

## Indlægsseddel

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUG  
KUN TIL EKSPORT

## Tilsigtet brug

NovaSeq 6000Dx-instrument er beregnet til sekventering af DNA-biblioteker ved brug af *in vitro*-diagnostiske (IVD) analyser. NovaSeq 6000Dx-instrument er beregnet til brug med specifikke, registrerede, certificerede og godkendte IVD-reagenser og analysesoftware.

## Procedureprincipper

Illumina® NovaSeq 6000Dx-instrument er beregnet til sekventering af DNA-biblioteker ved brug af *in vitro*-diagnostiske (IVD) analyser. Inputtet til NovaSeq 6000Dx består af biblioteker, der er genereret fra DNA, med tilføjelse af prøveindekser og optagelsessekvenser til opformerede mål. Prøvebibliotekerne optages på en flowcelle og sekventeres på instrumentet ved brug af SBS-kemi (Sequencing By Synthesis). SBS-kemien anvender en reversibel terminator-metode til at detektere fluorescensmærkede enkelt nukleotidbaser, når de inkorporeres i voksende DNA-streng. Real-Time Analysis Software (RTA) udfører billedanalyse og basebestemmelse og tildeler en kvalitetsscore til hver base for hver sekventeringscyklus. Når den primære analyse er færdig, kan der udføres sekundær analyse på det inkluderede og påkrævede Illumina DRAGEN server til NovaSeq 6000Dx for at behandle basebestemmelserne. NovaSeq 6000Dx gør brug af forskellige moduler til den sekundære analyse, afhængigt af arbejdsgangen. Behandlingen i DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-programmet omfatter demultiplexing, generering af FASTQ-filer, alignment, bestemmelse af varianter og generering af variantbestemmelsesformat filer (VCF- og gVCF-filer). VCF- og gVCF-filerne indeholder oplysninger om enten kimcellevarianter eller somatiske varianter (afhængigt af den valgte arbejdsgang), der er fundet ved specifikke placeringer i et referencegenom.

## Dobbelt driftstilstand

NovaSeq 6000Dx inkluderer et enkelt boot-harddrev med separat *in vitro* diagnostik (IVD)- og RUO-tilstande, der kun er til forskningsbrug (RUO, Research Use Only). Tilstanden vælges ved brug af til/fra-knappen på skærbilledet Sequencing (Sekventering). Den valgte tilstand er klart mærket i brugergrænsefladen på alle skærbilleder. IVD-sekventeringsanalyser, herunder programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx i enten kimcellerarbejdsgang og/eller somatisk arbejdsgang, udføres i IVD-tilstanden. Der kan kun bruges IVD-sekventeringsreagenser i IVD-tilstanden. NovaSeq 6000Dx-instrumentets karakteristika for ydeevne og procedurebegrænsninger er blevet fastsat ved brug af programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx i IVD-tilstand.

## Procedurens begrænsninger

1. Kun til *in vitro* diagnostisk brug.
2. DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-programmet, når det bruges med NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) er i stand til at levere:
  - Sekventeringsoutput:
    - $\geq 1,0$  terabases (TB) med S2 sættet
    - $\geq 3,0$  TB med S4 sættet
  - Læsningslængde (ved paired end-kørsel) 2 x 150 basepar (bp).
  - Baser på mere end Q30  $\geq 85$  % og læsningslængde på 2 x 150 bp. Mindst 85 % af basebestemmelserne har kvalitetsscorer på over 30 på Phred-skalaen, hvilket viser, at nøjagtigheden for basebestemmelse er over 99,9 %.
3. Insertioner med en længde på  $>18$  bp og deletioner med en længde på  $>21$  bp er ikke blevet valideret.
4. Store varianter, inklusive multinukleotid-varianter (MNV'er) og store indels, rapporteres muligvis som separate mindre varianter i VCF-outputfilen.
5. Små MNV'er rapporteres som separate varianter i VCF-outputfilen.
6. Deletioner rapporteres i VCF-vilen ved koordinaten i den foregående base pr. VCF-format. Derfor bør tilstedende varianter tages i betragtning, inden det rapporteres, at en individuel basebestemmelse er homozygot.
7. Kimcellespecifikke begrænsninger:
  - NovaSeq 6000Dx er ved brug af arbejdsgangen for kimcelle FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx designet til at levere kvalitative resultater til bestemmelse af kimcellevarianter (f.eks. homozygot, heterozygot, vildtype).
  - Variation i kopiantal kan påvirke, hvorvidt en variant bliver identificeret som homozygot eller heterozygot.
  - Systemet vil ikke rapportere mere end to varianter ved en enkelt locus, selv under tilstedeværelsen af variation i kopiantal.
8. Specifikke somatiske begrænsninger:
  - NovaSeq 6000Dx, der bruger arbejdsgangen for somatisk FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, er designet til at levere kvalitative resultater til bestemmelse af somatiske varianter (dvs. tilstedeværelsen af en somatisk variant).
  - Arbejdsgangen for somatisk FASTQ- og VCF-genereringsanalyse kan ikke differentiere mellem kimcellevarianter og somatiske varianter. Arbejdsgangen er designet til at påvise varianter på tværs af en række variantfrekvenser, men variantfrekvenser kan ikke anvendes til at skelne mellem somatiske varianter og kimcellevarianter.

- Normalt væv i prøven påvirker påvisningen af varianter. Den rapporterede påvisningsgrænse er baseret på en variantfrekvens i forhold til det samlede DNA, der er ekstraheret fra både tumorvæv og normalt væv.
- Hvis mere end en variant-allel bestemmes på samme locus, vil ingen af allelerne blive rapporteret som passerende varianter. Det fulde sæt alleler vil i stedet blive rapporteret, men filtreret via multiallelisk tag.

## Kvalitetskontrolprocedurer

NovaSeq 6000Dx-softwaren vurderer hver kørsel, prøve og basebestemmelse i forhold til kvalitetskontrolmålinger. Positive og negative kontroller anbefales til biblioteksklargøring og skal evalueres. Evaluér kontrollerne som følger.

- Negative Control (No Template Control) (Negativ kontrol (Ingen skabelonkontrol)) eller anden negativ kontrol – Skal generere det forventede resultat. Hvis den negative kontrol genererer et andet resultat end forventet, er der opstået en mulig fejl i prøvesporingen, ukorrekt registrering af indekseringsprimerne eller kontaminering.
- Positive Control Sample (Positiv kontrolprøve) – Skal generere det forventede resultat. Hvis den positive kontrol genererer et andet resultat end forventet, er der opstået en mulig fejl i prøvesporingen eller ukorrekt registrering af indekseringsprimerne.

## Produktets komponenter

Illumina NovaSeq 6000Dx består af følgende:

1. NovaSeq 6000Dx-instrument (Katalognr. 20068232)
2. Softwarekomponenter for NovaSeq 6000Dx-instrument inkluderer følgende:

Softwareprogram	Installationssted	Funktion	Beskrivelse
NovaSeq Operating Software	NovaSeq 6000Dx	Styrer driften af instrumentet	NovaSeq Operating Software (NVOS) styrer driften af instrumentet under sekventeringen og genererer billeder til brug af softwaren Real-Time Analysis (RTA).

Softwareprogram	Installationssted	Funktion	Beskrivelse
Real-Time Analysis Software (RTA)	NovaSeq 6000Dx	Udfører primær analyse	Softwareprogrammet RTA konverterer de billeder, som NVOS genererer af hver felter pr. cyklus i sekventeringskørslen, til basebestemmelsesfiler. Basebestemmelsesfilerne fungerer som input til programmodulerne i Illumina DRAGEN server til NovaSeq 6000Dx. Softwareprogrammet RTA har ikke en brugergrænseflade.
Illumina Run Manager	Illumina DRAGEN-server	Kontrollerer kørselskonfiguration og -styring	Illumina Run Manager giver bruger- og instrumentstyring, hoster programsoftwaren og muliggør brugen af DRAGEN hardwareaccelererede, genomiske, sekundære analysemoduler.

## Driftsbetingelser

Du kan finde yderligere oplysninger om driftsbetingelserne i afsnittet Miljømæssige overvejelser i *Produktokumentation til NovaSeq 6000Dx-instrumentet*.

Element	Specifikation
Temperatur	Oprethold en laboratorietemperatur på 19 °C til 25 °C (22 °C ±3 °C). Denne temperatur er instrumentets driftstemperatur. Under en kørsel må omgivelsestemperaturen ikke variere mere end ±2 °C.
Luftfugtighed	Oprethold en ikke-kondenserende relativ fugtighed på 20-80 %. Systemet skal bruges på et sted, der ikke er mere end 2.000 meter over havets overflade.

## Materialer og udstyr

Dette afsnit angiver alle de nødvendige ting til en NovaSeq 6000Dx-sekventeringskørsel. Dette inkluderer materialer og hjælpematerialer fra Illumina, og udstyr som du skal købe fra andre leverandører. Disse ting er nødvendige for at kunne gennemføre protokollen og udføre vedligeholdelses- og fejlfindingsprocedurer.

Se [Illumina IVD Symbol Key \(Illumina IVD-symbolnøgle\) \(dokumentnr. 100000039141\)](#) for oplysninger om symbolerne på materialerne og materialernes emballage.

## Sekventeringsmaterialer

En NovaSeq 6000Dx-kørsel kræver følgende komponenter:

- Bufferkassette
- Clusterkassette
- Flowcelle
- Biblioteksør
- SBS-kassette

NovaSeq 6000Dx-materialerne er emballeret i følgende konfigurationer. Hver komponent bruger radiofrekvensidentifikation (RFID) for nøjagtigt at kunne spore materialerne og tjekke kompatibilitet.

Tabel 1 Materialer leveret fra Illumina

Sætnavn	Indhold	Illumina-katalognummer
NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser)	S2 clusterkassette S2 flowcelle S2 SBS-kassette	20046931
NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser)	S4 clusterkassette S4 flowcelle S4 SBS-kassette	20046933
NovaSeq 6000Dx S2 bufferkassette	S2 bufferkassette	20062292
NovaSeq 6000Dx S4 bufferkassette	S4 bufferkassette	20062293
NovaSeq 6000Dx biblioteksør	Enkelt biblioteksør	20062290
NovaSeq 6000Dx biblioteksør, 24 stk.	24 biblioteksør	20062291

Når du modtager materialerne, skal de omgående sættes til opbevaring ved de anviste temperaturer, for at sikre korrekt ydelse.



Tabel 2 NovaSeq 6000Dx Kitopbevaring

Materiale	Stk.	Opbevaringstemperatur	Længde	Bredde	Højde
Flowcelle	1	2 °C til 8 °C	27,7 cm (10,9 tommer)	17 cm (6,7 tommer)	3,8 cm (1,5 tommer)
Clusterkassette	1	-25°C til -15°C	29,5 cm (11,6 tommer)	13 cm (5,1 tommer)	9,4 cm (3,7 tommer)
SBS-kassette	1	-25°C til -15°C	30 cm (11,8 tommer)	12,4 cm (4,9 tommer)	11,2 cm (4,4 tommer)
Bufferkassette	1	15 °C til 30 °C	42,2 cm (16,6 tommer)	20,6 cm (8,1 tommer)	21,1 cm (8,3 tommer)
Biblioteksør	1	15 °C til 30 °C	4,1 cm (1,6 tommer)	2,3 cm (0,9 tommer)	12,4 cm (4,9 tommer)

## Oplysninger om materialer

Flowceller og kassetter er mærket med symboler, der viser sættilstanden, så man kan identificere kompatible sætkomponenter.

Tabel 3 Kompatibilitetsmærkning

Sættilstand	Markering på mærkat	Beskrivelse
S2 sætkomponenter		S2 flowcellen genererer op til 4,1 milliarder enkelte læsninger, der passerer filteret, med output på op til 1.000 Gb ved 2 x 150 bp. S2 flowcellen giver hurtig sekventering for de fleste high-throughput-programmer.
S4 sætkomponenter		S4 flowcellen genererer op til 10 milliarder enkelte læsninger, der passerer filteret, med output på op til 3.000 Gb ved 2 x 150 bp. S4 flowcellen er en version af flowcellen med fire baner, der er designet til maksimalt output.

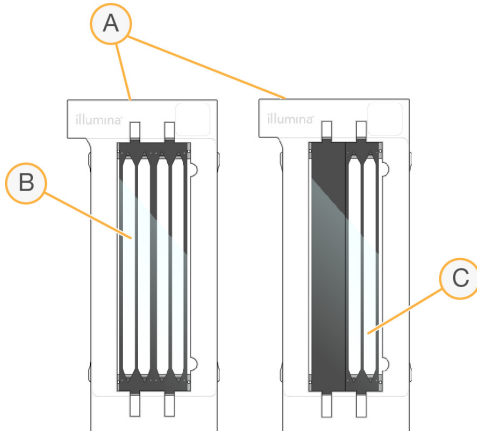
## Flowcelle

Flowcellen NovaSeq 6000Dx er en mønstret flowcelle, der er indeholdt i en kassette. Flowcellen er et glasbaseret substrat indeholdende milliarder af nanobrønde på en ordnet måde. Clustrene genereres i nanobrøndene, hvor fra sekventeringen derefter udføres.

Hver flowcelle har flere baner til sekventering af samlet biblioteker. S2 flowcellen har to baner, og S4 flowcellen har fire. Hver bane fotograferes i flere udsnit, og softwaren dividerer derefter billedet af hvert udsnit i mindre dele, der kaldes for felter.

Det er normalt, at der kan forekomme nogle ridser eller mindre kosmetiske defekter på flowcellen, og det burde ikke kompromittere datakvaliteten og resultatet. Illumina anbefaler, at disse flowceller bruges på normal vis.

Figur 1 Flowceller



- A. Flowcellekassette
- B. Flowcelle med fire baner (S4)
- C. Flowcelle med to baner (S2)

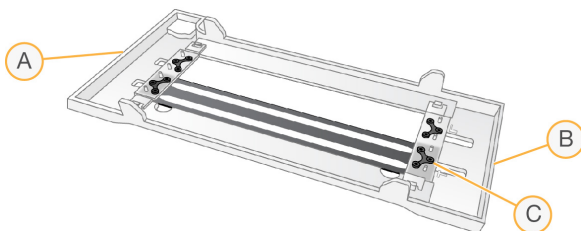
Undersiden af hver flowcelle har flere tætninger. Biblioteker og reagenser kommer ind på flowcellens baner gennem tætningerne på flowcellens indgangsende. Brugte reagenser føres væk fra banerne gennem tætningerne ved udgangsenden.



