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
1	1	36450499	36450591	93	93	الإنديل	0.22	76167	0	0	100
2	1	109465122	109465200	79	79	A المتعدد (5)، و C المتعدد (5)، والإنديل	0.38	64701	0	0	100
3	1	218353867	218353957	91	91	الإنديل	0.4	74529	0	0	100
4	1	223906657	223906748	92	92	الإنديل	0.49	75348	0	0	100
5	1	228526602	228526682	81	81	G المتعدد (5)	0.69	66339	0	0	100
6	1	236372039	236372108	70	70	T المتعدد (10)، والإنديل	0.39	57330	0	0	100
7	1	247812041	247812128	88	88	A المتعدد (5)، و CT(3)، و TAA(3)، والإنديل	0.27	72072	0	0	100
8	2	55862774	55862863	90	90	الإنديل	0.28	73710	0	0	100
9	2	87003930	87004009	80	80	الإنديل	0.38	65520	0	0	100
10	2	177016721	177016805	85	81	غير متوفر	0.65	66339	0	0	100
11	2	186625727	186625801	75	75	A المتعدد (8)	0.35	61425	0	0	100
12	2	190323504	190323591	88	88	T المتعدد (5)	0.42	72072	0	0	100
13	2	200796740	200796826	87	87	T المتعدد (5)، والإنديل	0.31	71253	0	0	100
14	2	212245049	212245139	91	91	T المتعدد (5)، و A المتعدد (6)، والإنديل	0.3	74529	0	0	100
15	2	228147052	228147144	93	93	الإنديل	0.43	76167	0	0	100
16	2	235016350	235016422	73	73	T المتعدد (5)، والإنديل	0.42	59787	0	0	100
17	3	4466229	4466321	93	93	AT(3)، والإنديل	0.27	74823	0	1344	98.2
18	3	46620561	46620643	83	83	غير متوفر	0.43	67977	0	0	100
19	3	49851331	49851400	70	70	CT(3)، والإنديل	0.49	57330	0	0	100
20	3	189713161	189713248	88	88	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (9)، و TG(3)	0.41	72072	0	0	100
21	3	190106030	190106104	75	74	الإنديل	0.57	60543	0	63	99.9
22	4	2233667	2233744	78	78	A المتعدد (6)	0.26	63882	0	0	100

للاستخدام الشخصي في المختبر. للتصدير فقط.

الأميليكون	الكروموسومات	بداية الأميليكون	نهاية الأميليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأميليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة	الأميليكون
23	4	7780541	7780637	97	97	G المتعدد (6)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (5)	0.42	79443	0	0	100	
24	4	15688604	15688681	78	78	غير متوفر	0.29	63882	0	0	100	
25	4	56236521	56236586	66	62	A المتعدد (5)، والإنديل	0.36	50778	0	0	100	
26	4	102839244	102839314	71	69	A المتعدد (5)	0.46	56511	0	0	100	
27	4	164446743	164446804	62	62	A المتعدد (7)، والإنديل	0.27	50778	0	0	100	
28	5	1882081	1882158	78	75	غير متوفر	0.78	61425	0	0	100	
29	5	14769061	14769144	84	84	(GT(3، و(3CCA)	0.62	68796	0	0	100	
30	5	41069808	41069871	64	64	غير متوفر	0.39	52416	0	0	100	
31	5	74077114	74077196	83	83	A المتعدد (6)، والإنديل	0.3	67977	0	0	100	
32	5	147475343	147475409	67	67	T المتعدد (5)	0.37	54873	0	0	100	
33	5	149323731	149323821	91	91	(AG(3، و(4CT)	0.55	74529	0	0	100	
34	5	155662213	155662287	75	75	الإنديل	0.43	61425	0	0	100	
35	6	6318713	6318814	102	102	G المتعدد (6)	0.68	83538	0	0	100	
36	6	24949983	24950074	92	92	الإنديل	0.63	75348	0	0	100	
37	6	31084900	31084999	100	94	(GCT(5، والإنديل	0.61	76608	0	378	99.5	
38	6	32147987	32148084	98	98	T المتعدد(5)، و(3TCT)، و(3CTT)	0.55	80262	0	0	100	
39	6	32986864	32986958	95	95	الإنديل	0.53	77805	0	0	100	
40	6	33408498	33408583	86	86	C المتعدد (6)	0.7	70434	0	0	100	
41	6	41647401	41647495	95	94	G المتعدد (5)، والإنديل	0.61	76986	0	0	100	
42	6	112435865	112435955	91	91	A المتعدد (5)	0.44	74529	0	0	100	
43	7	22202076	22202148	73	73	غير متوفر	0.44	59787	0	0	100	
44	7	66276100	66276187	88	88	الإنديل	0.35	72072	0	0	100	
45	7	77365735	77365821	87	87	A المتعدد (7)، و(4AG)	0.26	71253	0	0	100	
46	7	110939946	110940030	85	85	الإنديل	0.38	69615	0	0	100	
47	7	128533468	128533557	90	90	G المتعدد (5)، والإنديل	0.62	73710	0	0	100	
48	7	149503875	149503965	91	91	G المتعدد (6)، و C المتعدد (6)، والإنديل	0.71	74529	0	0	100	
49	7	154404519	154404599	81	66	غير متوفر	0.31	54054	0	0	100	
50	7	156476507	156476599	93	93	الإنديل	0.35	76167	0	0	100	

للإستخدام الشخصي في المختبر. للتصدير فقط.

الأمبليكون	الكروموسومات	بداية الأمبليكون	نهاية الأمبليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأمبليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
51	8	1817312	1817394	83	83	غير متوفر	0.42	67977	0	0	100
52	8	24811020	24811109	90	89	G المتعدد (7)، و(4)CTC، والإنديل	0.61	72171	0	720	99.0
53	8	76518625	76518691	67	67	الإنديل	0.3	54873	0	0	100
54	9	103054909	103055006	98	98	G المتعدد (6)	0.67	80262	0	0	100
55	9	105586150	105586214	65	65	الإنديل	0.32	53235	0	0	100
56	9	107620823	107620918	96	96	غير متوفر	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	C المتعدد (6)، والإنديل	0.68	79443	0	0	100
59	10	5987120	5987198	79	78	G المتعدد (5)، والإنديل	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	T المتعدد (5)	0.3	64701	0	0	100
62	10	33018351	33018440	90	90	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)	0.2	73710	0	0	100
63	10	45084159	45084253	95	95	الإنديل	0.35	77805	0	0	100
64	10	55892599	55892687	89	88	(AC(11، والإنديل	0.42	71747	0	325	99.5
65	10	101611250	101611329	80	80	غير متوفر	0.49	65520	0	0	100
66	10	118351373	118351453	81	81	غير متوفر	0.51	66339	0	0	100
67	11	8159816	8159912	97	96	غير متوفر	0.45	78624	0	0	100
68	11	30177648	30177717	70	70	الإنديل	0.46	57330	0	0	100
69	11	47470345	47470444	100	100	غير متوفر	0.65	81900	0	0	100
70	11	59837679	59837740	62	62	الإنديل	0.37	50778	0	0	100
71	11	64418856	64418957	102	102	غير متوفر	0.59	83538	0	0	100
72	11	93529612	93529684	73	73	A المتعدد (5)	0.4	59787	0	0	100
73	11	101347052	101347136	85	85	غير متوفر	0.42	69615	0	0	100
74	11	102477336	102477426	91	91	G المتعدد (6)	0.55	74529	0	0	100
75	11	118406285	118406369	85	85	الإنديل	0.53	69615	0	0	100
76	11	120357801	120357885	85	85	A المتعدد (5)، و(3)CA، والإنديل	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	C المتعدد (5)، والإنديل	0.52	68796	0	0	100
79	12	26811004	26811096	93	93	A المتعدد (7)، و(4)AC	0.33	76167	0	0	100
80	12	30881766	30881846	81	81	غير متوفر	0.49	66339	0	0	100

للاستخدام التتبعي في المختبر. التصدير فقط.

الأميليكون	الكروموسومات	بداية الأميليكون	نهاية الأميليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق الموكدة	المحتوى الجينومي للأميليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
81	12	88474105	88474175	71	71	A المتعدد (6)	0.35	58149	0	0	100
82	12	120966872	120966966	95	95	G المتعدد (5)	0.68	77805	0	0	100
83	13	24167504	24167576	73	73	غير متوفر	0.52	59787	0	0	100
84	13	25816961	25817049	89	88	A المتعدد (5)، T المتعدد (7)، و A المتعدد (7)، والإنديل	0.22	72072	0	0	100
85	13	44880112	44880200	89	89	الإنديل	0.49	72891	0	0	100
86	13	77665218	77665294	77	77	الإنديل	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	غير متوفر	0.25	67977	0	0	100
89	14	46958962	46959034	73	72	T المتعدد (5)، والإنديل	0.19	58642	0	326	99.4
90	14	58050030	58050110	81	81	الإنديل	0.38	66339	0	0	100
91	14	82390559	82390649	91	91	الإنديل	0.35	74529	0	0	100
92	14	92549544	92549609	66	66	A المتعدد (5)	0.41	54054	0	0	100
93	14	102808496	102808589	94	94	الإنديل	0.62	76986	0	0	100
94	15	43170751	43170848	98	96	C المتعدد (5)	0.45	78624	0	0	100
95	15	63446149	63446216	68	68	الإنديل	0.25	55692	0	0	100
96	15	77879807	77879901	95	93	G المتعدد (5)، والإنديل	0.68	76167	0	0	100
97	15	81625334	81625428	95	95	T المتعدد (6)	0.43	77805	0	0	100
98	15	85438263	85438334	72	71	الإنديل	0.65	58149	0	0	100
99	15	89817413	89817503	91	91	غير متوفر	0.36	74529	0	0	100
100	15	89864274	89864343	70	70	الإنديل	0.56	57330	0	0	100
101	16	1894910	1894972	63	63	غير متوفر	0.27	51597	0	0	100
102	16	28997904	28997998	95	95	C المتعدد (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	C المتعدد (5)	0.67	85176	0	0	100
105	16	85706375	85706465	91	91	T المتعدد (5)، والإنديل	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	C المتعدد (5)، والإنديل	0.67	71247	0	6	100
108	17	3970090	3970180	91	91	الإنديل	0.46	74529	0	0	100

للاستخدام الشخصي في المختبر. للتصدير فقط.