## FORSIGTIG

Undlad at røre ved tætningerne under håndtering af flowcellen.

Figur 2 Flowcelle set på hovedet



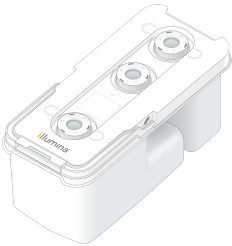


- A. Udgangsende
- B. Indgangsende
- C. Tætning (en af fire)

## Oplysninger om buffer-, cluster- og SBS-kassette

NovaSeq 6000Dx buffer-, cluster- og SBS-kassetterne har folieforseglede reservoirer, der er forfyldt med reagenser, buffere og vaskeopløsning. Der følger cluster- og SBS-kassetter med NovaSeq 6000Dx reagenssættene. Bufferkassetten sælges separat.

Kassetterne sættes direkte ind i instrumentet og er farvekodede og mærket for at forebygge forkert isætning. Guiderne i reagenskøleren og bufferskufferne sikrer isætning i korrekt retning.

Tabel 4 NovaSeq 6000Dx-kassetter

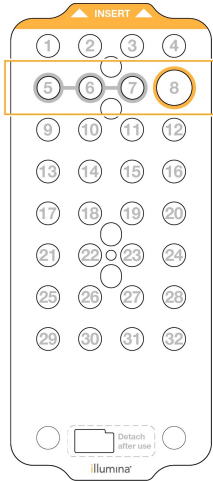
Materiale	Beskrivelse
 <p>Bufferkassette</p>	<p>Forfyldt med sekventeringsbuffere og vejer op til 6.8 kg (15 lb). Et plastikhåndtag gør dem nemme at bære, sætte i og tage ud.</p> <p>Bufferkassetterne indeholder reagenser, der er lysfølsomme. Åbn ikke bufferbeholderens emballage, før den skal bruges.</p>
 <p>Clusterkassette</p>	<p>Forfyldt med cluster-, indeks- og paired end-reagenser og vaskeopløsning. Inkluderer en designeret placering til biblioteksrøret. Orange mærkning gør det nemt at skelne clusterkassetten fra SBS-kassetten.</p> <p>En denatureringsreagens i position 30 indeholder formamid, hvilket er en organisk amid og et reproduktivt giftstof. Reservoirer kan tages ud, så ikke anvendt reagens nemmere kan bortskaffes på sikker vis efter sekventeringskørslen.</p>
 <p>SBS-kassette</p>	<p>Forfyldt med sekventeringsreagenser i voluminer, der er specifikke for det antal cyklusser, som sættet understøtter. Hver af de tre reagensplaceringer har en tilstødende position reserveret til den automatiske vask efter kørslen. Grå mærkning gør det nemt at skelne SBS-kassetten fra clusterkassetten.</p> <p>SBS-kassetterne indeholder reagenser, der er lysfølsomme. Åbn ikke SBS-beholderens emballage, før den skal bruges.</p>

## Reserverede reservoirer til clusterkassetter

Der er reserveret tre reservoirer til brugerdefinerede primere, og en tom position er reserveret til biblioteksrøret. Biblioteksrøret sættes i clusterkassetten under kørselskonfiguration og forbliver med kassetten under hele kørslen, for at prøven kan spores.



Figur 3 Nummererede reservoirer



Tabel 5 Reservoarer til clusterkassetter

Position	Reserveret til
5, 6 og 7	Valgfri brugerdefinerede primere
8	Biblioteksør

## Brugerleverede materialer og udstyr

Tabel 6 Materialer

Materiale	Leverandør	Formål
Centrifugebeholder, 500 ml	Almen laboratorieleverandør	Fortynding af Tween 20 til en vedligeholdelsesvask.
Centrifugerør, 30 ml	Almen laboratorieleverandør	Fortyndende NaOCl til en vedligeholdelsesvask.
Engangshandsker, pudderfri	Almen laboratorieleverandør	Universel brug.
Servietter med isopropylalkohol, 70 % eller Servietter med ethanol, 70 %	VWR, katalognr. 95041-714, eller tilsvarende Almen laboratorieleverandør	Rengøringskomponenter før en kørsel og almene formål.
Laboratorieserviet, fnugfri	VWR, katalognr. 21905-026, eller tilsvarende	Tørring af flowcelleholderen og almene formål.

Materiale	Leverandør	Formål
Reagens grad NaOCl, 5 %	Sigma-Aldrich, katalognr. 239305	Foretagelse af en vedligeholdelsesvask.
Pipettespidser, 2 µl	Almen laboratorieleverandør	Pippetering til fortynding og overførsel af biblioteker.
Pipettespidser, 20 µl	Almen laboratorieleverandør	Pippetering til fortynding og overførsel af biblioteker.
Pipettespidser, 200 µl	Almen laboratorieleverandør	Pippetering til fortynding og overførsel af biblioteker.
Pipettespidser, 1.000 µl	Almen laboratorieleverandør	Pippetering til fortynding og overførsel af biblioteker.
Reagens eller spektrofotometrisk grad isopropylalkohol (99 %), 100 ml beholder	Almen laboratorieleverandør	Periodisk rengøring af optikkomponenter og understøtte den objektive rengøringskassette.
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalognr. P7949	Foretagelse af en vedligeholdelsesvask.
Laboratorievand	Almen laboratorieleverandør	Fortynding af Tween 20 og natriumhypochlorit til en vedligeholdelsesvask.

Tabel 7 Udstyr

Artikel	Kilde
Fryser, -25 °C til -15 °C	Almen laboratorieleverandør
Gradueret cylinder, 500 ml, steril	Almen laboratorieleverandør
Isspand	Almen laboratorieleverandør
Pipette, 20 µl	Almen laboratorieleverandør
Pipette, 200 µl	Almen laboratorieleverandør
Pipette, 1.000 µl	Almen laboratorieleverandør
Køleskab, 2 °C til 8 °C	Almen laboratorieleverandør
Kar, vandbade*	Almen laboratorieleverandør

\* Brug et kar, hvor der er plads til to reagenskassetter og den relevante mængde vand. For eksempel (61 cm × 91,4 cm × 25,4 cm) (24 tommer × 36 tommer × 10 tommer).

## Retningslinjer for laboratorievand

Der skal altid anvendes vand af laboratoriekvalitet eller deioniseret vand til udførelse af procedurer på instrumentet. Brug aldrig postevand. Anvend kun vand af følgende kvalitet eller tilsvarende:

- Deioniseret vand
- Illumina PW1
- 18 megohms (MΩ) vand
- Milli-Q-vand
- Super-Q-vand
- Vand af molekylærbiologisk kvalitet

## Brugervejledning

Følgende instruktioner gælder for kørsel af NovaSeq 6000Dx-instrument i IVD-driftstilstand ved brug af enten S2 eller S4 sætkonfigurationer.

## Oprettelse af en sekventeringskørsel

Brug følgende trin til at oprette en kørsel ved brug af Illumina Run Manager enten i tilstanden IVD eller RUO. Eller vælg **Import Run** (Importér kørsel) på fanen Planned (Planlagt) på siden Runs (kørsler), og importér prøvearket. Opret nye kørsler enten på instrumentet eller ved at åbne Illumina Run Manager på en browser på en netværksforbundet computer.

**BEMÆRK** De nøjagtige oplysninger, der er påkrævet i de forskellige analyseprogrammer kan variere, men processen til at oprette en kørsel inkluderer følgende trin.

1. Vælg **Create Run** (Opret kørsel) under fanen Planned (Planlagt) på skærmen Runs (Kørsler).
2. Vælg et program, og vælg så **Next** (Næste).
3. Fortsæt gennem indstillingsskærmene. Afhængigt af det valgte program, kan de viste skærbilleder inkludere følgende:
  - **Run Settings** (Kørselsindstillinger) - Indlæs kørselens parametre.
  - **Sample Data** (Prøvedata) - Indlæs prøvedataene manuelt eller ved at importere en CSV-fil med prøveoplysningerne. Prøvenavnene skal være unikke.
  - **Analysis settings** (Analyseindstillinger) - Indtast indstillingerne for analysen.
4. Gennemgå kørselsoplysningerne på skærmen Review (Gennemse), og vælg **Save** (Gem). Kørslen tilføjet øverst på listen over kørsler på fanen Planned (Planlagt).

## Klargøring af materialer

### Optø SBS- og clusterkassetterne

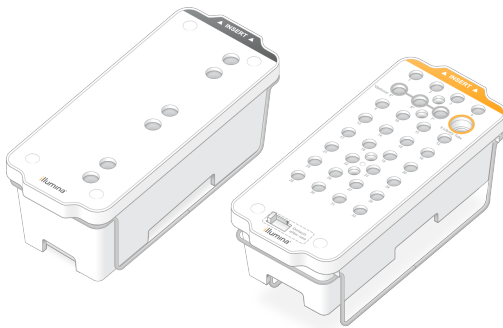


#### FORSIGTIG

Brug af meget varmt vand til at optø reagenserne kan forårsage reduceret datakvalitet eller fejl i kørslen.

1. Hvis en sekventeringskørsel er i gang, skal det sikre, at begge instrumentets sider er tilgængelige, når optøningen er færdig.
2. Tag SBS- og clusterkassetterne ud af fryseren (-25 °C til -15 °C).
3. Anbring hver kassette i et trådstativ til optøning.  
Stativerne følger med instrumentet og forebygger kæntring i vandbadet.

Figur 4 Kassetterne i trådstativerne til optøning



4. Brug følgende tabel til at bestemme optøningsvarigheden.  
Optø SBS- og clusterkassetterne i et vandbad med vand ved stuetemperatur (19 °C til 25 °C) på følgende måde. Nedsenk kassetterne ca. halvvejs.

Kassette	Varighed af optøning
S2 SBS-kassette	4 timer
S2 clusterkassette	Op til 2 timer
S4 SBS-kassette	4 timer
S4 clusterkassette	Op til 4 timer



#### FORSIGTIG

Hvis sekventering ikke startes inden for fire timer efter optøning af reagenskassetterne, kan det resultere i reduceret datakvalitet.

5. Tør bunden af kassetterne ordentligt med papirservietter. Tør mellem brøndene, så alt vand fjernes.

- Efterse folieforseglingerne for vand. Hvis der er vand, så dup med fnugfrit papir.
- Efterse undersiden af hver kassette for at sikre, at reservoirerne er fri for is, hvilket betyder, at reagenserne er optøet.
- Vend hver kassette 10 gange for at blande reagenserne.

**FORSIGTIG**

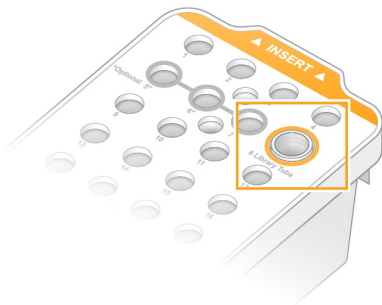
Hvis kassetterne ikke vendes alle 10 gange, kan det resultere i reduceret datakvalitet.

- Bank forsigtigt bunden af hver kassette mod laboratoriebænken for at reducere luftbobler.

**Isætning af biblioteksrøret**

- Sæt det åbne biblioteksrør med den denaturerede og fortyndede bibliotekspulje i **biblioteksrør**-position (8) i clusterkassetten uden af forstyrre biblioteket på bunden.
- Sæt biblioteksrøret i position 8 i clusterkassetten.

Figur 5 Åbent biblioteksrør isat i position 8

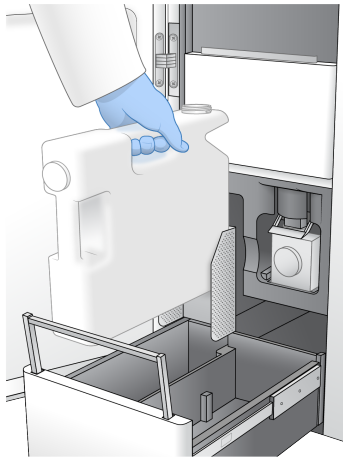
**Tømning af beholdere til brugt reagens**

Følg nedenstående anvisninger for at tømme beholderne til brugt reagens før *hver* sekventeringskørsel. Hvis systemet er konfigureret til at overføre brugte reagenser eksternt, opsamler den lille beholder brugte reagenser og skal tømmes før hver sekventeringskørsel. Den store beholder skal være på plads.

- Fjern og tøm den lille beholder til brugt reagens på følgende måde.
  - Løft op i grebet, og fjern den lille beholder til brugt reagens fra rummet. Tag fat om beholderens sider.
  - Fjern skruelåget fra lågholderen foran på beholderen.
  - Forsegl beholderens åbning med låget for at undgå spild.
  - Hold indholdet separat fra indholdet i den anden beholder, og bortskaf det i henhold til de gældende kliniske retningslinjer.
  - Sæt den åbne beholder tilbage i rummet, og tryk håndtaget ned. Opbevar låget på lågholderen.
- Fjern og tøm den store beholder til brugt reagens på følgende måde.

- Brug det øverste håndtag, og fjern den store beholder til brugt reagens fra bufferskuffens venstre side.
- Fjern skruelåget fra lågholderen foran på beholderen.
- Forsegl beholderens åbning med låget for at undgå spild.
- Bortskaf indholdet i henhold til de gældende standarder i jeres region. Hold fast i begge håndtag, mens den tømmes.
- Sæt den åbne beholder tilbage i bufferskuffen. Opbevar låget på lågholderen.

Figur 6 Tilbagesætning af den tomme beholder



- Tag et par nye pudderfri handsker på.

**FORSIGTIG**

Tag altid et par nye handsker på efter håndtering af beholderen til brugt reagens.

- Luk bufferskuffen, og luk herefter dørene til væskekommeret.

**FORSIGTIG**

Hvis beholderne til brugt reagens ikke bliver tømt, kan det forårsage en afbrudt kørsel og overløb, hvilket beskadiger instrumentet og udgør en sikkerhedsmæssig risiko.

### Klargør flowcelle

- Tag en æske med en ny flowcelle ud af køleskabet (2°C til 8°C).
- Lad den forseglede flowcelleæske stå ved omgivende temperatur (19 °C til 25 °C) i 10-15 minutter.  
Brug flowcellen inden for 12 timer, efter at den er taget ud af æsken.

## Isætning af materialer

Brug nedenstående anvisninger til at starte konfiguration af kørsel og isætte materialer.

1. Vælg **Sequence** (Sekvens) på hovedmenuen, og vælg derefter en enkel eller dobbelt flowcellekørsel på følgende måde.
  - **A+B** - Konfiguration af en dobbelt flowcellekørsel.
  - **A** - Konfiguration af en enkelt flowcellekørsel på A-siden.
  - **B** - Konfiguration af en enkelt flowcellekørsel på B-siden.Systemet initierer kørselskonfiguration ved først at overføre flowcellen.
2. Vælg **OK** for at bekræfte advarslen og åbne flowcelledøren.



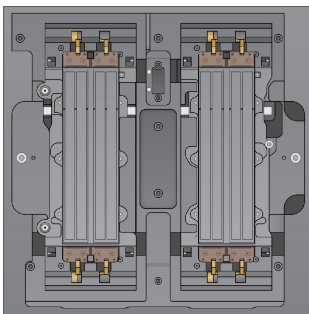
### FORSIGTIG

Hold overfladen fri under sekventeringskørslen, og læn dig ikke op af instrumentet. Tryk på flowcelledøren kan få den til at åbne sig, hvilket stopper kørslen. En stoppet kørsel kan ikke genoptages.

## Isætning af flowcellen

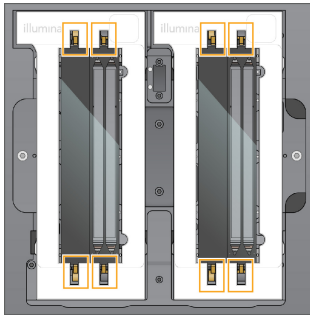
1. Hvis flowcellen fra den tidligere kørsel er til stede, skal den fjernes.
2. Hvis der ses snavs på flowcelleholderen, skal hele holderen rengøres, herunder fluidikgrænsefladen og glasfladen på det optiske justeringsmål, med en spritserviet. Tør af med et fnugfrit papirprodukt.

Figur 7 Flowcelleholder



3. Tag flowcellen ud af emballagen på følgende måde.
  - a. Tag et par nye pudderfri handsker på for at undgå at kontaminere flowcellens glasflade.
  - b. Hold emballagen over en plan flade, og træk folien væk ved hjælp af fligen i hjørnet.
  - c. Fjern det gennemsigtige plastikstykke, der dækker flowcellen.
  - d. Tag flowcellen ud af emballagen. Hold fat i siderne på flowcellen for at undgå at røre ved glasset eller tætningerne på undersiden.
  - e. Hvis der ses snavs på en af glasfladerne, skal den relevante flade tørres af med en fnugfri spritserviet og derefter med et lavtfnuggende laboratoriepapirprodukt.
  - f. Bortskaf emballagen på korrekt vis.
4. Ret flowcellen ind over de fire hævede klemmer, og anbring den på flowcelleholderen.

Figur 8 Isatte flowceller rettet ind over klemmerne



5. Vælg **Close Flow Cell Door** (Luk flowcelledøren).  
Flowcelledøren lukker, sensorerne og RFID kontrolleres, og flowcelle-ID'et vises på skærmen.

## Isætning af SBS- og clusterkassetter

1. Åbn væskekommerdørene, og åbn så reagenskølerdøren.
2. Fjern de brugte SBS- og clusterkassetter fra sidste kørsel, hvis der er nogen.  
De brugte kassetter har gennemborede folieforseglinger.
3. Ikke anvendt indhold bortskaffes i overensstemmelse med gældende standarder.  
Se [Fjern position 30 på side 20](#) for oplysninger om sikker bortskaffelse af clusterkassetten position 30.
4. Sæt de forberedte kassetter i reagenskølerskuffen på følgende måde, så isætningsmærkatene vender mod instrumentets bagside.
  - Anbring SBS-kassetten (grå mærkat) i den venstre position.
  - Anbring clusterkassetten (orange mærkat) med det åbne biblioteksrør i højre position.

Figur 9 Isatte reagenskassetter



5. Skub skuffen ind i køleren, og luk derefter døren til reagenskøleren.  
Sensorerne og RFID'erne kontrolleres. ID'erne for biblioteksrøret og de to kassetter vises på skærmen.

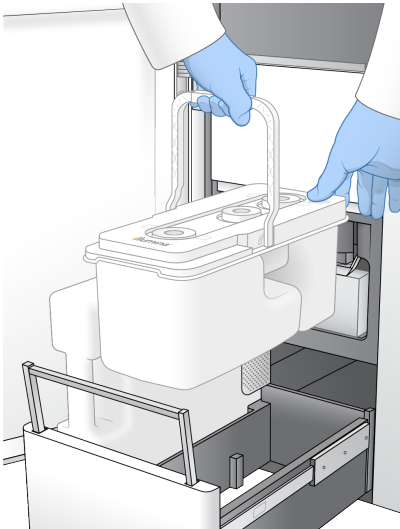
## Isætning af bufferkassetten

1. Træk i metalhåndtaget for at åbne bufferskuffen.



2. Tag den brugte bufferkassette ud fra højre side i bufferskuffen.  
Den brugte bufferkassette har gennemborede folieforseglinger.
3. Anbring en ny bufferkassette i bufferskuffen, så Illumina-mærkatens venter mod skuffens forende. Ret kassetten ind med de hævede guider på skuffens bund og sider.  
Når bufferkassetten er sat korrekt i, sidder den lige, og skuffen kan lukkes.

Figur 10 Isætning af bufferkassetten



4. Hvis begge beholdere til brugt reagens er blevet tømt, skal du vælge afkrydsningsfeltet, der bekræfter at begge beholdere til brugt reagens er tomme.

**BEMÆRK** Hvis beholderne til brugt reagens ikke bliver tømt, kan det forårsage en afbrudt kørsel og overløb, hvilket beskadiger instrumentet og udgør en sikkerhedsmæssig risiko.

5. Vælg **Run Selection** (Kør valg), når materialerne er blevet tilsat.

## Vælg og start kørsel

Instrumentet scanner biblioteksrets ID og søger efter en matchende planlagt kørsel.

1. Hvis en planlagt kørsel, der matcher biblioteksrets ID, findes for hver side der bruges, springes valg af kørsel over. Vælg **Review** (Gennemse) for at fortsætte.
2. Hvis der ikke er nogen matchende kørsel for den ene eller begge sider, så vælg **Run Selection** (Valg af kørsel), og vælg derefter en eller flere planlagte kørsler.  
Den samme planlagte kørsel kan ikke vælges på begge sider.
3. Når en eller flere kørsler er valgt, vælg **Pre-Run Checks** (Prækørselskontroller).
4. Vent ca. 5 minutter på at prækørselskontrollerne er udført.  
Kørslen starter automatisk efter vellykket udførelse.

**BEMÆRK** For at undgå at overfylde harddrevet, må der ikke kopieres data til C:\, efter at kørslen starter.

## Fejl i forbindelse med prækørselskontrol

1. Hvis prækørselskontrollerne mislykkes på grund af en sensorfejl, som f.eks. flowcelle ikke detekteret, skal du lukke og genstarte arbejdsgangen.
2. I tilfælde af andre fejl i forbindelse med prækørselskontrol, vælg **Retry** (Prøv igen) for at genstarte den mislykkede kontrol eller **Retry All** (Prøv alle igen) for at genstarte alle kontroller. Fejl skal løses, før kørslen kan starte.
3. Vælg ikonet **Error** (Fejl) for at se oplysninger om fejlen.
4. Hvis alignment-kontrol ikke lykkes, skal fejlen løses på følgende måde.
  - a. Vælg **Reload** (Isæt igen), og tryk derefter på **OK** for at vende tilbage til skærmen Load (Isæt).
  - b. Fjern eventuelle ting fra instrumentets top, og vælg derefter **OK**. Flowcelledøren åbnes.
  - c. Sæt flowcellen i igen, og vælg så **Run Setup** (Konfiguration af kørsel).
  - d. Fortsæt gennem de forskellige skærme for igen at læse hver RFID, og vend tilbage til skærmen Pre-Run Checks (Prækørselskontroller).
  - e. Udfør kontrollen igen.

## Overvågning af kørselsstatus






Nedenstående oplysninger vises på skæmbilledet Sequencing (Sekventering), når en kørsel er igang. Skæmbilledet Sequencing (Sekventering) tilgås via hovedmenuen.

- **Status for individuelle kørselstrin**
- **Time to completion** (Sluttidspunkt) - Kørslens slutdato og klokkeslæt. (åååå-mm-dd tt:mm).
- **Run progress** (Kørselsstatus) - Kørslens aktuelle trin. Statuslinjens størrelse er ikke proportionel med kørselshastigheden på hvert trin.
- **Q-Scores** (Q-Scorer) – Tildelingen af kvalitetsscorer (Q-scorer).
- **Intensity** (Intensitet) – Viser 90-percentilens clusterintensitetsværdi for hvert felt. Plotfarver indikerer de røde og grønne kanaler.
- **Clusters Passing Filter (%)** (Clustre, der passerer filteret (%)) – Procentdelen af clustre, der passerer filteret.
- **Projected Total Yield (GB)** (Forventet samlet resultat) - Det forventede resultat fra flowcellekørslen. Hvis pr. bane-målingerne er valgt (H), vil de tal, der vises, være det aktuelle resultat pr. bane og opdatere pr. cyklus under hele kørslen.
- **Q30** - Procentdelen af basebestemmelser for kørslen, der har en Q-score på  $\geq 30$ .

## Statusikoner

Et statusikon på NVOS-grænsefladen indikerer kørslens status. Et tal på ikonet angiver antallet af betingelser for en status.

Når status for en kørsel ændres, blinker ikonet. Tryk på ikonet for at se en beskrivelse af tilstanden. Vælg **Acknowledge** (Bekræft) for at rydde beskeden, og vælg derefter **Close** (Luk) for at lukke dialogboksen.

Statusikon	Statusnavn	Beskrivelse
	Status okay	Systemet er normalt.
	Behandler	Systemet behandler.
	Advarsel	Der er forekommet en advarsel og opmærksomhed er påkrævet. Advarsler stopper ikke kørslen og kræver ingen handling, før der fortsættes.
	Fejl	Der er opstået en fejl. Fejl kræver handling, inden der fortsættes med kørslen.
	Oplysninger	En ikke-kritisk meddelelse er tilgængelig.

## Kørselsmålinger

Softwaren viser de målinger, der genereres under kørslen. Målinger vises i form af plots, grafer og tabeller på baggrund af data genereret af RTA3 og skrevet til InterOp-filer.

Clusterdannelse tager ca. 2 timer, og derefter begynder sekventeringen med cyklus 1. Målinger opdateres i løbet af sekventeringen. De clustre der passerer filteret, resultat og kvalitetsscorer er tilgængelige efter cyklus 26. Der vil ikke blive beregnet værdier ifør cyklus 26, og de vil være angivet som ikke relevante.

## Efter sekventering

De følgende afsnit indeholder anvisninger i de trin, der vil finde sted, når sekventeringen er færdig.

### Automatisk vask efter kørslen

Når sekventeringen er færdig, igangsætter softwaren en automatisk vask efter kørslen, som vil tage ca. 80 minutter. Systemet pumper 0,24 % natriumhypochlorit (NaOCl) fra position 17 og fortynder det til 0,12 %. Den 0,12 % NaOCl pumpes til ExAmp-reagens- og biblioteksplaceringerne, gennem flowcellen og derefter til beholderne til brugt reagens. Vaskens skyller skabelonen fra systemet for at forebygge krydskontaminering.

Når vasken er færdig, sættes systemet i en sikker tilstand, og knappen Home (Startside) bliver aktiv. Lad materialerne blive i instrumentet, indtil næste kørsel. Efter vasken bliver sugerørene siddende i SBS- og clusterkassetterne for at forhindre, at der kommer luft ind i systemet. Sugereørene i bufferkassetten hæves, så beholderne til brugt reagens kan tømmes. Der pumpes nu vaskebuffer gennem alle slanger for at fjerne NaOCl og reagenser fra systemet.

**BEMÆRK** Hvis der opstår en fejl under en automatisk vask efter kørsel, og vasken efter kørslen ikke gennemføres, skal der køres en vedligeholdelsesvask.

### Fjern position 30

Reservoiret i position 30 på clusterkassetten indeholder formamid. Det fjernes fra den brugte clusterkassette og bortskaffes separat.



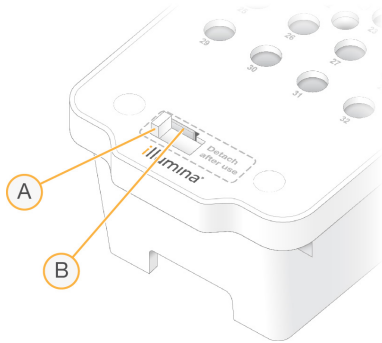
#### FORSIGTIG

**Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).**

1. Bær handsker, og skub det hvide plastikstykke mærket **Fjern efter brug** til højre.
2. Anbring en hånd eller fast flade under reservoiret, og tryk det hvide plastikstykke mod Illumina-mærkaten for at frigøre reservoiret fra under clusterkassetten.

**BEMÆRK** Clusterkassetterne må ikke stables under opbevaring. Stabling kan forårsage utilsigtet frigørelse af reservoiret.

Figur 11 Udtagelig position 30



- A. Hvidt plastikstykke til fjernelse
- B. Gennemsigtigt plastikstykke til frigørelse

3. Bortskaf reservoiret i overensstemmelse med gældende standarder.

## Sekventeringsoutput

Data overføres automatisk fra NovaSeq 6000Dx-instrument til Illumina DRAGEN-server under sekventering. Når den primære analyse er færdig, og overførslen af data er gennemført, kan den sekundære analyse på Illumina DRAGEN-server automatisk begynde ved brug af de analysevalgmuligheder, der er defineret af det program, der er valgt i Illumina Run Manager. De opnåede resultater afhænger af de valgmuligheder, der er valgt under konfiguration af kørslen. Vælg navnet på den ønskede kørsel under fanen Completed (Udført) på skærmen Runs (Kørsler) for at se resultaterne af en kørsel. Du kan også finde outputfiler på den placering, der er angivet på skærmen Instrument Settings (Instrumentindstillinger).