الأميليكون	الكروموسومات	بداية الأميليكون	نهاية الأميليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق الموكدة	المحتوى الجينومي للأميليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة	الأميليكون
109	17	16084945	16085037	93	93	الإنديل	0.26	76167	0	0	100	109
110	17	33998759	33998849	91	89	T المتعدد (5)	0.54	72891	0	0	100	110
111	17	39589691	39589774	84	82	A المتعدد (13)، والإنديل (x2)	0.29	66343	27	788	98.8	111
112	17	41244394	41244484	91	91	A المتعدد (5)	0.34	74529	0	0	100	112
113	17	45438866	45438957	92	92	A المتعدد (7)، و(AT(3، و(AT(4، وAT، (4)، والإنديل	0.26	75348	0	0	100	113
114	17	61502432	61502510	79	79	الإنديل	0.41	64413	0	288	99.6	114
115	17	64023582	64023667	86	86	T المتعدد (7)	0.22	70434	0	0	100	115
116	17	72308237	72308320	84	84	(GAG(3	0.62	68796	0	0	100	116
117	18	2616456	2616522	67	67	(GA(3	0.31	54873	0	0	100	117
118	18	6980478	6980568	91	91	غير متوفر	0.37	74529	0	0	100	118
119	18	9888026	9888094	69	69	A المتعدد (6)، و(TG(3	0.43	56511	0	0	100	119
120	18	38836999	38837073	75	75	A المتعدد (5)، والإنديل	0.37	61425	0	0	100	120
121	18	47405382	47405462	81	81	(CTC(3، والإنديل	0.47	66339	0	0	100	121
122	18	54815665	54815749	85	85	(CT(3، والإنديل	0.45	69615	0	0	100	122
123	18	59773996	59774060	65	65	غير متوفر	0.48	53235	0	0	100	123
124	19	625143	625241	99	99	غير متوفر	0.59	81081	0	0	100	124
125	19	18121418	18121491	74	74	غير متوفر	0.68	60605	1	0	100	125
126	19	18186574	18186643	70	70	غير متوفر	0.64	57330	0	0	100	126
127	20	746056	746149	94	94	غير متوفر	0.61	76986	0	0	100	127
128	20	10633195	10633276	82	82	(AC(3	0.59	67158	0	0	100	128
129	20	17705633	17705708	76	76	(CT(3	0.58	62244	0	0	100	129
130	20	21766821	21766890	70	70	(GT(3)، و(TG(4، والإنديل	0.46	57330	0	0	100	130
131	20	25278421	25278521	101	101	الإنديل	0.63	82719	0	0	100	131
132	20	50897302	50897368	67	67	الإنديل	0.36	54873	0	0	100	132
133	20	62331904	62331994	91	88	G المتعدد (6)	0.73	72072	0	0	100	133
134	20	62690860	62690946	87	87	الإنديل	0.57	71253	0	0	100	134
135	21	30300823	30300888	66	66	الإنديل	0.35	54054	0	0	100	135
136	21	33694176	33694273	98	98	T المتعدد (6)، و(CA(3	0.54	80262	0	0	100	136

للإستخدام الشخصي في المختبر. للتصدير فقط.

الأميليكون	الكروموسومات	بداية الأميليكون	نهاية الأميليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأميليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
137	21	36710706	36710792	87	87	GT(3)، والإنديل	0.39	71253	0	0	100
138	21	46644924	46644992	69	69	A المتعدد(6)، وAG(3)، والإنديل	0.32	56439	0	72	99.9
139	21	46705575	46705664	90	90	T المتعدد(5)، وA المتعدد(6)	0.5	73710	0	0	100
140	22	25750774	25750873	100	100	الإنديل	0.63	81900	0	0	100
141	22	32439233	32439329	97	97	غير متوفر	0.68	79443	0	0	100
142	22	37409844	37409940	97	97	الإنديل	0.46	79443	0	0	100
143	22	37637596	37637694	99	99	غير متوفر	0.6	81081	0	0	100
144	22	47081347	47081438	92	92	الإنديل	0.66	75348	0	0	100
145	X	15870424	15870492	69	69	T المتعدد(5)	0.26	56511	0	0	100
146	X	135288543	135288611	69	69	C المتعدد(5)	0.62	56511	0	0	100
147	X	135290777	135290847	71	71	غير متوفر	0.52	58149	0	0	100
148	Y	2655397	2655461	65	0	غير متوفر	0.55	0	0	0	غير متوفر
149	Y	2655519	2655609	91	0	غير متوفر	0.48	0	0	0	غير متوفر
150	Y	2655609	2655679	71	0	A المتعدد(5)	0.37	0	0	0	غير متوفر

خضعت نتائج التسلسل للعينة NA12878 للمقارنة بالنمط الجيني المؤكد بدرجة كبيرة لـ NA12878، على النحو الذي حدده المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST) (الإصدار 2.19). وتم احتواء 92 أمبليون بالكامل، من أصل 150 أمليون، داخل المناطق الجينومية المؤكدة بدرجة كبيرة، وكان يوجد تداخل جزئي في 41 أمبليون، ولم يكن هناك أي تداخل في 17 أمبليون في تسلسل المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST). وأدت هذه النتيجة إلى ظهور 10,000 من الإحداثيات لكل نسخة خضعت للمقارنة. خضعت الاستدعاءات الأساسية التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة ببنية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19. تظهر نتائج الدقة في الجدول [الجدول 12](#).

الجدول 12 توافق الخط الجنسي لعينة NA12878 داخل قاعدة بيانات المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST)

العينة	عدد الأمبليون	متوسط معدل الاستدعاء	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	السلبيات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
NA12878	133	<99.9%	6552	1	610470	0	<99.9%	100	<99.9%

بناءً على البيانات التي قدمتها دراسة الخط الجنسي تلك ذات التسع عمليات تشغيل، يُمكن لجهاز NextSeq 550Dx إجراء التسلسل بصورة متسقة لما يلي:

- محتوى $GC \geq 19\%$ (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 19% مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.6%)
- محتوى $GC \leq 87\%$ (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 87% مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
- أطوال A المتعد ≥ 9 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار A المتعد لتسعة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
- أطوال T المتعد ≥ 10 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار T المتعد لعشرة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
- أطوال G المتعد ≥ 7 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها وتتضمن تكرار G المتعد لسبعة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 1.0%)
- أطوال C المتعد ≥ 6 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 2457 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار C المتعد لستة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
- أطوال تكرار ثنائي النيوكليوتيد ≥ 11 ضعفاً (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها، وتتضمن 11 ضعفاً من تكرارات ثنائي النيوكليوتيد التي تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.5%)
- أطوال تكرار ثلاثي النيوكليوتيد ≥ 5 أضعاف (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها، وتتضمن 5 أضعاف من تكرار ثلاثي النيوكليوتيد والذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.5%)
- أطوال الإدخالات ≥ 24 (بلغت القواعد التي تم استدعاؤها 66343 من إجمالي 66370 في 819 أمبليون أجري تسلسله ويتضمن إدخالاً لـ 24 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 1.2%؛ ولم تحدث أي استدعاءات غير صحيحة في المنطقة التي تتضمن إدخالاً لـ 24 نيوكليوتيد)
- أطوال حذفات ≥ 25 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 2457 أمبليون أجري التسلسل لها وتتضمن حذفات لـ 25 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)

المتغير الجسدي

استُخدمت الدراسة المُوضَّحة هنا لتقييم دقة استدعاء المتغير الخاصة بوحدة المتغير الجسدي على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة).

واستخدمت هذه الدراسة فحصاً تمثيلاً مُصمماً للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات التي تُغطي 12,588 قاعدة (150 أمبليون) عبر 23 كروموسوماً مختلفاً. تم استخلاص الحمض النووي للجينوم البلاتيني من الكتل المُعالجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE لإنشاء ست عينات فريدة للتقييم في الدراسة.

تم تخفيف الحمض النووي للعينات GM12877 بالحمض النووي للعينات GM12878 لإنشاء GM12877-D5 و GM12877-D7 كمجموعة من المتغيرات الفريدة متغايرة الزيجوت مع تكرارات المتغير بنسبة تقترب من 5% و 7%. كما تم تخفيف الحمض النووي للعينات GM12878 بصورة مماثلة بالحمض النووي للعينات GM12877 لإنشاء GM12878-D5 و GM12878-D7. خضعت جميع العينات للاختبار في ثلاث نسخ باستثناء العينات المخففة، والتي خضعت للاختبار في ست نسخ. أُجريت تسع عمليات تشغيل إجمالاً باستخدام ثلاث أجهزة تسلسل، وثلاثة من دفعات الكواشف وثلاثة مُشغليين على مدار خمسة أيام. تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات من خلال مقارنة النتائج بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة للجينومات البلاتينية من الإصدار 2016-1.0. وتم تحديد المناطق الجينومية المؤكدة بناءً على هذه الطريقة المرجعية ما لم يُحدد خلاف ذلك.

الجدول 13 ملخص التوافق الجسدي

المعايير	إجمالي الملاحظات ¹	النتائج حسب الملاحظة ²	النتائج حسب عملية التشغيل ³
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة	378	98.9	99.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للإدخالات	378	96.9	99.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لحذوفات	378	97.1	99.9
توافق النسبة السلبية (NPA)	378	<99.9	<99.9
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	378	<99.9	<99.9

¹ تم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل (42) x عدد عمليات التشغيل (9) = 378.

² أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عمليات التشغيل التي يبلغ عددها 9.

³ أقل قيمة عند تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصورة إجمالية.

يحتوي **الجدول 14** على بيانات الدراسة المُقَّمة مع توافق النسبة الإيجابية والسلبية على أساس العينة الواحدة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة لحسابات توافق النسبة الإيجابية (PPA). وتُدمج أنواع المتغير الثلاثة (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات) ونظراً لأن الطريقة المرجعية لا تُقِّم النتائج سوى لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة والإدخالات/الحذوفات، تخضع نتائج القاعدة التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة ببنية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19، وذلك لحسابات توافق النسبة السلبية (NPA).