## Real-Time Analysis

NovaSeq 6000Dx-instrument kører RTA3, en implementering af Real-Time Analysis software, på instrumentet Compute Engine (CE). RTA3 ekstraherer intensiteter fra de billeder, den har modtaget fra kameraet, udfører basebestemmelse, tildeler en kvalitetsscore til basebestemmelserne, sammenligner med PhiX og rapporterer data i InterOp-filer.

For at optimere behandlingstiden lagrer RTA3 oplysningerne i hukommelsen. Hvis RTA3 bliver afbrudt, bliver behandlingen ikke genoptaget, og kørselsdata under behandling i hukommelsen går tabt.

### RTA3 input

RTA3 kræver feltbillederne i den lokale systemhukommelse til behandling. RTA3 modtager kørselsoplysninger og kommandoer fra NVOS.

## RTA3-output

Billeder af hver farvekanal bliver gemt til RTA3 som felter. Ud fra disse billeder frembringer RTA3 et sæt basebestemmelsesfiler med kvalitetsscore og filterfiler. Alle andre output er understøttende outputfiler.

Filtype	Beskrivelse
Basebestemmelsesfiler	Hvert analyseret felt inkluderes i en basebestemmelsesfil (*.cbcl). Felter fra samme bane og overflade bliver aggregeret i en.CBCL-fil for hver bane og overflade.
Filterfiler	Hvert felt frembringer en filterfil (*.filter), som angiver om en cluster passerer filtrene.

RTA3 giver målinger i realtid af kørselskvalitet lagret som InterOp-filer, hvilket er binære outputfiler, der indeholder felt, cyklus og læsningsniveau.

## Fejlhåndtering

RTA3 opretter logfiler og gemmer dem i mappen Logs. Fejl bliver registreret i en tekstfil i filformatet \*.log. Følgende logfiler bliver overført til den endelige outputplacering efter endt behandling:

- `info_00000.log` opsummerer vigtige kørselshændelser.
- `error_00000.log` indeholder en liste over de fejl, der opstod under en kørsel.
- `warning_00000.log` indeholder en liste over advarsler, der opstod under en kørsel.

## Flowcellefelter

Felter er små billedoptagelsesområder på flowcellen. Kameraet tager et billede af hvert udsnit, som softwaren dividerer til felter til RTA3-behandling. Det samlede antal felter afhænger af hvor mange baner, udsnit og overflader der fotograferes på flowcellen.

- S2 flowcellerne har i alt 1.408 felter.
- S4 flowcellerne har i alt 3.744 felter.

Flowcellekomponent	S2	S4	Beskrivelse
Baner	2	4	En bane er en fysisk kanal med input- og outputporte.
Overflader	2	2	S2 og S4 flowcellerne bliver fotograferet på to overflader: toppen og bunden. Den øverste overflade af et felt bliver fotograferet først.
Udsnit pr. bane	4	6	Et udsnit er en kolonne i en flowcellebane, som kameraet fanger som et scannet billede.
Felter pr. udsnit	88	78	Et felt er en del af et udsnit og viser et billedområde på flowcellen.

Flowcellekomponent	S2	S4	Beskrivelse
Genererede felter i alt	1.408	3.744	Baner × overflader × udsnit × felter pr. udsnit = antal felter i alt.

Feltnavnet er et femcifret tal, der afspejler feltets placering på flowcellen. Eksempel: Feltnavn 1\_1205 angiver bane 1, øverste overflade, udsnit 2, felt 5.

- Det første tal er banens nummer:
  - 1 eller 2 for en S2 flowcelle.
  - 1, 2, 3 eller 4 for en S4-flowcelle.
- Det andet ciffer afspejler overfladen: 1 for toppen eller 2 for bunden.
- Det tredje ciffer afspejler udsnittets nummer:
  - 1, 2, 3 eller 4 for en S2 flowcelle.
  - 1, 2, 3, 4, 5 eller 6 for en S4-flowcelle.
- De sidste to cifre afspejler feltnummeret. Nummereringen starter med 01 i flowcellens udgangsende til og med 88 eller 78 i indgangsenden.
  - 01 til og med 88 for en S2 flowcelle.
  - 01 til og med 78 for en S4-flowcelle.

## Sekventeringsoutputfiler

Filtype	Filbeskrivelse, -placering og -navn
Basebestemmelsesfiler	Hver analyseret cluster inkluderes i en basebestemmelsesfil, aggregeret i én fil pr. cyklus, bane og overflade. Den aggregerede fil indeholder basebestemmelsen og den kodede kvalitetsscore for hver cluster. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, for eksempel L001_1.cbcl
Clusterplaceringsfiler	En binær clusterplaceringsfil for hver flowcelle indeholder X- og Y-koordinaterne for clustrene i et felt. Koordinaterne er foruddefinerede ud fra et sekskantet layout, der matcher layoutet af nanobrønde i flowcellen. Data\Intensities s_[lane].locs
Filterfiler	Filterfilen indeholder oplysninger om, hvorvidt en cluster passerede filtrene. Filterfilerne bliver genereret ved cyklus 26 på baggrund af data fra 25 cyklusser. Der genereres én filterfil for hvert felt Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter

Filtype	Filbeskrivelse, -placering og -navn
Kørselsoplysningsfil	Indeholder kørselsnavnet, antallet af cyklusser i hver læsning, oplysninger om, hvorvidt læsningen er en indeksslæsning, samt antallet af udsnit og felter på flowcellen. Kørselsoplysningsfilen konfigureres i starten af kørslen. [Root folder], RunInfo.xml
Miniaturefiler	Miniaturebilleder til første cyklus af hver sekventeringslæsning. Thumbnail_Images\L001\C[X.1] - Filerne lagres i en undermappe for hver cyklus. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg - Miniaturebilledet inkluderer feltnummeret.

## Sekventeringsoutputmappestruktur


NVOS genererer outputmappenavnet automatisk.

 **Config** (Konfiguration) - Konfigurationsindstillinger for kørslen.


 **Log** (Logfiler) - Logfiler der beskriver driftstrin, instrumentanalyser og RTA3 hændelser.


 SampleSheet.csv - Prøvearm eller anden vedhæftet fil, hvis relevant.


 **Data**

 **Intensities** (Intensiteter)


 **BaseCalls** (Basebestemmelser)

 **L00[X]** – Basebestemmelsesfiler (\*.cbcl) eller aggregeret i en fil pr. bane, overflade og cyklus.

 s.locs - Clusterplaceringsfilen for kørslen.

 **InterOp** – Binære filer.

 **Recipe** (Opskrift) - Kørselsspecifik opskriftsfil.

 **Thumbnail Images** (Miniaturebilleder) - Miniaturebilleder for hver 10. felt.

 **LIMS** - Kørselens konfigurationsfil (\*.json), hvis relevant.

 **Audit**

 AuditInfo.xml

 RTA3.cfg

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml


 RTAComplete.txt

 CopyComplete.txt

 SequenceComplete.txt

 IlluminaRunManagerCopyComplete.txt



 Manifest.tsv

## Advarsler og forsigtighedsregler



### FORSIGTIG

I henhold til amerikansk forbundslov må dette udstyr kun sælges på recept fra en læge eller anden behandler, med lovlig autorisation til at anvende eller ordinere anvendelse af udstyret i den stat, hvor vedkommende praktiserer.

- **Nogle af reagensdelene, der leveres af Illumina til brug sammen med NovaSeq 6000Dx-instrument-instrumentet, indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger.** Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).
- Manglende overholdelse af de beskrevne fremgangsmåder kan resultere i fejlagtige resultater eller betydeligt nedsat prøve kvalitet.
- Overhold laboratoriets rutinemæssige forholdsregler. Må ikke pipetteres med munden. Der må ikke indtages mad og drikke eller ryges i arbejdsområderne. Anvend engangshandsker og laboratoriekittel i forbindelse med håndtering af prøver og reagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og reagenser.
- Der skal anvendes korrekt laboratoriepraksis og god laboratoriehygiejne for at forhindre, at PCR-produkterne kontaminerer reagenser, instrumenter og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminering kan forårsage unøjagtige og upålidelige resultater.
- For at forhindre kontaminering skal det sikres, at de områder, der anvendes før og efter opformeringen, har udstyr og materialer, der er dedikeret til formålet (f.eks. pipetter, pipettespidser, varmeblokke, vortex-blandere og centrifuger).
- Indeks til prøveparring kræver at det trykte pladelayout matches nøjagtigt. DNA-forberedelse med berigelsesprogram danner automatisk de indeksprimere, der er forbundet med prøvenavnene, når de indlæses under konfiguration af kørslen. Brugeren bør kontrollere de indeksprimere, der er knyttet til prøverne, inden sekventeringskørslen startes. Uoverensstemmelser mellem prøven og pladelayoutet resulterer i manglende positiv prøveidentifikation og ukorrekt resultatrapportering.
- Installation af brugerleveret antivirus-software, for at beskytte computeren mod vira, tilrådes på det kraftigste.
- NovaSeq 6000Dx må ikke betjenes, hvis et eller flere af panelerne er blevet fjernet. Betjening af instrumentet uden et eller flere af panelerne kan medføre eksponering for netspænding og DC-spænding.
- Rør ikke ved flowcelleholderen i flowcellekammeret. Varmelegemet i dette kammer har en driftstemperatur på 22 °C til 95 °C og kan forårsage forbrændinger.

- Instrumentet vejer ca. 480 kg (1.059 lbs) og kan forårsage alvorlig skade, hvis det tabes eller håndteres forkert.

## Karakteristika for ydeevne

NovaSeq 6000Dx-instrumentets karakteristika for ydeevne blev bestemt ved brug af Illumina DNA Prep with Enrichment Dx til biblioteksklargøring, NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) til sekventering, og DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-programmet til sekundær analyse, herunder påvisning af kimcellevarianter og somatiske varianter. Studierne omfattede prøveindeksering, prøveoverførsel, DNA-input, analysefølsomhed (blindgrænse/påvisningsgrænse), nøjagtighed, præcision, metodesammenligning og reproducerbarhed. Se *Indlægsseddel til Illumina DNA Prep with Enrichment Dx* for karakteristika for ydeevne relateret til præanalytiske faktorer, såsom ekstraktionsmetoder eller interfererende stoffer.

## Definition af anvendte beregninger vedrørende ydelsesegenskaber

1. Den positive procentvise overensstemmelse (PPA) er beregnet som den af analysen korrekt rapporterede andel af de loci, der er blevet klassificeret som varianter med en referencemetode.
  - $(\text{antal variantloci, som analysen rapporterer korrekt}) / (\text{samlet antal variantloci})$   
Variantloci, som analysen rapporterer i overensstemmelse med referencemetoden, er sandt positive (TP). Variantloci, som analysen rapporterer som referencebestemmelser eller som anderledes variantbestemmelser, er falsk negative (FN).
2. Den negative procentvise overensstemmelse (NPA) er beregnet som den af analysen korrekt rapporterede andel af de loci, der er blevet klassificeret som vildtype med en referencemetode.
  - $(\text{antal vildtypeloci, som analysen rapporterer korrekt}) / (\text{samlet antal vildtypeloci})$   
Vildtypeloci, som analysen rapporterer i overensstemmelse med referencemetoden, er sandt negative (TN). Vildtypeloci, som analysen rapporterer som varianter, er falsk positive (FP).
3. Den samlede procentvise overensstemmelse (OPA) er beregnet som den af analysen korrekt rapporterede andel af loci i forhold til en referencemetode.
  - $((\text{antal variantloci, som analysen rapporterer korrekt}) + (\text{antal vildtypeloci, som analysen rapporterer korrekt})) / ((\text{samlet antal variantloci}) + (\text{samlet antal vildtypeloci}))$
4. Beregningerne af PPA, NPA og OPA inkluderer ikke manglende bestemmelser (variant- eller referenceloci, der ikke opfylder et eller flere kvalitetsfiltre).
5. Procentdel af positive bestemmelser (PPC) er antallet af observationer med varianten detekteret, divideret med det samlede antal observationer, der blev testet, undtagen eventuelle ugyldige observationer, eller dem der blev filteret som lav dybde.

6. Procentdel af negative bestemmelser (PNC) er beregnet som antal observationer med reference, der passerer, som resultat, divideret med det samlede antal observationer, der blev testet, undtagen eventuelle ugyldige observationer, eller dem der blev filtreret som lav dybde.
7. Procentdel af autosomer der kan bestemmes er beregnet som procentdelen af ikke-N-referenceplaceringer i målregioner i autosomale kromosomer med en genotypebestemmelse, der passerer.

## Prøveindeksering

Prøveindekseringsprimerne, som bliver tilføjet i løbet af biblioteksklargøringen, tildeler en unik sekvens til hvert prøve-DNA. Disse unikke sekvenser gør det muligt at samle flere prøver i en enkelt sekventeringskørsel. Der anvendes prøveindeksering i både den kimcellerelaterede og somatiske arbejdsgange. Formålet med dette studie var at bestemme det minimale (12) og maksimale (192) antal prøver, der kan behandles i en enkelt sekventeringskørsel på NovaSeq 6000Dx-instrument. Tolv unikke Platinum Genome-DNA-prøver (NA12877–NA12888) blev testet med mindst 12 forskellige indekseringsprimerkombinationer pr. prøve. Prøvebiblioteker blev klargjort ved brug af en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge diverse gener, der dækker 1.970.505 baser på tværs af alle 23 humane kromosomer. Prøveresultater fra fire sekventeringskørsler, ved brug af arbejdsgangen for kimcelle FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, blev sammenlignet med Platinum Genomes version 2016-1.0.