الجدول 14 التوافق الجسدي لكل عينة

العينة	متوسط معدل الاستدعاء	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	السلبيات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (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

العينة	متوسط معدل الاستدعاء	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	السلبيات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
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

يحتوي الجدول 15 على بيانات الدراسة المُقَمَّمة على أساس كل عينة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة. تم تقييم الكشف لكل نوع متغير - متغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات - بشكل منفصل. وثُبتت المواقع المرجعية.

الجدول 15 التوافق الجسدي لكل عينة حسب نوع المتغير

العينة	متغيرات النيوكليوتيدات المفردة			الإدخالات		الحذوفات	
	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	الإيجابيات الحقيقية
GM12877	999	999	0	567	567	0	459
GM12878	2457	2457	0	513	540	0	594
GM12879	1539	1539	0	540	567	0	459
GM12884	1836	1836	0	648	675	0	540
GM12885	2025	2025	0	648	675	0	540
GM12888	1782	1782	0	621	621	0	486
GM12877-D5	5454	5392	0	1647	1782	0	1891
GM12877-D7	5454	5406	0	1728	1782	0	1898
GM12878-D5	5454	5192	28	1651	1782	9	1856
GM12878-D7	5454	5445	0	1719	1782	0	1944

خضعت العينات العشر للتحليل أيضاً لاستدعاء الإدخالات والحذوفات الصغيرة (الإنديل) (الجدول 16). وكان هناك إجمالي 71 إنديلاً يتراوح حجمه من 1 إلى 24 زوجاً قاعدياً للإدخالات ومن 1 إلى 25 زوجاً قاعدياً للحذوفات.

الجدول 16 ملخص كشف الإنديل الجسدي

نوع المتغير	المتغيرات المتوقعة	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (PPA)
الإدخال	10773	10282	9	482	99.2
الحدوفات	11502	10667	5	830	99.9<

صُمم 150 أمبليكون لتغطية المحتوى الجينومي المتنوع. وكان محتوى GC الخاص بالأمبليكون يتراوح من 0.19 إلى 0.87%. وكان لدى الأمبليكونات كذلك مجموعة من تكرارات النيوكليوتيد المفردة (على سبيل المثال، A المتعدد و T المتعدد)، وثلاثي النيوكليوتيد، وثلاثي النيوكليوتيد. تم تجميع البيانات على أساس كل أمبليكون (الجدول 17) لتحديد تأثير المحتوى الجينومي على نسبة الاستدعاءات الصحيحة. تتكون نسبة الاستدعاءات الصحيحة من استدعاءات المتغير والاستدعاءات المرجعية كما أنها أقل من 100% في حال كانت هنا إما استدعاءات غير صحيحة أو حالات عدم الاستدعاء.

الجدول 17 الدقة الجسدية على مستوى الأمبليكون

الأمبليكون	الكروموسومات	بداية الأمبليكون	نهاية الأمبليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المنطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأمبليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
1	1	36450499	36450591	93	93	الإنديل	0.22	35066	0	88	99.7
2	1	109465122	109465200	79	79	A المتعدد (5)، و C المتعدد (5)، والإنديل	0.38	29827	0	35	99.9
3	1	218353867	218353957	91	91	الإنديل	0.4	34202	0	283	99.2
4	1	223906657	223906748	92	92	الإنديل	0.49	34613	0	163	99.5
5	1	228526602	228526682	81	81	G المتعدد (5)	0.69	30571	0	47	99.8
6	1	236372039	236372108	70	70	T المتعدد (10)، والإنديل	0.39	26452	0	8	100.0
7	1	247812041	247812128	88	88	A المتعدد (5)، و CT(3)، و TAA(3)، والإنديل	0.27	33148	0	116	99.7
8	2	55862774	55862863	90	90	الإنديل	0.28	33928	0	92	99.7
9	2	87003930	87004009	80	80	الإنديل	0.38	30218	0	22	99.9
10	2	177016721	177016805	85	81	غير متوفر	0.65	30616	0	2	99.9<
11	2	186625727	186625801	75	75	A المتعدد (8)	0.35	28017	0	499	98.3
12	2	190323504	190323591	88	88	T المتعدد (5)	0.42	33207	0	57	99.8
13	2	200796740	200796826	87	87	T المتعدد (5)، والإنديل	0.31	32524	9	718	97.8
14	2	212245049	212245139	91	91	T المتعدد (5)، و A المتعدد (6)، والإنديل	0.3	33972	0	456	98.7
15	2	228147052	228147144	93	93	غير متوفر	0.43	35051	0	103	99.7
16	2	235016350	235016422	73	73	T المتعدد (5)، والإنديل	0.42	27459	0	136	99.5
17	3	4466229	4466321	93	93	AT(3)، والإنديل	0.27	34534	0	620	98.2
18	3	46620561	46620643	83	83	غير متوفر	0.43	31339	0	44	99.9
19	3	49851331	49851400	70	70	CT(3)، والإنديل	0.49	26373	0	87	99.7
20	3	189713161	189713248	88	88	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (9)، و TG(3)	0.41	32829	0	857	97.5
21	3	190106030	190106104	75	74	الإنديل	0.57	27925	0	47	99.8
22	4	2233667	2233744	78	78	A المتعدد (6)	0.26	29327	4	162	99.4
23	4	7780541	7780637	97	97	G المتعدد (6)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (5)	0.42	36585	0	117	99.7

للاستخدام الشخصي في المختبر. للتصدير فقط.

الامبليكون	الكروموسومات	بداية الامبليكون	نهاية الامبليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المنطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للامبليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
24	4	15688604	15688681	78	78	غير متوفر	0.29	29427	0	57	99.8
25	4	56236521	56236586	66	62	A المتعدد (5)، والاندیل	0.36	23356	5	75	99.7
26	4	102839244	102839314	71	69	A المتعدد (5)	0.46	25942	0	140	99.5
27	4	164446743	164446804	62	62	A المتعدد (7)، والاندیل	0.27	22944	0	560	97.6
28	5	1882081	1882158	78	75	غير متوفر	0.78	28299	0	53	99.8
29	5	14769061	14769144	84	84	(GT(3، و(3CCA	0.62	31658	0	94	99.7
30	5	41069808	41069871	64	64	غير متوفر	0.39	24120	0	72	99.7
31	5	74077114	74077196	83	83	A المتعدد (6)، والاندیل	0.3	31297	0	77	99.8
32	5	147475343	147475409	67	67	T المتعدد (5)	0.37	25277	0	55	99.8
33	5	149323731	149323821	91	91	(CT(4، و(3AG	0.55	34308	0	90	99.7
34	5	155662213	155662287	75	75	الاندیل	0.43	28266	0	163	99.4
35	6	6318713	6318814	102	102	G المتعدد (6)	0.68	38489	0	67	99.8
36	6	24949983	24950074	92	92	الاندیل	0.63	34730	0	46	99.9
37	6	31084900	31084999	100	94	(GCT(5، والاندیل	0.61	35057	0	483	98.6
38	6	32147987	32148084	98	98	T المتعدد (5)، و(3TCT، و(3CTT	0.55	36647	0	406	98.9
39	6	32986864	32986958	95	95	الاندیل	0.53	35681	0	238	99.3
40	6	33408498	33408583	86	86	C المتعدد (6)	0.7	32438	0	70	99.8
41	6	41647401	41647495	95	94	G المتعدد (5)، والاندیل	0.61	35441	0	91	99.7
42	6	112435865	112435955	91	91	A المتعدد (5)	0.44	34354	0	44	99.9
43	7	22202076	22202148	73	73	غير متوفر	0.44	27575	0	28	99.9
44	7	66276100	66276187	88	88	الاندیل	0.35	33060	0	213	99.4
45	7	77365735	77365821	87	87	A المتعدد (7)، و(4AG	0.26	32423	0	489	98.5
46	7	110939946	110940030	85	85	الاندیل	0.38	32074	0	56	99.8
47	7	128533468	128533557	90	90	G المتعدد (5)، والاندیل	0.62	33791	0	281	99.2
48	7	149503875	149503965	91	91	G المتعدد (6)، وC المتعدد (6)، والاندیل	0.71	34316	0	82	99.8
49	7	154404519	154404599	81	66	غير متوفر	0.31	24901	0	47	99.8
50	7	156476507	156476599	93	93	الاندیل	0.35	35067	0	87	99.8
51	8	1817312	1817394	83	83	غير متوفر	0.42	31365	0	9	99.9<
52	8	24811020	24811109	90	89	G المتعدد (7)، و(4CTC، والاندیل	0.61	32781	0	890	97.4
53	8	76518625	76518691	67	67	الاندیل	0.3	25228	0	146	99.4

للاستخدام الشخصي في المختبر. التصدير فقط.

الامبليكون	الكروموسومات	بداية الامبليكون	نهاية الامبليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المنطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للامبليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
54	9	103054909	103055006	98	98	G المتعدد (6)	0.67	36968	0	76	99.8
55	9	105586150	105586214	65	65	الإنديل	0.32	24472	0	100	99.6
56	9	107620823	107620918	96	96	غير متوفر	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	C المتعدد (6)، والإنديل	0.68	36472	0	201	99.5
59	10	5987120	5987198	79	78	G المتعدد (5)، والإنديل	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	T المتعدد (5)	0.3	29843	0	19	99.9
62	10	33018351	33018440	90	90	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)	0.2	33968	0	68	99.8
63	10	45084159	45084253	95	95	الإنديل	0.35	35829	0	81	99.8
64	10	55892599	55892687	89	88	(AC(11، والإنديل	0.42	32098	88	2048	93.8
65	10	101611250	101611329	80	80	غير متوفر	0.49	30217	0	28	99.9
66	10	118351373	118351453	81	81	غير متوفر	0.51	30531	0	96	99.7
67	11	8159816	8159912	97	96	غير متوفر	0.45	36105	0	192	99.5
68	11	30177648	30177717	70	70	الإنديل	0.46	26318	0	153	99.4
69	11	47470345	47470444	100	100	غير متوفر	0.65	37785	0	24	99.9
70	11	59837679	59837740	62	62	الإنديل	0.37	23368	0	68	99.7
71	11	64418856	64418957	102	102	غير متوفر	0.59	38546	0	10	99.9<
72	11	93529612	93529684	73	73	A المتعدد (5)	0.4	27516	0	78	99.7
73	11	101347052	101347136	85	85	غير متوفر	0.42	32083	0	48	99.9
74	11	102477336	102477426	91	91	G المتعدد (6)	0.55	34047	0	369	98.9
75	11	118406285	118406369	85	85	الإنديل	0.53	32065	0	74	99.8
76	11	120357801	120357885	85	85	A المتعدد (5)، و CA(3، والإنديل	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	C المتعدد (5)، والإنديل	0.52	31645	16	525	98.3
79	12	26811004	26811096	93	93	A المتعدد (7)، و AC(4	0.33	34824	0	330	99.1
80	12	30881766	30881846	81	81	غير متوفر	0.49	30497	0	121	99.6
81	12	88474105	88474175	71	71	A المتعدد (6)	0.35	26773	0	65	99.8
82	12	120966872	120966966	95	95	G المتعدد (5)	0.68	35830	9	72	99.8
83	13	24167504	24167576	73	73	غير متوفر	0.52	27498	0	114	99.6

للاستخدام الشخصي في المختبر. التصدير فقط.

الامبليكون	الكروموسومات	بداية الامبليكون	نهاية الامبليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للامبليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
84	13	25816961	25817049	89	88	A المتعدد (5)، و T المتعدد (7)، و A المتعدد (7)، والإنديل	0.22	32824	0	566	98.3
85	13	44880112	44880200	89	89	الإنديل	0.49	33574	0	77	99.8
86	13	77665218	77665294	77	77	الإنديل	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	غير متوفر	0.25	31360	0	22	99.9
89	14	46958962	46959034	73	72	T المتعدد (5)، والإنديل	0.19	26499	0	717	97.4
90	14	58050030	58050110	81	81	الإنديل	0.38	30494	0	133	99.6
91	14	82390559	82390649	91	91	الإنديل	0.35	34313	0	86	99.7
92	14	92549544	92549609	66	66	A المتعدد (5)	0.41	24555	0	1527	94.1
93	14	102808496	102808589	94	94	الإنديل	0.62	35472	0	69	99.8
94	15	43170751	43170848	98	96	C المتعدد (5)	0.45	36264	0	24	99.9
95	15	63446149	63446216	68	68	الإنديل	0.25	25667	0	37	99.9
96	15	77879807	77879901	95	93	G المتعدد (5)، والإنديل	0.68	34745	0	432	98.8
97	15	81625334	81625428	95	95	T المتعدد (6)	0.43	35870	0	40	99.9
98	15	85438263	85438334	72	71	الإنديل	0.65	26762	0	76	99.7
99	15	89817413	89817503	91	91	غير متوفر	0.36	34286	0	112	99.7
100	15	89864274	89864343	70	70	الإنديل	0.56	26449	0	11	99.9<
101	16	1894910	1894972	63	63	غير متوفر	0.27	23809	0	5	99.9<
102	16	28997904	28997998	95	95	C المتعدد (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	C المتعدد (5)	0.67	39177	0	144	99.6
105	16	85706375	85706465	91	91	T المتعدد (5)، والإنديل	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	C المتعدد (5)، والإنديل	0.67	32752	0	134	99.6
108	17	3970090	3970180	91	91	الإنديل	0.46	34343	0	82	99.8
109	17	16084945	16085037	93	93	الإنديل	0.26	35077	0	78	99.8
110	17	33998759	33998849	91	89	T المتعدد (5)	0.54	33553	0	89	99.7
111	17	39589691	39589774	84	82	A المتعدد (13)، والإنديل (x2)	0.29	30554	53	2296	92.9

للإستخدام التتبعي في المختبر للتصدير فقط.

الأميليكون	الكروموسومات	بداية الأميليكون	نهاية الأميليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المنطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأميليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
112	17	41244394	41244484	91	91	A المتعدد (5)	0.34	34360	0	38	99.9
113	17	45438866	45438957	92	92	A المتعدد (7)، (AT(3، (AT(4، و(AT(4، والإنديل	0.26	34367	0	418	98.8
114	17	61502432	61502510	79	79	الإنديل	0.41	29751	0	119	99.6
115	17	64023582	64023667	86	86	T المتعدد (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	غير متوفر	0.37	34386	0	12	99.9<
119	18	9888026	9888094	69	69	A المتعدد (6)، (TG(3، والإنديل	0.43	25692	0	399	98.5
120	18	38836999	38837073	75	75	A المتعدد (5)، والإنديل	0.37	27923	0	893	96.9
121	18	47405382	47405462	81	81	(CTC(3، والإنديل	0.47	30598	0	20	99.9
122	18	54815665	54815749	85	85	(CT(3، والإنديل	0.45	31969	0	161	99.5
123	18	59773996	59774060	65	65	غير متوفر	0.48	24531	0	48	99.8
124	19	625143	625241	99	99	غير متوفر	0.59	37298	0	124	99.7
125	19	18121418	18121491	74	74	غير متوفر	0.68	27881	0	109	99.6
126	19	18186574	18186643	70	70	غير متوفر	0.64	26442	0	26	99.9
127	20	746056	746149	94	94	غير متوفر	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، والإنديل	0.46	26372	0	88	99.7
131	20	25278421	25278521	101	101	الإنديل	0.63	38159	0	20	99.9
132	20	50897302	50897368	67	67	الإنديل	0.36	25188	0	544	97.9
133	20	62331904	62331994	91	91	G المتعدد (6)	0.73	32969	0	309	99.1
134	20	62690860	62690946	87	87	الإنديل	0.57	32818	0	77	99.8
135	21	30300823	30300888	66	66	الإنديل	0.35	24758	9	181	99.2
136	21	33694176	33694273	98	98	T المتعدد (6)، (CA(3، والإنديل	0.54	36902	0	160	99.6
137	21	36710706	36710792	87	87	(GT(3، والإنديل	0.39	32841	0	48	99.9
138	21	46644924	46644992	69	69	A المتعدد (6)، (AG(3، والإنديل	0.32	25939	0	280	98.9
139	21	46705575	46705664	90	90	T المتعدد (5)، وA المتعدد (6)	0.5	33942	0	78	99.8

للإستخدام الشخصي في المختبر. للتصدير فقط.

الأمليكون	الكروموسومات	بداية الأمليكون	نهاية الأمليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأمليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
140	22	25750774	25750873	100	100	الإنديل	0.63	37733	0	86	99.8
141	22	32439233	32439329	97	97	غير متوفر	0.68	36617	0	49	99.9
142	22	37409844	37409940	97	97	الإنديل	0.46	36525	0	162	99.6
143	22	37637596	37637694	99	99	غير متوفر	0.6	37398	0	24	99.9
144	22	47081347	47081438	92	92	الإنديل	0.66	34754	0	22	99.9
145	X	15870424	15870492	69	69	T المتعدد (5)	0.26	26046	0	36	99.9
146	X	135288543	135288611	69	69	C المتعدد (5)	0.62	26019	0	63	99.8
147	X	135290777	135290847	71	71	غير متوفر	0.52	26780	0	58	99.8
148	Y	2655397	2655461	65	0	غير متوفر	0.55	0	0	0	غير متوفر
149	Y	2655519	2655609	91	0	غير متوفر	0.48	0	0	0	غير متوفر
150	Y	2655609	2655679	71	0	A المتعدد (5)	0.37	0	0	0	غير متوفر

خضعت نتائج التسلسل لعينة GM12878 للمقارنة بالتمط الجيني المؤكد بدرجة كبيرة لـ NA12878، على النحو الذي حدده المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST) (إصدار 2.19). وتم احتواء 92 أمبليون بالكامل، من أصل 150 أمبليون، داخل المناطق الجينومية المؤكدة بدرجة كبيرة، وكان يوجد تداخل جزئي في 41 أمبليون، ولم يكن هناك أي تداخل في 17 أمبليون في تسلسل المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST). وأدت هذه النتيجة إلى ظهور 10,000 من الإحداثيات لكل نسخة خضعت للمقارنة. خضعت الاستدعاءات الأساسية التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة ببنية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19. تظهر نتائج الدقة في الجدول الجدول 18.

الجدول 18 التوافق الجسدي لعينة GM12878 داخل قاعدة بيانات المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST)

العينة	عدد الأمبيليون	متوسط معدل الاستدعاء	الإيجابيات الحقيقية	السلبات الكاذبة	السلبات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
GM12878	133	98.8	2808	0	258488	0	100	100	100

بناءً على البيانات التي قدمتها دراسة الخلايا الجسدية تلك ذات التسع عمليات تشغيل، يُمكن لـ جهاز NextSeq 550Dx إجراء التسلسل بصورة متسقة لما يلي:

- محتوى $GC \geq 19\%$ (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أُجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 19% مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 2.6%)
- محتوى $GC \leq 87\%$ (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أُجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 87% مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.6%)
- أطوال A المتعد ≥ 9 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أُجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار A المتعدد لتسعة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 2.5%)
- أطوال T المتعد ≥ 10 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أُجري التسلسل لها والتي تتضمن تكرار T المتعدد لعشرة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة أقل من 0.1%)
- أطوال G المتعد ≥ 6 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 2268 أمبليون أُجري التسلسل لها وتتضمن تكرار G المتعد لسنة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.5%)
- أطوال C المتعد ≥ 6 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 756 أمبليون أُجري التسلسل لها وتتضمن تكرار C المتعد لسنة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.4%)
- أطوال تكرار ثنائي النيوكليوتيد ≥ 4 أضعاف (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 1890 أمبليون أُجري التسلسل لها، وتتضمن 4 أضعاف من تكرارات ثنائي النيوكليوتيد التي تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.9%)
- أطوال تكرار ثلاثي النيوكليوتيد ≥ 5 أضعاف (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أُجري التسلسل لها، وتتضمن 5 أضعاف من تكرار ثلاثي النيوكليوتيد والذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 1.4%)
- أطوال الإدخالات ≥ 23 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أُجري التسلسل لها ويتضمن إدخالاً لـ 23 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.8%)
- أطوال حذفات ≥ 25 (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 1134 أمبليون أُجري التسلسل لها وتتضمن حذفات لـ 25 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.7%)

الضبط

تم تحديد ضبط جهاز NextSeq 550Dx من خلال اختبار 13 عينة فريدة من الجينوم البلاتيني باستخدام ثلاثة أجهزة، وثلاث دفعات للكواشف وثلاثة مشغلين لإنشاء تسع عمليات من عمليات تشغيل التسلسل على مدار خمسة أيام تشغيل. يُعدّ الفحص التمثيلي، والعينات والطريقة المرجعية هي ذاتها كما هو موضح في دراسة دقة الخط الجنسي. كما تم تحديد إسهامات الضبط من خلال تحليل مكون التباين باستخدام تردد أليل المتغير VAF كمتغير الاستجابة وحساب الانحرافات القياسية عند مستوى المكون للجهاز، ودفعة الكاشف ويوم التشغيل (الجدول 19). وكان العدد الإجمالي للملاحظات المستخدمة في تحليل كل مكون في الجهاز، أو المشغل أو متغير دفعة الكاشف هو 699، و176 و235 لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات على التوالي.