I det første kørselssæt blev 192 unikt indekserede prøvebiblioteker sekventeret i to sekventeringskørsler, en med S2 reagenser og en med S4 reagenser, for at bekræfte både det maksimale antal understøttede indekser og analysens evne til konsekvent at foretage en genotypebestemmelse for en given prøve på tværs af forskellige indekseringsprimerkombinationer. I det andet kørselssæt blev 12 unikt indekserede prøvebiblioteker sekventeret i to sekventeringskørsler, en med S2 reagenser og en med S4 reagenser, for at verificere det minimale antal af understøttede indekser.

I kørslerne med 192 indekser varierede PPA for SNV'er fra 99,7 % til 100 %, PPA for insertioner var 100 %, og PPA for deletioner lå på 96,7 % til 100 %, og NPA var 100 %. I kørslerne med 12 indekser varierede PPA for SNV'er fra 99,7 % til 100 %, PPA for insertioner lå på 89,6 % til 100 %, og PPA for deletioner lå på 94,6 % til 100 %, og NPA var 100 %.

## Prøveoverførsel

NovaSeq 6000Dx-instrument gør det muligt at sekventere flere prøver og kontroller i en enkelt sekventeringskørsel. Der er gennemført et studie for at evaluere omfanget af prøveoverførsel i en sekventeringskørsel (i samme kørsel) og mellem flere sekventeringskørsler (fra kørsel til kørsel). Tolv Platinum Genome-DNA-prøver, seks mandlige og seks kvindelige, blev testet med en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge en række gener, der dækker 1.970.505 baser på tværs af alle 23 humane kromosomer, inklusive begge kønskromosomer. Bibliotekerne blev sekventeret på NovaSeq 6000Dx-instrument ved brug af arbejdsgangen for kimcelle FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Der blev konstateret overførsel af mandlige prøver til kvindelige prøver ved tilstedeværelse af Y-kromosomer i mållæsningerne af kvindelige prøver.

Overførsel i samme kørsel kan ske under clustergenerering, basebestemmelse af indekscyklusser og demultiplexing af prøver. For at teste prøveoverførslen i samme sekventeringskørsel blev der sekventeret en bibliotekspulje bestående af mindst tolv replikater af hver unik mandlig og kvindelig prøve plus to ikke-skabelon-kontroller, hvilket gav i alt 192 unikt indekserede biblioteker, på NovaSeq 6000Dx-instrument i to sekventeringskørsler, en hver med S2 og S4 reagenser. Prøveoverførslen i samme kørsel blev vurderet ved at sammenligne Y-kromosommåldækningen i hvert kvindeligt replikat med den gennemsnitlige Y-kromosommåldækning i alle mandlige replikater i puljen. 95-percentilen af observeret overførsel i samme kørsel var 0,0090 % og 0,041 % for hhv. S2 og S4 reagenser.

For at teste prøveoverførslen fra kørsel til kørsel, blev der forberedt to bibliotekspuljer, som blev sekventeret umiddelbart efter hinanden på NovaSeq 6000Dx-instrument, hvor der blev brugt S4 reagenser på A-siden og S2 reagenser på B-siden. Den første pulje indeholdt mindst tolv replikater af seks unikke kvindelige prøver plus to ikke-skabelon-kontroller, hvilket gav i alt 96 unikt indekserede biblioteker. Den anden pulje indeholdt mindst tolv replikater af seks unikke mandlige prøver plus to ikke-skabelon-kontroller, hvilket gav i alt 96 unikt indekserede biblioteker. Der blev anvendt samme indeksadaptersæt til begge puljer. Den kvindelige pulje blev sekventeret først, hvorefter der blev kørt en sekventeringskørsel af den mandlige pulje, efterfulgt af en gentaget sekventeringskørsel af den kvindelige pulje. Prøveoverførslen fra kørsel til kørsel blev evalueret efter reagenstype, S2 og S4, ved at sammenligne Y-kromosommåldækningen mellem de tilsvarende replikater i den gentagne kørsel af den kvindelige pulje og i kørslen af den mandlige pulje. 95-percentilen af observeret overførsel fra prøve til prøve var 0,0089 % og 0,012 % for hhv. S2 og S4 reagenser.

## DNA-input

### Blod (kimcelle)

Inputområdet for blod-DNA for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-sættet ved brug af DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-programmet blev etableret for NovaSeq 6000Dx. Dette blev evalueret ved at udføre et studie med seriel fortynding ved brug af otte Platinum Genome-prøver (NA12877-NA12884) og en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge diverse gener, der dækkede 1.970.505 baser på tværs af alle 23 humane kromosomer. Biblioteker blev sekventeret på et NovaSeq 6000Dx-instrument ved brug af et parti af både NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser).

Syv prøver blev testet i duplikat ved seks DNA-inputniveauer fra 1.000 ng til 10 ng (1.000 ng, 250 ng, 100 ng, 50 ng, 25 ng og 10 ng). En ottende prøve (NA12884) blev testet som en enkelt replikat ved 10 ng input og i duplikat for alle andre inputniveauer. Prøvegenotyperne blev sammenlignet med Platinum Genomes version 2016-1.0 for at bestemme nøjagtigheden. Resultaterne blev bestemt for hvert inputniveau. PPA for hver varianttype (SNV'er, insertioner og deletioner) fremgår af [PPA-resultater for hvert blod DNA-input efter varianttype på side 29](#). NPA fremgår af [NPA for hvert blod DNA-input på side 29](#). Nøjagtigheden var ensartet på alle inputniveauer. Det anbefalede blod-DNA-input til Illumina DNA Prep with Enrichment Dx er 50-1.000 ng med 1.000 ng og 10 ng som den øvre og nedre grænse for at opfylde karakteristika for ydeevne ved sekventering på NovaSeq 6000Dx.

Tabel 8 PPA-resultater for hvert blod DNA-input efter varianttype

DNA-input (ng)	Varianttype	Forventede varianter	TP	FN	Manglende variantbestemmelser	PPA (%)
10	SNV	69612	69538	68	6	99,9
25		74192	74105	75	12	99,9
50		74105	74	13	99,9	
100		74116	72	4	99,9	
250		74113	72	7	99,9	
1000		74112	73	7	99,9	
10		Insertion	2732	2732	0	0
25	2928		2916	6	6	99,8
50	2914		8	6	99,7	
100	2917		6	5	99,8	
250	2928		0	0	100	
1000	2921		5	2	99,8	
10	Deletion		2084	2049	4	31
25		2240	2200	9	31	99,6
50		2207	3	30	99,9	
100		2199	1	40	>99,9	
250		2201	0	39	100	
1000		2195	2	43	99,9	

Tabel 9 NPA for hvert blod DNA-input

DNA-input (ng)	TN	FP	Manglende referencebestemmelser	NPA (%)
10	115449045	384	285751	>99,9
25	123012157	415	438153	>99,9
50	122985299	369	465043	>99,9
100	122976660	321	473730	>99,9
250	122971099	331	479289	>99,9
1000	122978527	324	471882	>99,9

**FFPE (Somatisk)**

Det formalinfikserede, paraffinindlejrede (FFPE) DNA-inputområde for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-sættet ved brug af DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-programmet blev fastsat for NovaSeq 6000Dx. Dette blev evalueret ved at udføre et studie med seriel fortynding ved brug af to Platinum Genome-prøver og en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge diverse gener, der dækkede 1.970.505 baser på tværs af alle 23 humane kromosomer. Biblioteker blev sekventeret på et NovaSeq 6000Dx-instrument ved brug et parti af både NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser).

DNA fra prøve GM12877 blev fortyndet med DNA fra prøve GM12878 for at oprette GM12877-13 med unikke GM12877 heterozygote og homozygote varianter med hyppigheder nær hhv. 6,5 % og 13 %. Ufortyndet GM12877 blev også testet. GM12877-13 blev testet i duplikat ved fire DNA-inputniveauer fra 1.000 ng til 25 ng (1.000 ng, 250 ng, 50 ng og 25 ng). GM12877 blev testet som en enkelt replikat ved 250 ng input og i duplikat for alle andre inputniveauer. Prøvevariantbestemmelserne blev sammenlignet med Platinum Genomes version 2016-1.0 for at bestemme nøjagtigheden. Resultaterne blev bestemt for hvert inputniveau. PPA for hver varianttype (SNV'er, insertioner og deletioner) fremgår af [PPA-resultater for hvert FFPE DNA-input efter varianttype og mål-\*VAF\* på side 30](#). NPA fremgår af [NPA for hvert FFPE DNA-input på side 31](#). Nøjagtigheden var ensartet på alle inputniveauer. For FFPE-prøver med en  $\Delta Cq$ -værdi på  $\leq 5$  er det anbefalede DNA-input 50-1.000 ng til Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-sættet med 1.000 og 25 ng som den øvre og nedre grænse for at opfylde karakteristika for ydeevne ved sekventering på NovaSeq 6000Dx.

Tabel 10 PPA-resultater for hvert FFPE DNA-input efter varianttype og mål-*VAF*

DNA-input (ng)	Varianttype	Forventede varianter	Målfortynding <i>VAF</i>									
			0,065					0,13				
			TP	FN	Manglende variantbestemmelser	PPA (%)	Forventede varianter	TP	FN	Manglende variantbestemmelser	PPA (%)	
25	SNV	3000	2931	8	61	99,7	624	624	0	0	100	
50		3000	2930	8	62	99,7	624	622	0	2	100	
250		3000	2927	8	65	99,7	624	624	0	0	100	
1000		3000	2921	8	71	99,7	624	624	0	0	100	
25	Insertion	96	96	0	0	100	48	48	0	0	100	
50		96	96	0	0	100	48	48	0	0	100	
250		96	96	0	0	100	48	48	0	0	100	
1000		96	96	0	0	100	48	48	0	0	100	
25	Deletion	88	88	0	0	100	32	32	0	0	100	
50		88	88	0	0	100	32	31	0	1	100	
250		88	88	0	0	100	32	32	0	0	100	
1000		88	88	0	0	100	32	32	0	0	100	

Tabel 11 NPA for hvert FFPE DNA-input

DNA-input (ng)	Forventet vildtype	TN	FP	Manglende referencebestemmelser	NPA (%)
25	25354119	25353706	413	5499498	>99,9
50	27538269	27538013	256	3315421	>99,9
250	21562303	21561983	320	1577958	>99,9
1000	29030903	29030596	307	1822781	>99,9

## Analysefølsomhed (blindgrænse [LoB] og påvisningsgrænse [LoD])

Studiet blev gennemført for at evaluere blindgrænsen (LoB, Limit of Blank) og påvisningsgrænsen (LoD, Limit of Detection) for arbejdsgangen for somatisk FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx på NovaSeq 6000Dx-instrument. Studiet blev gennemført ved brug af en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge diverse gener, der dækker 1.970.505 baser på tværs af alle 23 humane kromosomer. Platinum Genome-cellelinje GM12878 og GM12877 blev formalinfikseret og indlejret i paraffin efterfulgt af DNA-ekstraktion. Fortyndinger af GM12877 i GM12878 blev klargjort for at lave prøver bestående af 0 %, 4 %, 6,5 % og 13 % GM12877 efter volumen, så at variantfrekvenserne for 489 unikke GM12877-varianter (454 SNVer, 17 insertioner og 18 deletioner) i området 0 til 0,13. Prøvebiblioteker blev klargjort ved brug af to partier Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-sætreagenser og sekventeret over seks på hinanden følgende startdage med to NovaSeq 6000Dx-instrumenter og to partier af både NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser), for et samlet antal sekventeringskørsler på 12. Dette resulterede i 288 observationer for hver variant i hver af prøvfortyndingerne. LoB og LoD blev beregnet ved brug af den klassiske metode, der er angivet CLSI EP17-A2. LoB og LoD blev beregnet separat for S2 og S4 reagenserne ved at samle variantfrekvenserne for alle varianterne i sekventeringskørslen for hver reagenstype. Type I-fejlen blev defineret som 0,01, og type II-fejlen blev defineret som 0,05.

LoB blev evalueret for 489 loci uafhængigt på tværs af to sekventeringspartier for hver reagenstype (S2 eller S4) og biblioteksklargøring. 95-percentilens LoB var 2,9 % for S2 reagenserne. 95-percentilens LoB var 2,2 % for S4 reagenserne.

LoD-beregning blev udført for 478 ud af 489 varianter for S2 og 485 ud af 489 varianter for S4. De varianter, hvor der ikke kunne beregnes LoD for en eller begge biblioteksklargøringer, blev udelukket fra endelig tildelt LoD for NovaSeq 6000Dx-systemet. LoD for NovaSeq 6000Dx-systemet med S2 og S4 reagenser blev bestemt ved at tage 95-percentilens for de individuelle variant-LoD'er. 95-percentilen på tværs af 478 variant-LoD'er var 4,8 % for S2 reagenserne. 95-percentilen på tværs af 485 variant-LoD'er var 3,9 % for S4 reagenserne.

# Nøjagtighed

## Kimcelle

Nedenstående studie blev udført til vurdering af nøjagtigheden af arbejdsgangen for kimcelle FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx på NovaSeq 6000Dx-instrument ved brug af NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser). Der blev testet fire unikke Platinum Genome-DNA-prøver ved brug af en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge en række gener, der dækker 1.970.505 baser (9.232 mål) på tværs af 23 humane kromosomer. Hver af prøverne blev testet i 12 replikater, undtagen NA12880 der blev testet i 11 replikater. Der blev gennemført i alt 18 kørsler ved brug af tre sekventeringsinstrumenter, tre partier af S2 reagenser og to operatører over seks startdage. Nøjagtigheden af SNV'er, insertioner og deletioner blev bestemt ved at sammenligne resultaterne med Platinum Genomes version 2016-1.0.

Tabel 12 Oversigt over kimcelleoverensstemmelse

Kriterier	Observationer i alt <sup>1</sup>	Resultat efter observation <sup>2</sup>	Resultat efter kørsel <sup>3</sup>
PPA for SNV	846	99,8	99,9
PPA for insertioner	846	97,9	>99,9
PPA for deletioner	846	96,9	99,9
NPA	846	>99,9	>99,9
OPA	846	>99,9	>99,9

<sup>1</sup>Beregnet som antal prøver pr. kørsel (47) x antal kørsler (18) = 846.

<sup>2</sup>Laveste observerede værdi efter prøvereplikat på tværs af alle 18 kørsler.

<sup>3</sup>Laveste værdi, når data fra hver kørsel analyseres samlet.

*Kimcelleoverensstemmelse pr. prøve på side 33* viser studiedataene med positiv og negativ procentvis overensstemmelse pr. prøve, hvor resultaterne for variant bliver sammenlignet med Platinum Genomes version 2016-1.0 med henblik på PPA-beregninger. De tre varianttyper (SNV'er, insertioner og deletioner) er samlet. Fordi referencemetoden kun giver resultater vedrørende enkelt nukleotidvarianter og -indsættelser/-sletninger, bliver baseresultater uden varianter sammenlignet med det humane referencegenom hg 19 med henblik på NPA-beregninger.



Tabel 13 Kimcelleoverensstemmelse pr. prøve

Prøve	Hvorvidt autosomer kan bestemmes	Forventede varianter <sup>1</sup>	TP	FN	Manglende variantbestemmelser	TN	FP	PPA	NPA	OPA
NA12877	99,4	273672	273452	220	0	414765131	931	99,9	>99,9	>99,9
NA12878	99,4	265680	265208	234	238	414803691	1193	99,9	>99,9	>99,9
NA12879	99,4	261792	261792	0	0	414746986	1429	100	>99,9	>99,9
NA12880	99,4	246114	245551	399	164	380157538	1458	99,8	>99,9	>99,9

<sup>1</sup> Samlet antal varianter i alle prøvereplikater på tværs af 18 kørsler.

*Kimcelleoverensstemmelse pr. prøve efter varianttype på side 33* viser studiedataene pr. prøve, hvor resultaterne for varianten sammenlignes med den velkarakteriserede, sammensatte referencemetode. Påvisningen er evalueret for hver varianttype – SNV'er, insertioner og deletioner – separat. Referenceplaceringer er ikke medtaget.

Tabel 14 Kimcelleoverensstemmelse pr. prøve efter varianttype

Prøve	SVN'er			Insertationer			Deletioner		
	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN
NA12877	255096	254877	219	10368	10367	1	8208	8208	0
NA12878	250344	250077	221	8424	8424	0	6912	6707	13
NA12879	246024	246024	0	8856	8856	0	6912	6912	0
NA12880	229482	229086	396	9306	9306	0	7326	7159	3

Prøverne blev desuden analyseret for at bestemme små insertioner og deletioner (indeller). Der findes en samlet oversigt i *Oversigt over påvisning af kimcelle-indel på side 33*. Der var i alt 210 indeller, der varierede i størrelsen fra 1-18 bp for insertioner og 1-21 for deletioner.

Tabel 15 Oversigt over påvisning af kimcelle-indel

Varianttype	Forventede varianter	TP	FN	Manglende variantbestemmelser	PPA
Insertion	36954	36953	1	0	>99,9
Deletion	29358	28986	16	356	99,9

Den repræsentative analyse bestod af 9.232 mål, der dækkede et bredt genomindhold. GC-indholdet i målene varierede fra 0,20-0,86. Målene havde også en række enkeltnukleotid- (f.eks. PolyA, PolyT), dinukleotid- og trinukleotidgentagelser. Data kompileret pr. kromosom til at klarlægge genomindholdets indvirkning på procentdelen af korrekte bestemmelser, fremgår af [Nøjagtighed af kimcelle-kromosomniveau på side 34](#). Procentdelen af korrekte bestemmelser består af variant- og referencebestemmelser og er under 100 %, hvis der er ukorrekte eller manglende bestemmelser.

Tabel 16 Nøjagtighed af kimcelle-kromosomniveau

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom1	47	728	138328	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (14), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Insertion (18), Deletion (4)	[0,22 - 0,8]; Median: 0,51	114888718	34	966860	>99,9	0,83
krom2	39	628	159588	Poly A (46), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Insertion (5), Deletion (2)	[0,24 - 0,81]; Median: 0,44	132293464	798	460345	>99,9	0,35

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom3	38	650	137627	Poly A (18), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (7), Dinukleotid (12), Trinukleotid (6), Insertion (11), Deletion (1)	[0,25 - 0,86]; Median: 0,45	114625053	2	226461	>99,9	0,20
krom4	17	370	73766	Poly A (9), Poly C (7), Poly T (25), Poly G (6), Dinukleotid (5), Trinukleotid (5), Insertion (2), Deletion (2)	[0,27 - 0,77]; Median: 0,45	61872303	0	66741	100	0,11

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom5	25	507	90008	Poly A (10), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (10), Trinukleotid (8), Insertion (8), Deletion (18)	[0,29 - 0,79]; Median: 0,46	75314497	912	153061	>99,9	0,20
krom6	39	453	126721	Poly A (28), Poly C (7), Poly T (33), Poly G (7), Dinukleotid (18), Trinukleotid (11), Insertion (4), Deletion (2)	[0,24 - 0,79]; Median: 0,48	103412695	1	182361	>99,9	0,18

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom7	21	450	161501	Poly A (27), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (31), Trinukleotid (5), Insertion (1), Deletion (4)	[0,2 - 0,77]; Median: 0,46	132534074	19	246884	>99,9	0,19
krom8	18	381	67775	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (9), Insertion (4), Deletion (1)	[0,26 - 0,78]; Median: 0,47	56247612	411	170925	>99,9	0,30

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom9	23	347	87100	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (27), Poly G (8), Dinukleotid (9), Trinukleotid (9), Insertion (4), Deletion (1)	[0,27 - 0,83]; Median: 0,49	72650800	20	241991	>99,9	0,33
krom10	14	317	66723	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Dinukleotid (16), Trinukleotid (6), Insertion (1), Deletion (1)	[0,23 - 0,78]; Median: 0,44	55539058	1	188216	>99,9	0,34

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom11	29	511	91786	Poly A (28), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (26), Trinukleotid (7), Insertion (2), Deletion (2)	[0,28 - 0,8]; Median: 0,47	75744222	742	259258	>99,9	0,34
krom12	29	577	120365	Poly A (19), Poly C (8), Poly T (40), Poly G (7), Dinukleotid (7), Trinukleotid (7), Insertion (1), Deletion (5)	[0,26 - 0,77]; Median: 0,49	99972530	1	542005	>99,9	0,54

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom13	13	283	58639	Poly A (24), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (6), Trinukleotid (8), Insertion (14), Deletion (0)	[0,28 - 0,79]; Median: 0,42	48503179	1	45666	>99,9	0,09
krom14	11	147	26980	Poly A (21), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (11), Dinukleotid (6), Trinukleotid (6), Insertion (4), Deletion (1)	[0,29 - 0,77]; Median: 0,47	22286153	198	147895	>99,9	0,66
krom15	15	266	52091	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (6), Trinukleotid (8), Insertion (4), Deletion (6)	[0,29 - 0,76]; Median: 0,46	43600279	0	99041	100	0,23



Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom16	21	366	80030	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (10), Insertion (15), Deletion (21)	[0,3 - 0,76]; Median: 0,54	65490245	16	1438278	>99,9	2,15
krom17	36	645	118062	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (18), Poly G (8), Dinukleotid (13), Trinukleotid (6), Insertion (18), Deletion (16)	[0,28 - 0,82]; Median: 0,49	97929929	417	335905	>99,9	0,34
krom18	9	99	19195	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Trinukleotid (10), Insertion (4), Deletion (0)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,44	15967171	312	42077	>99,9	0,26

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom19	30	605	104004	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (31), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (7), Insertion (2), Deletion (21)	[0,33 - 0,83]; Median: 0,59	85642066	3	678213	>99,9	0,79
krom20	12	179	33795	Poly A (6), Poly C (6), Poly T (7), Poly G (8), Trinukleotid (9), Insertion (5), Deletion (0)	[0,31 - 0,84]; Median: 0,53	28108712	0	38374	100	0,14
krom21	5	63	30642	Poly A (28), Poly C (6), Poly T (24), Poly G (7), Dinukleotid (5), Insertion (2), Deletion (5)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,52	25319736	50	57434	>99,9	0,23

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom22	10	187	36727	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (19), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (6), Insertion (6), Deletion (0)	[0,27 - 0,74]; Median: 0,51	30258131	0	42673	100	0,14
kromX	23	433	83576	Poly A (18), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (9), Dinukleotid (5), Trinukleotid (23), Insertion (3), Deletion (0)	[0,2 - 0,72]; Median: 0,48	67318722	0	770544	100	1,13
kromY	0	40	5476	Poly A (11), Poly C (8), Poly T (11), Poly G (5), Insertion (0), Deletion (0)	[0,4 - 0,59]; Median: 0,45	0	0	0	I/T	I/T

Sekventeringsresultaterne af prøve NA12878 blev sammenlignet med en meget pålidelig genotype for NA12878, som er udviklet af National Institutes of Standards and Technology (NIST) (v.2.19). 8.009 ud af de 9.232 mål var helt inden for de meget pålidelige genområder, 776 mål havde delvis overlapning, og 447 mål havde ingen overlapning i NIST-sekvensen. Dette resulterede i 1.831.483 koordinater pr. replikat til sammenligning. Basebestemmelser uden varianter blev sammenlignet med det humane referencegenom hg 19. Resultaterne vedrørende nøjagtighed er vist i [Kimcelleoverensstemmelse mellem prøve NA12878 og NIST-databasen på side 44](#).

Tabel 17 Kimcelleoverensstemmelse mellem prøve NA12878 og NIST-databasen

Prøve	Antal mål dækket	Hvorvidt autosomer kan bestemmes	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
NA12878	8785	99,4	247709	218	394262149	4584	>99,9	>99,9	>99,9

Baseret på dataene fra dette studie af kimceller med 18 kørsler kan NovaSeq 6000Dx-instrument konsekvent sekventere:

- GC-indhold  $\geq 20$  % (alle bestemte baser i 1692 sekventerede målregioner med 20 % GC-indhold blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0 %)
- GC-indhold  $\leq 86$  % (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 86 % GC-indhold blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0 %)
- PolyA-længder  $\leq 46$  (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 46 PolyA-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0,27 %)
- PolyT-længder  $\leq 40$  (13384074 ud af 13384321 bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 40 PolyT-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0,26 %)
- PolyG-længder  $\leq 11$  (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 11 PolyG-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0 %)
- PolyC-længder  $\leq 8$  (9815030 ud af 9815035 bestemte baser i 5922 sekventerede målregioner med 8 PolyC-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0,53 %)
- Dinukleotidgentagelseslængder  $\leq 31x$  (32233922 ud af 32233926 bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 31 dinukleotidgentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0,21 %)
- Trinukleotidgentagelseslængder  $\leq 23x$  (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 23 trinukleotidgentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0,21 %)
- Længder på insertion  $\leq 18$  (alle bestemte baser i 1692 sekventerede målregioner med 18 insertion blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 7,71 %)

- Længder på deletion  $\leq 21$  (alle bestemte baser i 1692 sekventerede målregioner med 21 deletion blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 1,14 %)

## Somatisk

Studiet, der er beskrevet her, blev udført til vurdering af nøjagtigheden af variantbestemmelserne af arbejdsgangen for somatisk FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx på NovaSeq 6000Dx-instrument ved brug af NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser).

I dette studie blev der anvendt en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge en række gener, der dækker 1.970.505 baser (9.232 mål) på tværs af 23 humane kromosomer. Der blev ekstraheret Platinum Genome-DNA fra FFPE-behandlede blokke for at generere og evaluere fire unikke prøver i dette studie.

DNA fra prøve GM12877 blev fortyndet med DNA fra prøve GM12878 for at oprette GM12877-13 med unikke GM12877 heterozygote og homozygote varianter med hyppigheder nær hhv. 6,5 % og 13 %. DNA fra prøve GM12878 blev fortyndet med DNA fra prøve GM12877 for at oprette GM12878-13 med unikke GM12878 heterozygote og homozygote varianter med hyppigheder nær hhv. 6,5 % og 13 %. Ufortyndet GM12877 og GM12878 blev også testet. Hver af prøverne blev testet i 12 replikater, undtagen ufortyndet GM12878 som blev testet i 11 replikater. Der blev gennemført i alt 18 kørsler ved brug af tre sekventeringsinstrumenter, tre partier af S4 reagenser og to operatører over seks startdage. Nøjagtigheden af SNV'er, insertioner og deletioner blev bestemt ved at sammenligne resultaterne med Platinum Genomes version 2016-1.0.

Tabel 18 Oversigt over somatisk overensstemmelse

Kriterier	Antal observationer <sup>1</sup>	Resultat efter observation <sup>2</sup>	Resultat efter kørsel <sup>3</sup>
PPA for somatiske SNV'er	846	99,8	98,9
PPA for somatiske insertioner	846	100	100
PPA for somatiske deletioner	846	100	100
NPA	846	>99,9	>99,9
OPA	846	>99,9	>99,9

<sup>1</sup> Beregnet som = Antal prøver pr. kørsel (47) x antal kørsler (18) = 846.

<sup>2</sup> Laveste observerede værdi efter prøvereplikat på tværs af alle 18 kørsler.

<sup>3</sup> Laveste værdi, når data fra hver kørsel analyseres samlet.

[Somatisk overensstemmelse pr. prøve på side 46](#) viser studiedataene med positiv og negativ procentvis overensstemmelse pr. prøve, hvor variantresultaterne bliver sammenlignet med den velkarakteriserede sammensatte referencemetode med henblik på PPA-beregninger. De tre varianttyper (SNV'er, insertioner og deletioner) er samlet. Fordi referencemetoden kun giver resultater vedrørende enkelt nukleotidvarianter og -indsættelser/-sletninger, bliver baseresultater uden varianter sammenlignet med det humane referencegenom hg 19 med henblik på NPA-beregninger.

Tabel 19 Somatisk overensstemmelse pr. prøve

Prøve	Hvorvidt autosomer kan bestemmes	Forventede varianter	TP	FN	Manglende variantbestemmelser	TN	FP	PPA	NPA	OPA
GM12877	95,4	96228	95022	198	1008	365425810	1203	99,8	>99,9	>99,9
GM12878	94,5	96768	96278	0	490	395002023	1278	100	>99,9	>99,9
GM12877-13	94,7	104976	103029	216	1731	395989324	1286	99,8	>99,9	>99,9
GM12878-13	95,2	96768	96027	0	741	397900884	1218	100	>99,9	>99,9

[Somatisk overensstemmelse pr. prøve efter varianttype på side 46](#) viser studiedataene pr. prøve, hvor resultaterne for variant sammenlignes med den velkarakteriserede sammensatte referencemetode. Påvisningen er evalueret for hver varianttype – SNV'er, insertioner og deletioner – separat. Referenceplaceringer er ikke medtaget.