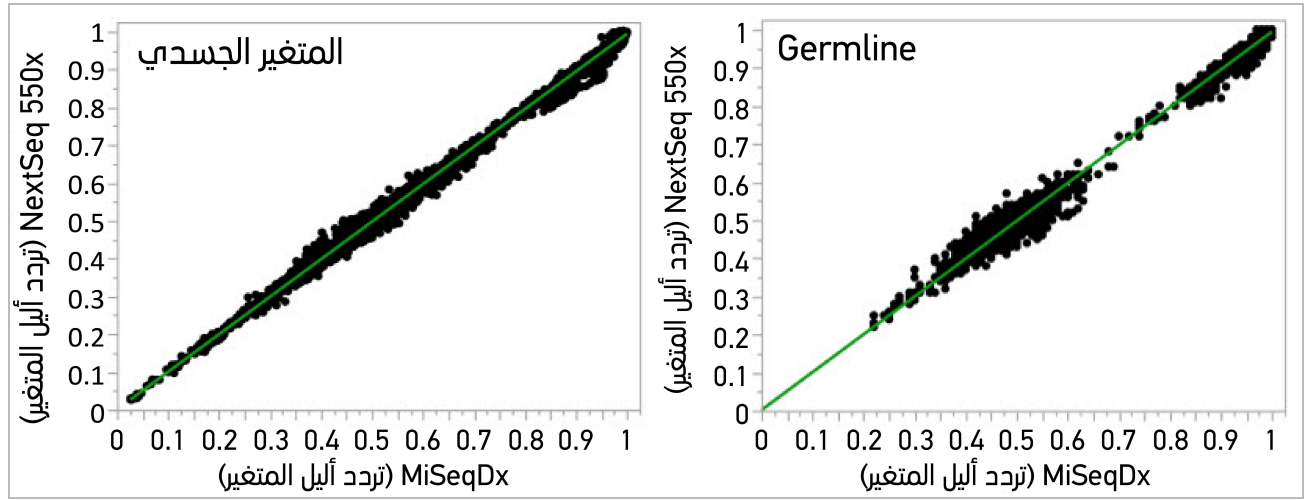
الجدول 19 نتائج الضبط لجهاز NextSeq 550Dx (الانحراف القياسي)

المكون	نوع المتغير	الانحراف القياسي للمكون		إجمالي الانحراف القياسي	
		القيمة القصوى	القيمة المتوسطة	القيمة القصوى	القيمة المتوسطة
الدفعة	SNV	0.0076	0.0002	0.0833	0.0154
	الإدخال	0.0104	0.0000	0.0410	0.0157
	الحذوفات	0.0046	0.0005	0.0560	0.0187
الجهاز	SNV	0.0114	0.0003	0.0840	0.0153
	الإدخال	0.0138	0.0009	0.0407	0.0161
	الحذوفات	0.0079	0.0008	0.0549	0.0187
المشغل	SNV	0.0226	0.0008	0.0841	0.0155
	الإدخال	0.0344	0.0010	0.0417	0.0164
	الحذوفات	0.0083	0.0013	0.0547	0.0187
اليوم	SNV	0.0277	0.0012	0.0825	0.0160
	الإدخال	0.0235	0.0012	0.0409	0.0169
	الحذوفات	0.0271	0.0014	0.0548	0.0188

مقارنة الطريقة (منصة التسلسل)

تم تقييم عينات الدم الكامل والعينات المدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE على جهاز NextSeq 550Dx وجهاز MiSeqDx باستخدام عمليات سير عمل الخط الجنسي والجسدي لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. تم تقييم اتفاق تردد المتغير لعينات الدم والعينات المدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE باستخدام فحوصات تمثيلية متعددة. يوضح الشكل 2 ارتباط VAF بين الجهازين لفحص تمثيلي واحد، ويلخص الجدول 20 هذا الارتباط حسب لوحة الفحص. واستنادًا إلى العلاقة القوية بين جهاز MiSeqDx وجهاز NextSeq 550Dx، تم تحديد خصائص الأداء ذات الصلة بالعوامل ما قبل التحليلية (على سبيل المثال طرق الاستخلاص أو المواد المتداخلة) ليتم تطبيقها على كلا الجهازين. راجع النشرة الداخلية لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx للاطلاع على المزيد من التفاصيل.

الشكل 2 علاقة تردد أليل المتغير (VAF) بين جهازي MiSeqDx وNextSeq 550Dx فيما يتعلق بالعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE (على اليسار) وعينات الدم (على اليمين) باستخدام الفحص الأول



الجدول 20 نتائج مقارنة الطرق باستخدام عينات الدم والعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE الفريدة

العلاقة (R ²)	التقاطع	الانحدار	الملاحظات (عدد المتغيرات)	النسخ الفنية (لكل عينة)	النسخ البيولوجية (العينات)	الفحص (لوحة قليل النيوكليوتيد)	مصدر الحمض النووي الجيني
0.995 ²	0.002	0.992	8369 ¹	2	45	الفحص الأول	الدم
0.981	0.005	0.995	5457	2	45	الفحص الثاني	الدم
0.997 ²	0.000	0.993	8319	2	46	الفحص الأول	FFPE
0.978	0.015	0.969	280	1	40	الفحص الثالث	FFPE

¹تمت إزالة نقطتي قياس بناءً على القيد المُحدد لوحدة متغير الخط الجنسي.
²معامل تحديد مخططات تردد أليل المتغير كما هو موضح في الشكل الثاني.

قابلية الاستنساخ

تم تقييم قابلية الاستنساخ لجهاز NextSeq 550Dx باستخدام عينات الجينوم البلاتيني مع فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات تغطي 12588 قاعدة عير 23 كروموسوماً مختلفاً باستخدام 150 أمبليكون. وكان اختبار الخط الجنسي يتكوّن من سبع نسخ طبق الأصل من 13 عينة؛ كما كان الاختبار الجسدي يتكوّن من ست نسخ طبق الأصل من سبع عينات عند مستويات مختلفة لتردد أليل المتغير (VAF). وتم تحضير العينات باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx.

كما أُجري الاختبار في ثلاثة مواقع خارجية باستخدام دفعة واحدة من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة). وتم استخدام جهاز NextSeq 550Dx واحد في كل موقع. وأجرى اثنان من مسؤولي التشغيل الاختبار في كل موقع. وأجرى كل مُشغّل الاختبار في ثلاثة أيام تشغيل غير متتالية لكل نوع من أنواع العينات، وذلك لإجمالي 36 عملية تشغيل عبر المواقع الثلاثة. نتج عن هذا الاختبار 18 عملية تشغيل لكل من عمليات سير عمل الخط الجنسي وسير عمل التحليل الجسدي.

Germline

يتم الإبلاغ عن متغيرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغير ≤ 0.2 بوصفها (متغيرات) إيجابية. بالنسبة لمتغيرات Germline الإيجابية المتوقعة، تم تقييم البيانات من حيث معدل عدم الاستدعاء ومعدل الاستدعاء الإيجابي الصحيح ضمن كل نوع متغير (متغير النيوكليوتيد المفرد، إدخال، حذف). يلخص الجدول 21 المعدلات المرصودة، إلى جانب مستويات ثقة 95% الأدنى والأعلى (LCL/UCL) المحسوبة باستخدام طريقة ويلسون لتحديد النقاط (Wilson Score method)، لكل نوع متغير.

الجدول 21 ملاحظات استدعاء الخط الجنسي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغير

نوع المتغير	عدم الاستدعاء		الاستدعاء الإيجابي الصحيح		
	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية	ما تمت ملاحظته	النسبة المئوية
SNV	16	110,376	0.014	110,349	99.99
الإدخالات	1026	37,044	2.77	36,018	99.99
الحذوفات	648	34,776	1.86	34,128	99.99

يتم الإبلاغ عن متغيرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغير < 0.2 (VAF) بوصفها سلبية (النوع البري). بالنسبة لمواقع Germline السلبية المتوقعة، تم تقييم البيانات من حيث معدل عدم الاستدعاء ومعدلات استدعاء النوع البري الصحيحة. يلخص الجدول 22 المعدلات المرصودة، إلى جانب مستويات ثقة 95% الأدنى والأعلى (LCL/UCL) المحسوبة باستخدام طريقة ويلسون لتحديد النقاط (Wilson Score method).

الجدول 22 ملاحظات استدعاء الخط الجنسي للنتائج السلبية المتوقعة

نوع المتغير	عدم الاستدعاء		الاستدعاء السليبي الصحيح		
	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية	ما تمت ملاحظته	النسبة المئوية
النوع البري	4883	19,600,182	0.025	19,595,299	100.00

يُطلق على متغيرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغير ≥ 0.2 (VAF) و > 0.7 متغايرة الزيجوت الإيجابية للمتغير، ويُطلق على المتغيرات ذات مستوى تردد أليل المتغير ≥ 0.7 (VAF) تماثلة الزيجوت الإيجابية للمتغير. تم استخدام عينات الخط الجنسي ذات المتغيرات متغايرة الزيجوت لتحديد ما إذا كان التغير المتأصل للفحص سيؤثر على استدعاء النمط الجيني أم لا. تم تحديد Cx لكلا الحدين الثابتين (0.2 للنمط الجيني متغاير الزيجوت و 0.7 للأنماط الجينية تماثلة الزيجوت)، حيث يُمثل X نسبة الاختبارات المكررة التي تتجاوز الحد الثابت. وبالنسبة للحد الأدنى ذي تردد أليل المتغير (0.2 VAF)، كانت نسبة $Cx \geq 99.999\%$ ، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على $\leq 99.999\%$ من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم متغايرة الزيجوت. وفيما يتعلق بالحد الثابت الأعلى ذي تردد أليل المتغير (0.7 VAF)، كانت نسبة $Cx \leq 0.001\%$ ، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على $\geq 0.001\%$ من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم تماثلة الزيجوت. يلخص الجدول 23 النتائج حسب نوع المتغير.