Tabel 20 Somatisk overensstemmelse pr. prøve efter varianttype

Prøve	SNV'er			Insertioner			Deletioner		
	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN
GM12877	89694	88488	198	3564	3564	0	2970	2970	0
GM12878	92664	92390	0	2160	2160	0	1944	1728	0
GM12877-13	97848	95901	216	3888	3888	0	3240	3240	0
GM12878-13	92664	92139	0	2160	2160	0	1944	1728	0

De fire prøver blev desuden analyseret for at bestemme små insertioner og deletioner (indels). Der findes en samlet oversigt i [Oversigt over påvisning af somatisk indel på side 47](#). Der var i alt 210 indels, der varierede i størrelsen fra 1-18 bp for insertioner og 1-21 for deletioner.

Tabel 21 Oversigt over påvisning af somatisk indel

Varianttype	Forventede varianter	TP	FN	Manglende variantbestemmelser	PPA
Insertion	11772	11772	0	0	100
Deletion	10098	9666	0	432	100

Den repræsentative analyse bestod af 9.232 mål, der dækkede et bredt genomindhold. GC-indholdet i målene varierede fra 0,20-0,86. Målene havde også en række enkeltnukleotid- (f.eks. PolyA, PolyT), dinukleotid- og trinukleotidgentagelser. Data kompileret pr. kromosom til at klarlægge genomindholdets indvirkning på procentdelen af korrekte bestemmelser, fremgår af [Nøjagtighed på somatisk kromosomniveau på side 47](#). Procentdelen af korrekte bestemmelser består af variant- og referencebestemmelser og er under 100 %, hvis der er ukorrekte eller manglende bestemmelser.

Tabel 22 Nøjagtighed på somatisk kromosomniveau

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom1	47	728	138328	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (14), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Insertion (3), Deletion (0)	[0,22 - 0,8]; Median: 0,51	110145939	52	5642613	>99,9	4,9

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom2	39	628	159588	Poly A (46), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Insertion (5), Deletion (1)	[0,24 - 0,81]; Median: 0,44	126795713	842	5850393	>99,9	4,4
krom3	38	650	137627	Poly A (18), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (7), Dinukleotid (12), Trinukleotid (6), Insertion (1), Deletion (1)	[0,25 - 0,86]; Median: 0,45	109902527	593	4889226	>99,9	4,3



Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom4	17	370	73766	Poly A (9), Poly C (7), Poly T (25), Poly G (6), Dinukleotid (5), Trinukleotid (5), Insertion (0), Deletion (1)	[0,27 - 0,77]; Median: 0,45	59373461	16	2517412	>99,9	4,1
krom5	25	507	90008	Poly A (10), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (10), Trinukleotid (8), Insertion (8), Deletion (18)	[0,29 - 0,79]; Median: 0,46	72261191	723	3116981	>99,9	4,1

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom6	39	453	126721	Poly A (28), Poly C (7), Poly T (33), Poly G (7), Dinukleotid (18), Trinukleotid (11), Insertion (0), Deletion (1)	[0,24 - 0,79]; Median: 0,48	98593101	687	4890221	>99,9	4,7
krom7	21	450	161501	Poly A (27), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (31), Trinukleotid (5), Insertion (1), Deletion (4)	[0,2 - 0,77]; Median: 0,46	126913574	104	5773856	>99,9	4,4

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom8	18	381	67775	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (9), Insertion (4), Deletion (0)	[0,26 - 0,78]; Median: 0,47	53430489	175	2958909	>99,9	5,2
krom9	23	347	87100	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (27), Poly G (8), Dinukleotid (9), Trinukleotid (9), Insertion (0), Deletion (1)	[0,27 - 0,83]; Median: 0,49	69594586	74	3260257	>99,9	4,5

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom10	14	317	66723	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Dinukleotid (16), Trinukleotid (6), Insertion (0), Deletion (0)	[0,23 - 0,78]; Median: 0,44	53209592	90	2469444	>99,9	4,4
krom11	29	511	91786	Poly A (28), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (26), Trinukleotid (7), Insertion (2), Deletion (2)	[0,28 - 0,8]; Median: 0,47	72291795	150	3665560	>99,9	4,8

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom12	29	577	120365	Poly A (19), Poly C (8), Poly T (40), Poly G (7), Dinukleotid (7), Trinukleotid (7), Insertion (0), Deletion (3)	[0,26 - 0,77]; Median: 0,49	96109352	101	4331932	>99,9	4,3
krom13	13	283	58639	Poly A (24), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (6), Trinukleotid (8), Insertion (14), Deletion (0)	[0,28 - 0,79]; Median: 0,42	46130028	44	2384839	>99,9	4,9

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom14	11	147	26980	Poly A (21), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (11), Dinukleotid (6), Trinukleotid (6), Insertion (4), Deletion (0)	[0,29 - 0,77]; Median: 0,47	21336891	0	1078329	100	4,8
krom15	15	266	52091	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (6), Trinukleotid (8), Insertion (4), Deletion (0)	[0,29 - 0,76]; Median: 0,46	41918631	184	1753300	>99,9	4,0
krom16	21	366	80030	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (10), Insertion (15), Deletion (21)	[0,3 - 0,76]; Median: 0,54	62344351	18	4540539	>99,9	6,8

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom17	36	645	118062	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (18), Poly G (8), Dinukleotid (13), Trinukleotid (6), Insertion (18), Deletion (1)	[0,28 - 0,82]; Median: 0,49	93811318	414	4403622	>99,9	4,5
krom18	9	99	19195	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Trinukleotid (10), Insertion (0), Deletion (0)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,44	15007653	6	990633	>99,9	6,2
krom19	30	605	104004	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (31), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (7), Insertion (2), Deletion (3)	[0,33 - 0,83]; Median: 0,59	81416722	455	4860311	>99,9	5,6

Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
krom20	12	179	33795	Poly A (6), Poly C (6), Poly T (7), Poly G (8), Trinukleotid (9), Insertion (5), Deletion (0)	[0,31 - 0,84]; Median: 0,53	26833936	7	1301905	>99,9	4,6
krom21	5	63	30642	Poly A (28), Poly C (6), Poly T (24), Poly G (7), Dinukleotid (5), Insertion (1), Deletion (0)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,52	24169250	44	1172087	>99,9	4,6
krom22	10	187	36727	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (19), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (6), Insertion (6), Deletion (0)	[0,27 - 0,74]; Median: 0,51	28887217	86	1392179	>99,9	4,6



Kromosom	Antal gener	Antal mål	Antal baser	Genomindhold	GC-område	Korrekte bestemmelser	Ukorrekte bestemmelser	Manglende bestemmelser	% korrekte bestemmelser	% manglende bestemmelser
kromX	23	433	83576	Poly A (18), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (9), Dinukleotid (5), Trinukleotid (23), Insertion (3), Deletion (0)	[0,2 - 0,72]; Median: 0,48	64231080	241	3852253	>99,9	5,7
kromY	0	40	5476	Poly A (11), Poly C (8), Poly T (11), Poly G (5), Insertion (0), Deletion (0)	[0,4 - 0,59]; Median: 0,45	0	0	0	I/T	I/T

Sekventeringsresultaterne for prøve GM12878 blev sammenlignet med en genotype med høj sikkerhed for NA12878, som er udviklet af National Institute of Standards and Technology (NIST) (v.2.19). 8.009 ud af de 9.232 mål var helt inden for de meget pålidelige genområder, 776 mål havde delvis overlapning, og 447 mål havde ingen overlapning i NIST-sekvensen. Dette resulterede i 1.831.483 koordinater pr. replikat til sammenligning. Basebestemmelser uden varianter blev sammenlignet med det humane referencegenom hg 19. Resultaterne vedrørende nøjagtighed er vist i [Somatisk overensstemmelse mellem prøve GM12878 og NIST-databasen på side 57](#).

Tabel 23 Somatisk overensstemmelse mellem prøve GM12878 og NIST-databasen

Prøve	Antal mål dækket	Hvorvidt autosomer kan bestemmes	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
GM12878	8785	94,5	247228	0	375073821	2043	100	>99,9	>99,9

Baseret på dataene fra dette somatiske studie med 18 kørsler kan NovaSeq 6000Dx-instrument konsekvent sekventere:

- GC-indhold  $\geq 20$  % (alle bestemte baser i 1.692 sekventerede målregioner med 20 % GC-indhold blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 0,34 %)
- GC-indhold  $\leq 86$  % (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 86 % GC-indhold blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 4,21 %)
- PolyA-længder  $\leq 46$  (14550082 ud af 14550083 bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 46 PolyA-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 4,18 %)
- PolyT-længder  $\leq 40$  (12833489 ud af 12833491 bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 40 PolyT-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 4,37 %)
- PolyG-længder  $\leq 11$  (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 11 PolyG-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 7,59 %)
- PolyC-længder  $\leq 8$  (9405604 ud af 9405615 bestemte baser i 5922 sekventerede målregioner med 8 PolyC-gentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 4,68 %)
- Dinukleotidgentagelseslængder  $\leq 31x$  (30996684 ud af 30996712 bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 31 dinukleotidgentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 4,04 %)
- Trinukleotidgentagelseslængder  $\leq 23x$  (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 23 trinukleotidgentagelse blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 5,39 %)
- Længder på insertion  $\leq 18$  (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 18 insertion blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 1,44 %)
- Længder på deletion  $\leq 21$  (alle bestemte baser i 846 sekventerede målregioner med 21 deletion blev korrekt bestemt med en rate for manglende bestemmelse på 7,86 %)

## Præcision

Præcisionen af NovaSeq 6000Dx-instrument blev evalueret ved brug af Platinum Genome-prøver med en repræsentativ analyse, der er designet til at undersøge en række gener, der dækker 1.970.505 baser på tværs af 23 forskellige kromosomer ved brug af 9.232 måloligoer. Der blev evalueret i alt 1.723 målrettede små varianter (SNV'er, insertioner og deletioner). Kimcelletestningen bestod af elleve eller tolv replikater af fire unikke Platinum Genome-prøver. Den somatiske testning bestod af elleve eller tolv replikater af fire unikke FFPE-behandlede Platinum Genome-prøver ved forskellige VAF-niveauer. Prøvebibliotekerne blev klargjort ved brug af Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-sætreagenser.

Testningen blev udført på et internt laboratorium ved brug af tre NovaSeq 6000Dx-instrumenter, tre partier af både NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og to operatører i løbet af seks startdage. På hver startdag blev kimcelleprøvebiblioteker sekventeret på den ene instrumentside ved brug af S2 reagenser og arbejdsgangen for kimcelle FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, og somatiske prøvebiblioteker blev sekventeret på den anden instrumentside ved brug af S4 reagenser og arbejdsgangen for somatisk FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Dette resulterede i 18 flowceller for henholdsvis den kimcellerelaterede arbejdsgang og den somatiske arbejdsgang.

## Kimcelle

Hvad angår kimcellekørslerne, rapporteres genomiske placeringer, hvor en målkimcellevariant detekteres, som positiv (variant). Hvad angår forventede positive kimcellevarianter, er dataene blevet evalueret med hensyn til rate for manglende bestemmelser og rate for procentdel af positive bestemmelser (PPC) inden for hver varianttype (SNV, insertion, deletion). [Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende kimcellebestemmelser for forventede positive resultater efter varianttype på side 59](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden, for hver varianttype.

Tabel 24 Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende kimcellebestemmelser for forventede positive resultater efter varianttype

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede positive bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PPC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
SNV	6	980316	<0,01	979854	980310	99,95	99,95	99,96
Insertion	0	36738	0	36738	36738	100	>99,99	100
Deletion	18	34434	0,05	32160	34416	93,44	93,18	93,70

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Positive bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

Genomiske placeringer, hvor der ikke detekteres en målvariant, rapporteres som negative (vildtype). Hvad angår forventede negative placeringer, er dataene blevet evalueret med hensyn til raterne for manglende bestemmelse og procentdel af negative bestemmelser (PNC). [Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende kimcellebestemmelser for forventede negative resultater på side 60](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden.

Tabel 25 Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende kimcellebestemmelser for forventede negative resultater

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede negative bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PNC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
Vildtype	0	406170	0	406170	406170	100	>99,99	100

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Negative bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant ikke er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

Den medvirkende årsag af hver parameter (instrument, reagensparti, dag, biblioteksrepliket) til den samlede variabilitet blev bestemt med en varianskomponentanalyse ved brug af variantfrekvens som responsvariabel. Den samlede standardafvigelse havde et gennemsnit på 0,0370. Den største medvirkende årsag til variabilitet i variantfrekvenser var biblioteksklargøringsreplikater, som var medvirkende årsag til 17,1 % af den samlede variabilitet. Dag var medvirkende årsag til 1 %, mens instrument og reagensparti hver især var medvirkende årsag til 1 % af den samlede variabilitet [Intralaboratoriepræcision af varianskomponentestimeringer for kimcelleprøvers variantfrekvenser på side 60](#) (SD = standardafvigelse).

Tabel 26 Intralaboratoriepræcision af varianskomponentestimeringer for kimcelleprøvers variantfrekvenser

Komponent	Gennemsnitlig SD	Gennemsnitlig % af samlet SD
Dag	0,0020	1,028
instrument	0,0018	0,837
Materialeparti	0,0016	0,712
Biblioteksrepliket	0,0143	17,110
I alt	0,0370	100

## Somatisk

Hvad angår de somatiske kørsler, blev de genomiske placeringer, hvor en somatisk målvariant detekteres, rapporteret som positive (variant). Hvad angår de fortyndede prøver GM12877-13 og GM12878-13 med forventede positive somatiske varianter ved VAF'er mellem 6,5 % og 13 %, blev dataene evalueret for raten for manglende bestemmelse og procentdel af positive bestemmelser (PPC) inden for hver varianttype (SNV, insertion, deletion). [Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende somatiske bestemmelser for](#)

[forventede positive resultater efter varianttype \(gennemsnitlig VAF er  \$\geq 6,5\%\$  og  \$\leq 13\%\$ \) på side 61](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden, for hver varianttype.