يُطلق على متغيرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغير ≥ 0.2 (VAF) و > 0.7 متغايرة الزيجوت الإيجابية للمتغير، ويُطلق على المتغيرات ذات مستوى تردد أليل المتغير ≥ 0.7 (VAF) تماثلة الزيجوت الإيجابية للمتغير. تم استخدام عينات الخط الجنسي ذات المتغيرات متغايرة الزيجوت لتحديد ما إذا كان التغير المتأصل للفحص سيؤثر على استدعاء النمط الجيني أم لا. تم تحديد Cx لكلا الحدين الثابتين (0.2 للنمط الجيني متغاير الزيجوت و 0.7 للأنماط الجينية تماثلة الزيجوت)، حيث يُمثل X نسبة الاختبارات المكررة التي تتجاوز الحد الثابت. وفيما يتعلق بالحد الأدنى ذي تردد أليل المتغير (0.2 VAF)، كانت نسبة $Cx \geq 99.999\%$ ، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على $\leq 99.999\%$ من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم متغايرة الزيجوت. وبالنسبة للحد الثابت الأعلى ذي تردد أليل المتغير (0.7 VAF)، كانت Cx بنسبة $\geq 0.001\%$ ، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على $\geq 0.001\%$ من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم تماثلة الزيجوت. يلخص الجدول 23 النتائج حسب نوع المتغير.

الجدول 23 قيم CX للخط الجنسي الخاصة بالمتغيرات متغايرة الزيجوت

نوع المتغير	الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (VAF) 0.2	الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (VAF) 0.7
	$C99.999\% \leq$	$C0.001\% \geq$
SNV	94/94	94/94
الإدخالات	24/24	24/24
الحذوفات	35/35	35/35
الإجمالي	153	153

المتغير الجسدي

يتم الإبلاغ عن المتغيرات الجسدية ذات مستويات تردد أليل المتغير البالغة ($VAF \geq 0.026$) بوصفها (متغيرات) إيجابية. وقد تم اعتبار الملاحظات ذات مستويات تردد أليل المتغير ($VAF \geq 0.01$) و $0.026 >$ غير واضحة لأغراض هذا التحليل (ليست إيجابية أو سلبية، وتُسجّل كتردد منخفض للمتغير). لتقييم الأداء، تم حساب النتائج بثلاث طرق:

- أفضل حالة: تم اعتبار أي نتيجة غير واضحة بمثابة استدعاء إيجابي صحيح (تنفق مع النتائج المتوقعة)
- أسوأ حالة: تم اعتبار أي نتيجة غير واضحة بمثابة استدعاء غير صحيح (لا تنفق مع النتائج المتوقعة)
- حالة الاستبعاد: تم استثناء جميع النتائج غير الواضحة من التحليل

تُلخّص الجداول الثلاثة، و **الجدول 24** و **الجدول 25** و **الجدول 26**، نتائج الاستدعاء للحالة الأفضل، والحالة الأسوأ والحالة الاستثنائية على التوالي، إلى جانب مستويات الثقة الأقل والأعلى من 95% (LCL/UCL) المحسوبة باستخدام طريقة نقاط ويلسون.

الجدول 24 ملاحظات استدعاء المتغير الجسدي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغير (الحالة الأفضل)

نوع المتغير	الاستدعاء الإيجابي الصحيح			الإجمالي	ما تمت ملاحظته
	مستوى الثقة الأعلى من 95%	مستوى الثقة الأقل من 95%	النسبة المئوية		
SNV	100.00	99.99	100	54,346	54,346
الإدخالات	100.00	99.98	100	18,036	18,036
الحذوفات	100.00	99.98	100	18,381	18,381

الجدول 25 ملاحظات استدعاء المتغير الجسدي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغير (الحالة الأسوأ)

نوع المتغير	الاستدعاء الإيجابي الصحيح			الإجمالي	ما تمت ملاحظته
	مستوى الثقة الأعلى من 95%	مستوى الثقة الأقل من 95%	النسبة المئوية		
SNV	100.00	99.99	100	54,346	54,346
الإدخالات	99.86	99.72	99.8	18,036	18,000
الحذوفات	100.00	99.98	100	18,381	18,381

الجدول 26 ملاحظات استدعاء المتغير الجسدي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغير (تم حذف الاستدعاءات غير الواضحة)

الاستدعاء الإيجابي الصحيح				نوع المتغير	
مستوى الثقة الأعلى من 95%	مستوى الثقة الأقل من 95%	النسبة المئوية	الإجمالي	ما تمت ملاحظته	
100.00	99.99	100	54,346	54,346	SNV
100.00	99.98	100	18,000	18,000	الإدخالات
100.00	99.98	100	18,381	18,381	الحذوفات

يتم الإبلاغ عن المتغيرات الجسدية ذات مستوى تردد أليل المتغير $0.01 < VAF$ بوصفها استدعاءات سلبية (النوع البري). وبالنسبة لمواقع المتغيرات الجسدية السلبية المتوقعة، خضعت البيانات للتقييم فيما يتعلق بمعدلات عدم الاستدعاء ومعدل الاستدعاء الصحيح من النوع البري. تم تحديد استدعاءات النوع البري الصحيحة عن طريق استبعاد حالات "عدم الاستدعاء" وطرح الاستدعاءات المرصودة التي وقعت ضمن المنطقة المشكوك فيها (مستويات $VAF \geq 0.01$ و $0.026 >$) بالإضافة إلى الاستدعاءات غير الصحيحة التي كانت أعلى من الحد الفاصل (مستويات $VAF \geq 0.026$) من الإجمالي. يلخص الجدول 27 النتائج المرصودة والإجمالية والنسبة المئوية للمواقع الجسدية السلبية لمعدل عدم الاستدعاء ومعدل استدعاء النوع البري الصحيح، إلى جانب مستويات ثقة 95% الأدنى والأعلى (LCL/UCL) المحسوبة باستخدام طريقة ويلسون لتحديد النقاط (Wilson Score method).

الجدول 27 ملاحظات استدعاء المتغير الجسدي للنتائج السلبية المتوقعة

الاستدعاء السليبي الصحيح			عدم الاستدعاء				متغير النوع			
مستوى الثقة الأعلى من 95%	مستوى الثقة الأقل من 95%	النسبة المئوية	الإجمالي	الصحيح	غير الصحيح	غير الواضح	النسبة المئوية	الإجمالي	ما تمت ملاحظته	
99.974	99.972	99.97	8,873,350	8,870,975	121	2254	0.408	8,909,676	36,326	النوع البري

تم تقييم العينات الجسدية عند مستويات مختلفة لتردد أليل المتغير (VAF) للمتغير نفسه لتحديد تركيز C95 الخاص بالفحص (داخل كل نوع من أنواع المتغير). ولتقييم قابلية التغير بالقرب من الحد الثابت للفحص، تم استخدام العينات التي كانت لديها مستويات متوقعة لتردد أليل المتغير (VAF) بين 0.02 و 0.07. وقد تم تحديد تركيز C95 لكل متغير، مع الإبلاغ عن أعلى تركيز لـ C95 لكل نوع متغير في الجدول 28.

الجدول 28 ملخص تركيز C95 الجسدي

نوع المتغير	العدد	C95
SNV	74	0.0613
الإدخال	24	0.0573
الحذوفات	33	0.0575

أداء مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة)

نظرة عامة

يُعدّ NextSeq 550Dx مدعومًا بمجموعتين من الكواشف: مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (مجموعة كواشف 300 دورة) و NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (مجموعة كواشف 300 دورة). ولإثبات أن مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة) تُمكنها تلبية متطلبات الأداء التحليلي التي تم التحقق منها وتأكيد صحتها من خلال مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة)، أُجريت الدراسات باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة). كما أُجري اثنان من إعدادات المكتبة باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx، حيث أُجري أحدهما عبر سير عمل متغير الخط الجنسي والآخر عبر سير عمل المتغير الجسدي. وخضعت المكتبات من كلا عمليتي سير العمل للاختبار من خلال ثلاث دفعات لمجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 باستخدام ثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx. بالإضافة إلى ذلك، فقد تضمّن الاختبار لكل سير عمل، عملية تشغيل مفردة باستخدام مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (مجموعة كواشف 300 دورة).

الحساسية التحليلية (حد الفراغ [LoB] وحد الكشف [LoD])

أُثبت التحقق باستخدام مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (مجموعة كواشف 300 دورة) أن جهاز NextSeq 550Dx يُمكنه الكشف عن المتغيرات عند مستوى تردد أليل المتغير 0.05 مع خطأ من النوع الثاني ≥ 0.05 وأن الحد الثابت لتردد أليل المتغير 0.026 الذي تستخدمه وحدة المتغير الجسدي (حد الفراغ الفعّال) يدعم الخطأ من النوع الأول ≥ 0.01 . وبناءً على تلك المطالبات، من المتوقع أن يكون المتغير عند تردد أليل المتغير 0.05 (VAF) أكبر من تردد أليل المتغير 0.026 (VAF) أو يساويه في 95% من الوقت وأن الموقع من النوع البري أقل من تردد أليل المتغير 0.026 (VAF) في 99% من الوقت. وللتأكد من تلبية مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 لتلك المطالبات، تم أخذ قياسات متكررة على جهاز NextSeq 550Dx من خلال عينات من النوع البري (عينات حد الفراغ) وعينات تتضمن متغيرات عند تردد أليل المتغير 0.05 (عينات حد الكشف) باستخدام مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (مجموعة كواشف 300 دورة). ومن ثم تمت مقارنة نسبة الاستدعاءات التي تتجاوز الحد الثابت 0.026 والتي تكون أدها بالمطالبات الموضوعية باستخدام مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (مجموعة كواشف 300 دورة).

وشمل الاختبار اثنين من عينات حد الكشف، وكل عينة مُزودة بمجموعة فريدة من المتغيرات التي تستهدف تردد أليل المتغير 0.05 (VAF) وعينات حد الفراغ المقابلة التي كانت من النوع البري للمتغيرات المستهدفة. وبالنسبة لإعداد المكتبة، تمت معالجة عينات حد الكشف (LoD) وحد الفراغ (LoB) في نسخ يبلغ عددها ثمانين وسبع نسخ على التوالي باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. في البداية، أُجري تسلسل المكتبات باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) لتحديد المتغيرات/الإحداثيات الجينومية بغرض تقييم حد الفراغ/حد الكشف (LoB/LoD) باستخدام مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (مجموعة كواشف 300 دورة). تم استخدام جميع المتغيرات ذات متوسط تردد أليل المتغير (VAF) الذي يتراوح بين 0.045 و 0.055 (متغيرات حد الكشف) وفق نتائج مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (مجموعة كواشف 300 دورة) بغرض تحليل حد الكشف (العدد = 51 متغيرًا). وبالنسبة لتحليل حد الفراغ، خضع 51 من الإحداثيات الجينومية المقابلة للتقييم.

ولتقييم مجموعة كواشف (300 دورة) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (مجموعة كواشف 300 دورة)، أُجري تسلسل المكتبات في ثلاث عمليات تشغيل على مدار ثلاثة أيام متتالية باستخدام الجهاز ودفعة مجموعة الكاشف نفسها. بلغ هذا الاختبار 24 نسخة لكل متغير من متغيرات حد الكشف التي يبلغ عددها 51 متغيرًا و 21 نسخة لكل موقع من المواقع ذات النوع البري المقابلة. كما تُرد نسبة الاستدعاءات من النوع البري ذات تردد أليل المتغير 0.026 (VAF) في الجدول 29. وترد نسبة استدعاءات متغير حد الكشف ذات تردد أليل المتغير (VAF) الأكبر من 0.026 أو يساويه في الجدول 30.

الجدول 29 نسبة الاستدعاءات > 0.026 للمواقع من النوع البري (تقييم مطالبة حد الفراغ)

نوع المتغير	المواقع الخاضعة للتقييم	إجمالي الملاحظات	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF)	نسبة	نسبة 95%
			$\leq 2.6\%$	$< 2.6\%$	لمجال الثقة

1 - 0.994	1	0	672	32	SNV
1 - 0.984	1	0	231	11	الإدخال
1 - 0.978	1	0	168	8	الحذوفات

الجدول 30 نسبة الاستدعاءات ≤ 0.026 من تردد أليل المتغير (VAF) بالنسبة لمتغيرات حد الكشف (تقييم مطابقة حد الكشف)

نسبة 95% لمجال الثقة	نسبة $\leq 2.6\%$	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF) $\leq 2.6\%$	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF) $< 2.6\%$	إجمالي الملاحظات	المواقع الخاضعة للتقييم	نوع المتغير
1 - 0.993	0.999	767	1	768	32	SNV
- 0.967 0.996	0.989	261	3	264	11	الإدخال
- 0.963 0.997	0.99	190	2	192	8	الحذوفات

الدقة

Germline

أجريت الدراسة التالية لتقييم دقة استدعاء المتغير ذي الصلة بوحدة متغير الخط الجنسي باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة). وخضعت اثنتا عشرة عينة فريدة من الجينوم البلاتيني للاختبار باستخدام أحد الفحوصات التمثيلية. وأجري إجمالي 11 عملية تشغيل باستخدام ثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx وثلاثة من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة).

تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات من خلال مقارنة النتائج بطريقة مرجعية مركبة ذات سمات الواضحة للجينومات البلاتينية من الإصدار 2016-1.0. تم توفير نتائج الدقة من عملية تشغيل تسلسل مفردة باستخدام مجموعة الكواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) للرجوع إليها. ويُقّم ملخص النتائج في الجدول 31.

الجدول 31 ملخص توافق الخط الجنسي

المعايير	إجمالي الملاحظات (الإصدار 2.5) ¹	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2.5) ²	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2) ³	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2) ⁴	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2.5) ⁴
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة	1056	98.7	98.7	99.9 <	99.9 <
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لإدخالات	1056	100	100	100	100

المعايير	إجمالي الملاحظات (الإصدار 2.5) ¹	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2.5) ²	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2) ³	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2) ⁴	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2.5) ⁴
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لحذوفات	1056	95.2	95.2	99.9 <	99.9 <
توافق النسبة السلبية (NPA)	1056	100	100	100	100
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	1056	99.9 <	99.9 <	99.9 <	99.9 <

¹ تم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل x عدد عمليات التشغيل (96 عينة لكل عملية تشغيل x 11 عملية تشغيل = 1056 ملاحظة).

² أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر جميع عمليات التشغيل (بناءً على 11 عملية تشغيل لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5)

³ أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عملية تشغيل واحدة (إجمالي 96 ملاحظة).

⁴ أقل قيمة عند تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصفة إجمالية.

المتغير الجسدي

أجريت الدراسة التالية لتقييم دقة استدعاء المتغير لوحدة المتغير الجسدي على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة). وأجري اختبار لعشر عينات مدمجة بالبارافين ومثبتة بالفورمالين FFPE خاصة بالجينوم البلاتيني (عينتان منها تم تخفيف المتغيرات بها إلى تردد أليل المتغير 0.05) باستخدام أحد الفحوصات التمثيلية. وأجري إجمالي 11 عملية تشغيل باستخدام ثلاث أجهزة NextSeq 550Dx و ثلاث دفعات من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة).

تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات من خلال مقارنة النتائج بطريقة مرجعية مركبة ذات سمات الواضحة للجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016. تم توفير نتائج الدقة من عملية تشغيل تسلسل مفردة باستخدام مجموعة الكواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) للرجوع إليها. ويُقّم ملخص النتائج في الجدول 32.

الجدول 32 ملخص التوافق الجسدي

المعايير	إجمالي الملاحظات (الإصدار 2.5) ¹	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2) ²	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2) ³	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2.5) ⁴	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2) ⁴
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة	528	100	100	100	100
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لإدخالات	528	96.9	96.9	99.9 <	99.9 <
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لحذوفات	528	100	100	100	100
توافق النسبة السلبية (NPA)	528	99.9 <	99.9 <	99.9 <	99.9 <
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	528	99.9 <	99.9 <	99.9 <	99.9 <

¹ تم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل x عدد عمليات التشغيل (48 عينة لكل عملية تشغيل x 11 عملية تشغيل = 528 ملاحظة)

²أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر جميع عمليات التشغيل (بناءً على 11 عملية تشغيل لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5)
³أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عملية تشغيل واحدة (إجمالي 96 ملاحظة).
⁴أقل قيمة عند تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصفة إجمالية.

الضبط

Germline

خضع ضبط مجموعة كواشف (300 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 دورة) إلى جانب وحدة متغير الخط الجنسي للتقييم باستخدام عينات الجينوم البلازمي والفحص التمثيلي. وشمل الاختبار إعداد مكتبة فردية باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx كما تضمن 12 عينة خضعت للمعالجة من خلال ثماني نسخ لكل منها. وأجري تسلسل المكتبات باستخدام ثلاث دفعات من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة) وثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx لإجمالي تسع عمليات تشغيل التسلسل. تم استخدام العينات ذات المتغيرات متغايرة الزيجوت لتحديد ما إذا كان التغير المتأصل للفحص سيؤثر على استدعاء النمط الجيني (العدد = 153 من المتغيرات متغايرة الزيجوت الفريدة). وتم تحديد CX لكلا الحدين الثابتين ذوي الصلة بوحدة متغير الخط الجنسي (0.2 للنمط الجيني متغاير الزيجوت و 0.7 للنمط الجيني متماثل الزيجوت)، حيث يُمثل X نسبة الاختبارات المُكررة التي تتجاوز الحدّ الثابت. وبالنسبة للحدّ الثابت الأدنى ذي تردد أليل المتغير (0.2 VAF)، كان المتغير ذو نسبة CX الأدنى لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx من الإصدار 2.5 (300 دورة) $< 99.9\%$ ، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على $< 99.9\%$ من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم متغايرة الزيجوت. وبالنسبة للحدّ الثابت الأعلى ذي تردد أليل المتغير (0.7 VAF)، كان المتغير ذو نسبة CX الأقصى لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx من الإصدار 2.5 (300 دورة) $> 1.5\%$ ، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على $\geq 1.5\%$ من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم متماثلة الزيجوت. يلخص الجدول 33 النتائج حسب نوع المتغير. يتم توفير قيم CX من عملية تشغيل التسلسل المفردة باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) للرجوع إليها.

الجدول 33 قيم CX للخط الجنسي الخاصة بالمتغيرات متغايرة الزيجوت

نوع المتغير	العدد	الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (0.2 VAF)		الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (0.7 VAF)	
		الحدّ الأدنى لنسبة CX ¹ (الإصدار 2.5) ¹	الحدّ الأدنى لنسبة CX ² (الإصدار 2) ²	الحدّ الأقصى لنسبة CX ¹ (الإصدار 2.5) ¹	الحدّ الأقصى لنسبة CX ² (الإصدار 2) ²
SNV	94	$< 99.9\%$	$< 99.9\%$	1.5%	1.0%
الإدخالات	24	100%	100%	0%	$< 0.1\%$
الحدوفات	35	100%	$< 99.9\%$	$< 0.1\%$	$< 0.1\%$

¹تستند قيم CX إلى تقديرات إجمالي الانحراف المعياري من تحليل عنصر التباين.

²تستند قيم CX إلى الانحرافات المعيارية للعينة.

المتغير الجسدي

خضع ضبط مجموعة كواشف (300 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 دورة) إلى جانب وحدة المتغير الجسدي للتقييم باستخدام العينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE للجينوم البلازمي والفحص التمثيلي. وشمل الاختبار إعداد مكتبة فردية باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx كما تضمن عينتين مع ثماني نسخ لكل منها. وأجري تسلسل المكتبات باستخدام ثلاث دفعات من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة) وثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx لإجمالي تسع عمليات تشغيل التسلسل.