Tabel 27 Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende somatiske bestemmelser for forventede positive resultater efter varianttype (gennemsnitlig VAF er  $\geq 6,5\%$  og  $\leq 13\%$ )

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede positive bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PPC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
SNV	0	96939	0	96069	96939	99,10	99,04	99,16
Insertion	0	3004	0	3004	3004	100	99,87	100
Deletion	0	2912	0	2907	2912	99,83	99,60	99,93

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Positive bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

Genomiske placeringer, hvor der ikke detekteres en somatisk målvariant, rapporteres som negative (vildtype). Hvad angår forventede negative placeringer, er dataene blevet evalueret med hensyn til raterne for manglende bestemmelse og procentdel af negative bestemmelser. [Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende somatiske bestemmelser for forventede negative resultater på side 61](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden, for hver varianttype.

Tabel 28 Intralaboratoriepræcision af observationer vedrørende somatiske bestemmelser for forventede negative resultater

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede negative bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PNC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
Vildtype	0	194922	0	194919	194922	>99,99	>99,99	100

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Negative bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant ikke er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

Den medvirkende årsag af hver parameter (instrument, reagensparti, dag, biblioteksrepliket) til den samlede variabilitet blev bestemt med en varianskomponentanalyse ved brug af variantfrekvens som responsvariabel. Den samlede standardafvigelse havde et gennemsnit på 0,0062. Biblioteksklargøringsreplikater blev ved med at være den mest signifikante kilde til variabilitet, og udgjorde 50,7 % af den samlede variabilitet. Dag, instrument og materialeparti var alle medvirkende årsager til mindre end 1 % af den samlede variabilitet [Intralaboratoriepræcision af varianskomponentestimeringer for somatiske prøvers variantfrekvenser på side 62](#) (SD = standardafvigelse).

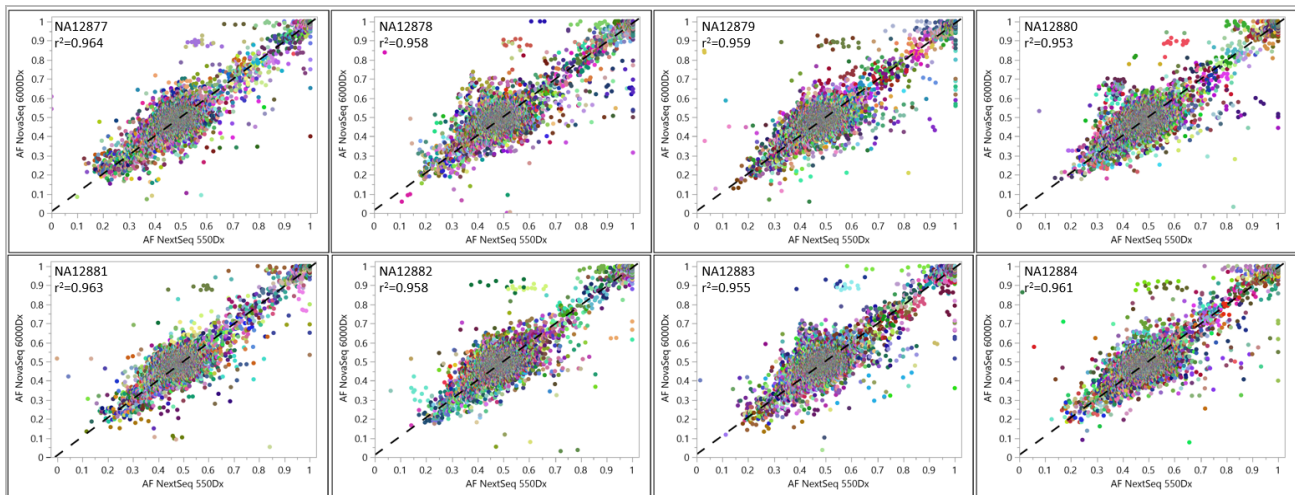
Tabel 29 Intralaboratoriepræcision af varianskomponentestimeringer for somatiske prøvers variantfrekvenser

Komponent	Gennemsnitlig SD	Gennemsnitlig % af samlet SD
Dag	0,0002	0,41
instrument	0,0002	0,40
Materialeparti	0,0002	0,35
Biblioteksreplikater	0,0044	50,7
I alt	0,0062	100

## Metodesammenligning

Der blev udført et studie for at sammenligne ydeevnen af NovaSeq 6000Dx med NextSeq 550Dx-instrumenter. Overensstemmelsen mellem variantfrekvenser for blodprøver blev evalueret ved brug af en repræsentativ analyse, der var designet til at undersøge en række gener, der dækkede 1.970.505 baser på tværs af alle 23 humane kromosomer. Otte Platinum Genome DNA-prøver blev testet, syv i replikater på 6 og en (NA12881) i replikater på fem. Bibliotekerne blev sekventeret på NovaSeq 6000Dx-instrument ved brug af arbejdsgangen for kimmecelle FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx og på NextSeq 550Dx-instrumentet ved brug af DNA Generate FATSQ Dx Local Run Manager-modulet. [Diagrammer over korrelationen af variantfrekvenser \(Punkterne er farvet ifølge unik variant. Varianterne kan have forskellige farver på de forskellige diagrammer\).](#) på side 63 viser VAF-korrelationen mellem de to instrumenter for hver prøve. Baseret på den stærke korrelation mellem NovaSeq 6000Dx-instrument og NextSeq 550Dx-instrumentet er det blevet bestemt, at karakteristika for ydeevne relateret til præanalytiske faktorer (f.eks. ekstraktionsmetoder eller interfererende stoffer) gælder begge instrumenter. Se indlægssedlen til Illumina DNA Prep with Enrichment Dx for yderligere oplysninger.

Figur 12 Diagrammer over korrelationen af variantfrekvenser (Punkterne er farvet ifølge unik variant. Varianterne kan have forskellige farver på de forskellige diagrammer).



## Reproducerbarhed

Reproducerbarheden af NovaSeq 6000Dx-instrument blev evalueret ved brug af Platinum Genome-prøver med en repræsentativ analyse, der er designet til at undersøge en række gener, der dækker 1.970.505 baser på tværs af 23 forskellige kromosomer ved brug af 9.232 måloligoer. Der blev evalueret i alt 1.723 målrettede små varianter (SNV'er, insertioner og deletioner). Kimcellestningen bestod af tre eller fire replikater af tolv unikke Platinum Genome-prøver. Den somatiske testning bestod af fem eller seks replikater af otte unikke FFPE-behandlede Platinum Genome-prøver ved forskellige VAF-niveauer. Prøvebibliotekerne blev klargjort ved brug af Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-sætregenser.

Testningen blev udført på tre eksterne centre ved brug af et parti af både NovaSeq 6000Dx S2 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser) og NovaSeq 6000Dx S4 reagens v1.5 sæt (300 cyklusser). Der blev brugt et enkelt NovaSeq 6000Dx-instrument på hvert center. To operatører på hvert center udførte testen. Hver operatør gennemførte testen på tre startdage, som ikke lå i direkte forlængelse af hinanden, for hver prøvetype, det vil sige 36 flowceller i alt på tværs af de tre centre. På hver startdag blev kimcelleprøvebiblioteker sekventeret på instrumentets A-side ved brug af S2 reagenser og arbejdsgangen for kimcelle FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, og somatiske prøvebiblioteker blev sekventeret på instrumentets B-side ved brug af S4 reagenser og arbejdsgangen for somatisk FASTQ- og VCF-genereringsanalyse med programmet DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Dette resulterede i 18 flowceller for henholdsvis den kimcellerelaterede arbejdsgang og den somatiske arbejdsgang.

## Kimcelle

Hvad angår kimcellekørslerne, rapporteres genomiske placeringer, hvor en målkimcellevariant detekteres, som positiv (variant). Hvad angår forventede positive kimcellevarianter, er dataene blevet evalueret med hensyn til rate for manglende bestemmelser og rate for procentdel af positive bestemmelser (PPC) inden for hver

varianttype (SNV, insertion, deletion). [Observationer vedrørende kimcellerapportering for forventede positive resultater efter varianttype på side 64](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden, for hver varianttype.

Tabel 30 Observationer vedrørende kimcellerapportering for forventede positive resultater efter varianttype

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede positive bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PPC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
SNV	0	991026	0	990276	991026	99,92	99,92	99,93
Insertion	0	38358	0	38358	38358	100	99,99	100
Deletion	0	34758	0	32228	34758	92,72	92,44	92,99

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Positive bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

Genomiske placeringer, hvor der ikke detekteres en målvariant, rapporteres som negative (vildtype). Hvad angår forventede negative placeringer, er dataene blevet evalueret med hensyn til raterne for manglende bestemmelse og procentdel af negative bestemmelser (PNC). [Observationer vedrørende kimcellerapportering for forventede negative resultater på side 64](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden.

Tabel 31 Observationer vedrørende kimcellerapportering for forventede negative resultater

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede negative bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PNC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
Vildtype	0	393516	0	393516	393516	100	>99,99	100

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Negative bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant ikke er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

## Somatisk

Hvad angår de somatiske kørsler, blev de genomiske placeringer, hvor en somatisk målvariant detekteres, rapporteret som positive (variant). For forventede positive somatiske varianter, hvor den gennemsnitlige variantallelfrekvens (VAF) er mindst 14 % og højst 28 %, blev dataene evalueret med hensyn til rate for manglende bestemmelser og rate for procentdel af positive bestemmelser (PPC) inden for hver varianttype (SNV, insertion, deletion). [Observationer vedrørende somatisk bestemmelse for forventede positive resultater efter varianttype \(gennemsnitlig VAF  \$\geq 14\$  % og  \$\leq 28\$  %\) på side 65](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden, for hver varianttype.



Tabel 32 Observationer vedrørende somatisk bestemmelse for forventede positive resultater efter varianttype (gennemsnitlig VAF  $\geq 14$  % og  $\leq 28$  %)

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede positive bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PPC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
SNV	0	71028	0	70314	71028	98,99	98,92	99,07
Insertion	0	1962	0	1962	1962	100	99,80	100
Deletion	0	2142	0	2098	2142	97,95	97,25	98,47

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Positive bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

Genomiske placeringer, hvor der ikke detekteres en somatisk målvariant, rapporteres som negative (vildtype). Hvad angår forventede negative placeringer, er dataene blevet evalueret med hensyn til raterne for manglende bestemmelse og procentdel af negative bestemmelser. [Observationer vedrørende somatisk bestemmelse for forventede negative resultater på side 65](#) opsummerer de observerede rater samt nedre og øvre 95 %-konfidensniveauer (LCL/UCL), der er beregnet med Wilson Score-metoden, for hver varianttype.

Tabel 33 Observationer vedrørende somatisk bestemmelse for forventede negative resultater

Varianttype	Observerede manglende bestemmelser <sup>1</sup>	Samlet antal bestemmelser	Procentdel af manglende bestemmelser	Observerede negative bestemmelser <sup>2</sup>	Samlet antal evaluerbare bestemmelser	PNC	95 % LCL <sup>3</sup>	95 %-UCL
Vildtype	0	92718	0	92714	92718	>99,99	99,99	100

<sup>1</sup> Manglende bestemmelser defineret som målrettet kromosomplacering, hvor en variant ikke kan bestemmes (grundet lav dækningsdybde).

<sup>2</sup> Negative bestemmelser som målrettede kromosomplaceringer, hvor en variant ikke er detekteret.

<sup>3</sup> Dobbelt-sidede 95 % konfidensintervaller beregnet ved hjælp af Wilson Score-metoden.

## Revisionshistorik

Dokument	Dato	Beskrivelse af ændring
Dokumentnr. 200025276 v01	September 2022	Opdaterede præcisionsdata for observationer vedrørende kimcellebestemmelser.
Dokumentnr. 200025276 v00	August 2022	Oprindelig udgivelse.

## Patenter og varemærker

Dette dokument og dets indhold er ophavsretligt beskyttet af Illumina, Inc. og dets datterselskaber ("Illumina") og er udelukkende beregnet til kundens kontraktmæssige brug i forbindelse med anvendelsen af det produkt eller de produkter, som er beskrevet heri, og til intet andet formål. Dette dokument og dets indhold må ikke bruges eller distribueres til noget andet formål og/eller på anden måde kommunikerer, offentliggøres eller reproduceres på nogen som helst måde uden forudgående skriftligt samtykke fra Illumina. Med dette dokument udsteder Illumina ingen licens under sit patent, varemærke, sin copyright eller sædvaneret eller lignende rettigheder for nogen tredjeparter.

Instruktionerne i dette dokument skal følges nøje og fuldstændigt af kvalificerede og behørigt uddannede medarbejdere for at sikre, at det produkt eller de produkter, der er beskrevet heri, anvendes korrekt og sikkert. Alt indhold i dette dokument skal læses grundigt og forstås inden brug af produktet/produkterne.

HVIS ALLE INSTRUKTIONERNE HERI IKKE GENNEMLÆSES FULDT UD OG FØLGES NØJE, KAN DET MEDFØRE SKADE PÅ PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE, SKADE PÅ PERSONER, HERUNDER BRUGERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANDEN EJENDOM OG VIL GØRE ENHVER GARANTI GÆLDENDE FOR PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE UGYLDIG.

ILLUMINA PÅTAGER SIG INTET ANSVAR SOM FØLGE AF FORKERT BRUG AF DET PRODUKT ELLER DE PRODUKTER, DER ER BESKREVET HERI (HERUNDER DELE HERAF ELLER SOFTWARE).

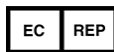
© 2022 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Alle varemærker tilhører Illumina, Inc. eller de respektive ejere. Specifikke varemærkeoplysninger er tilgængelige på [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Kontaktoplysninger



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (uden for Nordamerika)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



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

### Australsk sponsor

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

## Produktmærkning

Du kan finde en fyldestgørende forklaring på de symboler, der kan fremgå af produktemballagen og -mærkningen, i symbolforklaringen på [support.illumina.com](http://support.illumina.com) under fanen *Dokumentation* for det relevante sæt.