تم استخدام المتغيرات الجسدية مع مستويات تردد أليل متغير (VAF) متوقعة ≤ 0.010 (العدد = 131 متغيرًا فريدًا) لتقييم مدى تغير الجهاز بالقرب من الحد الثابت لتردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة المتغير الجسدي (يُطلق على المتغيرات الجسدية ذات مستوى تردد أليل المتغير $(VAF) \geq 0.026$ إيجابية للمتغير). تم تحديد

قيم C95 لكل متغير من المتغيرات الجسدية. وتُمثل قيم C95 تردد أليل المتغير (VAF) إذ أن احتمالية أن تكون أكبر من الحد الثابت لتردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة المتغير الجسدي هو 95%. وتردد قيم C95 الأعلى حسب نوع المتغير في الجدول 34. يتم توفير نتائج C95 من عملية تشغيل تسلسل المفردة باستخدام مجموعة كواشف (300) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (دورة) للرجوع إليها.

الجدول 34 ملخص تركيز C95 الجسدي

نوع المتغير	عدد المتغيرات الخاضعة للتقييم	C95 (الإصدار 2.5) ¹	C95 (الإصدار 2) ²
SNV	74	0.064	0.063
الإدخالات	24	0.062	0.061
الحذوفات	33	0.060	0.060

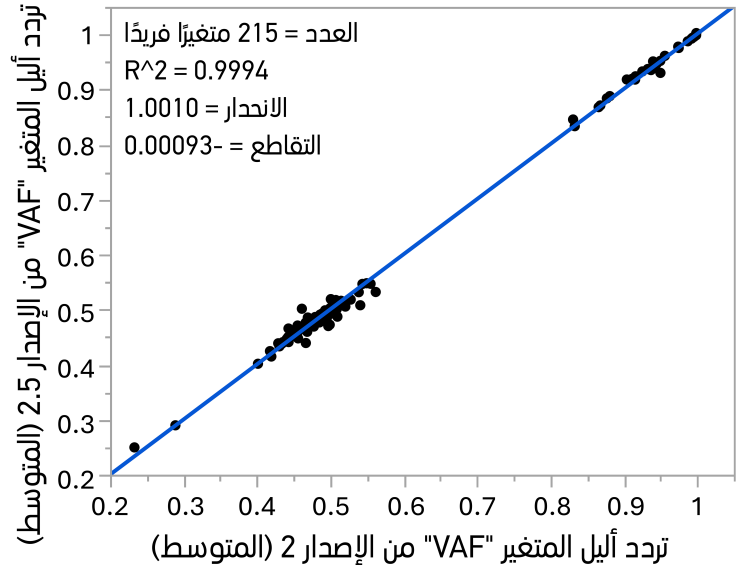
¹تستند قيم C95 إلى تقديرات إجمالي الانحراف المعياري من تحليل عنصر التباين.
²تستند قيم C95 إلى الانحرافات المعيارية للعينة.

مقارنة الطريقة (مجموعة الكاشف)

Germline

خضع متوسط تردد أليل المتغير (VAF) المتحصل عليه من 215 متغيراً فريداً للتقييم عبر مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة) باستخدام النتائج المنتشة من وحدة متغير الخط الجنسي. كما تم حساب المعدلات المتوسطة لتردد أليل المتغير (VAF) من 11 عملية من عمليات تشغيل التسلسل (الإصدار 2.5) وعملية تشغيل تسلسل واحدة (الإصدار 2). تم استخدام ثمانية مكررات على الأقل لحساب المتوسط لكل متغير. يوضح الشكل 3 ارتباط VAF بين مجموعتي الكواشف. وبناءً على علاقة تردد أليل المتغير (VAF) الخطية القوية والتشابه في النتائج بين مجموعات الكاشف، تم تحديد خصائص الأداء، التي تم التحقق والتأكد من صحتها في البداية باستخدام مجموعة كواشف (300) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (دورة) من خلال وحدة متغير الخط الجنسي، لتكون قابلة للتطبيق على مجموعة كواشف (300) NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (دورة).

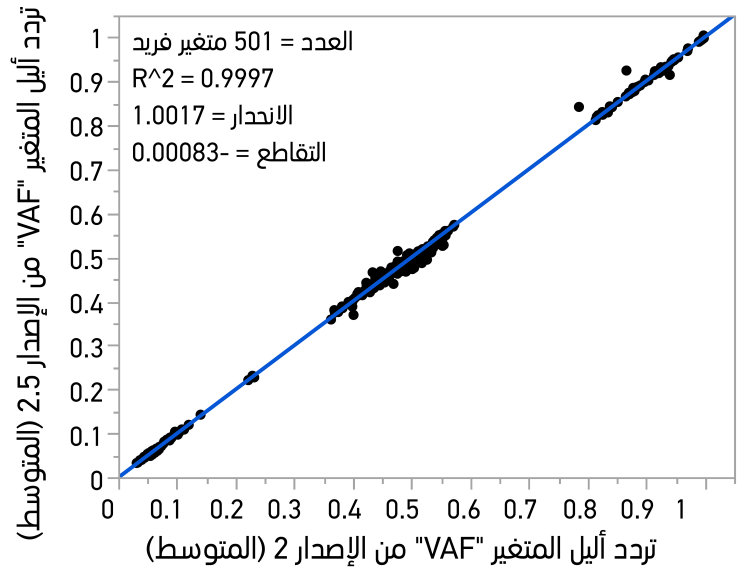
الشكل 3 علاقة تردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة متغير الخط الجنسي بين مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة).



المتغير الجسدي

خضع متوسط تردد أليل المتغير (VAF) لـ 501 متغير فريد للتقييم عبر مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة) باستخدام النتائج المنشأة من وحدة المتغير الجسدي. كما تم حساب المعدلات المتوسطة لتردد أليل المتغير (VAF) من 11 عملية من عمليات تشغيل التسلسل (الإصدار 2.5) وعملية تشغيل تسلسل واحدة (الإصدار 2). تم استخدام ثلاثة مكررات على الأقل لحساب المتوسط لكل متغير فريد. يوضح الشكل 4 ارتباط VAF بين مجموعتي الكواشف. وبناءً على علاقة تردد أليل المتغير (VAF) والتشابه في النتائج بين مجموعات الكاشف، تم تحديد خصائص الأداء، التي تم التحقق والتأكد من صحتها باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) من خلال وحدة المتغير الجسدي، لتكون قابلة للتطبيق على مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة).

الشكل 4 علاقة تردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة المتغير الجسدي بين مجموعة كواشف NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (300 دورة).



سجل المراجعة

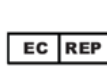
المستند	التاريخ	وصف التغيير
مستند رقم 1000000030326 إصدار 07	أغسطس 2023	تمت إضافة محتوى لدعم خادم Illumina DRAGEN الاختياري لجهاز NextSeq 550Dx. تم تحديث رقم قطعة مرشح الهواء. تم تحديث عدد متغيرات FFPE (الجسدية) المستخدمة لتحديد ترددات أليل المتغير. تم تحديث جدول ملخص توافق الخط الجنسي. تمت إضافة تحذير من تهديدات الأمن السيبراني.
مستند رقم 1000000030326 إصدار 06	مايو 2022	أجريت تحديثات لتصحيح محتوى تمت إضافته دون قصد من برنامج المصدر.
المستند رقم 1000000030326 إصدار 05	نوفمبر 2021	تمت إضافة بيان التحذيرات والاحتياطات بشأن الإبلاغ عن الحوادث الخطيرة. تمت إضافة بيان لآليات العمل الأساسية التي تحدد المستخدم المقصود. تمت إزالة المرجع الخاص بمجموعة كواشف High Output Reagent Kit v2 (300 دورة). تمت إضافة المرجع الخاص بمجموعة كواشف High Output Reagent Kit v2.5 (75 دورة).
المستند رقم 1000000030326 إصدار 04	أغسطس 2021	تمت إضافة جدول سجل المراجعة. تم تحديث عنوان الممثل المعتمد للاتحاد الأوروبي.

براءات الاختراع والعلامات التجارية

هذا المستند ومحتوياته مملوك لشركة Illumina, Inc، والشركات التابعة لها ("Illumina")، ويهدف إلى الاستخدام التعاقدى لعلامتها فقط فيما يتعلق باستخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا وليس لأي غرض آخر. يجب ألا يتم استخدام هذا المستند ومحتوياته أو توزيعه لأي غرض آخر و/أو إرساله، أو الكشف عنه، أو نسخه بأي شكل آخر دون موافقة خطية مسبقة من شركة Illumina. لا تُقدم شركة Illumina أي تراخيص تتعلق ببراءات الاختراع، أو العلامات التجارية أو حقوق التأليف والنشر، أو حقوق القانون العام ولا الحقوق المماثلة لأي أطراف أخرى بموجب هذا المستند. يجب على الموظفين المؤهلين والمدربين بشكل جيد اتباع التعليمات الواردة في هذا المستند بشكل صارم وصريح من أجل ضمان الاستخدام السليم والأمن للمنتج (المنتجات) الموضحة به. يجب قراءة جميع محتويات هذا المستند وفهمها بشكل كامل قبل استخدام هذا المنتج (هذه المنتجات). وقد يؤدي عدم قراءة التعليمات الواردة هنا بشكل كامل واتباعها بوضوح إلى حدوث تلف في المنتج (المنتجات)، أو إصابة للأشخاص، بما في ذلك المستخدم أو أشخاص آخرين، وإلحاق الضرر بممتلكات أخرى، وستفقد أي ضمان ينطبق على المنتج (المنتجات). لا تتحمل شركة ILLUMINA أي مسؤولية ناجمة عن سوء استخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا (بما في ذلك البرامج أو أجزاء منها). حقوق الطبع والنشر © لشركة Illumina, Inc 2023، جميع الحقوق محفوظة. جميع العلامات التجارية مملوكة لشركة أو Illumina, Inc أصحابها المعنيين. للحصول على معلومات محددة حول العلامات التجارية، راجع www.illumina.com/company/legal.html.

معلومات الاتصال

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



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



Illumina, Inc
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (خارج أمريكا الشمالية)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

ملصقات المنتج

للحصول على مرجع كامل للرموز التي تظهر على عبوة المنتج والملصقات، راجع مفتاح الرمز الخاص بمجموعة أدواتك على موقع support.illumina.com ضمن علامة التبويب *Documentation* (الوثائق).