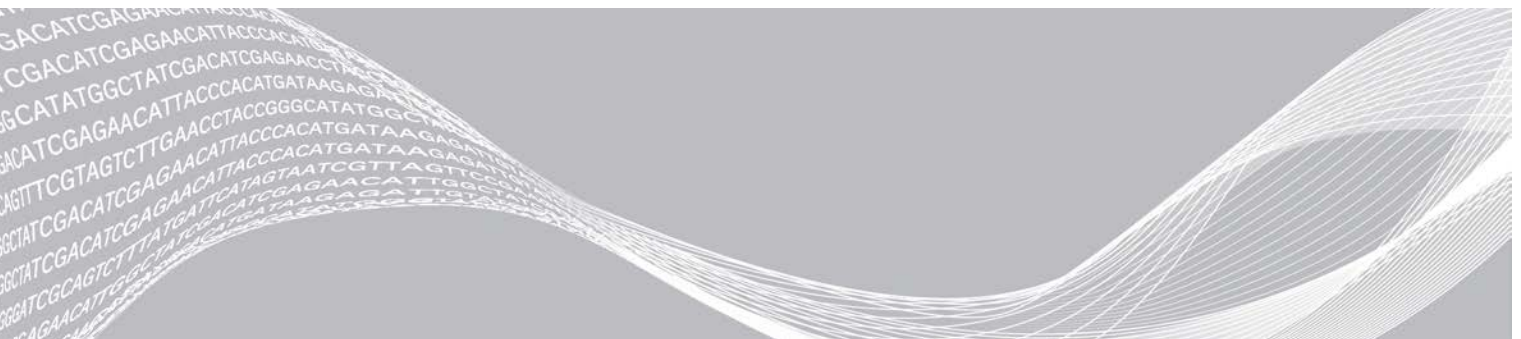


Модул за анализ Local Run Manager CF Clinical Seq 2.0

Ръководство за работния процес

ЗА ИН ВИТРО ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА

Общ преглед	3
Въвеждане на информация за изпълняването	3
Методи за анализ	5
Преглед на изпълняването и резултатите	5
Файл с данни за проследяване на партида	6
Отчет с резултати	7
Техническа помощ	10



Настоящият документ и съдържанието му са собственост на Illumina, Inc. и нейните филиали („Illumina“) и са предназначени само за употреба по силата на договор от страна на клиента и във връзка с използването на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ, и с никаква друга цел. Този документ и съдържанието му не трябва да се използват или разпространяват за никаква друга цел и/или по друг начин да бъдат съобщавани, разкривани или възпроизведени по какъвто и да е начин без предварителното писмено съгласие от страна на Illumina. Illumina не предоставя посредством този документ никакъв лиценз за свой патент, търговска марка, авторско право или права по силата на общото право, нито подобни права на която и да е трета страна.

Инструкциите в този документ трябва да се следват строго и изрично от страна на квалифициран и правилно обучен персонал, за да се гарантират правилната и безопасната употреба на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ. Цялото съдържание на този документ трябва да бъде прочетено и разбрано напълно, преди да се използва(т) такъв(такива) продукт(и).

АКО ВСИЧКИ ИНСТРУКЦИИ, СЪДЪРЖАЩИ СЕ В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ, НЕ БЪДАТ НАПЪЛНО ПРОЧЕТИ И ИЗРИЧНО СПАЗВАНИ, ТОВА МОЖЕ ДА ДОВЕДЕ ДО ПОВРЕДА НА ПРОДУКТ(ИТЕ), НАРАНЯВАНЕ НА ЛИЦАТА, ВКЛЮЧИТЕЛНО НА ПОТРЕБИТЕЛИТЕ ИЛИ ДРУГИ ЛИЦА, И УВРЕЖДАНЕ НА ДРУГО ИМУЩЕСТВО, И ЩЕ ОТМЕНИ ВСЯКАКВА ГАРАНЦИЯ, ПРИЛОЖИМА ЗА ПРОДУКТ(ИТЕ).

ILLUMINA НЕ ПОЕМА НИКАКВА ОТГОВОРНОСТ В РЕЗУЛТАТ НА НЕПРАВИЛНАТА УПОТРЕБА НА ПРОДУКТА (ИТЕ), ОПИСАН(И) В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ (ВКЛЮЧИТЕЛНО ТЕХНИ ЧАСТИ ИЛИ СОФТУЕР).

© 2021 Illumina, Inc. Всички права запазени.

Всички търговски марки са собственост на Illumina, Inc. или съответните им притежатели. За специфична информация относно търговските марки посетете www.illumina.com/company/legal.html.

Общ преглед

Модулът за анализ Local Run Manager CF Clinical Seq 2.0 е за употреба с TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay. Анализът открива мутации в регионите на кодиране на протеин и интрон-екзонните граници на гена „трансмембранен регулатор на проводимостта при кистозна фиброза“ (*CFTR*), включително две големи делеции и две дълбоки интронни мутации. Модулът за анализ извършва вторичен анализ и генериране на отчети от изпълнявания на секвениране, които използват TruSight Cystic Fibrosis. Вижте листовката в опаковката на *TruSight Cystic Fibrosis* (документ № 1000000097720).

Модулът за анализ оценява кратки области на амплифицирана ДНК или ампликони за варианти. Фокусираното секвениране на ампликоните позволява високо покритие на определени региони в голям брой проби.

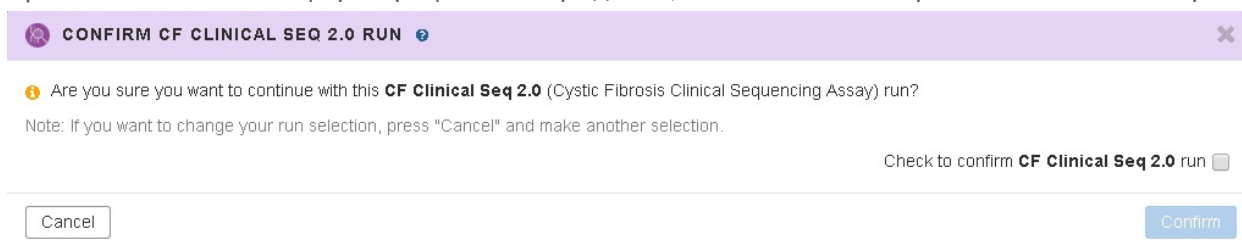
За това ръководство

Това ръководство предоставя инструкции за настройка на параметрите за изпълняване за секвениране и анализ за модула за анализ CF Clinical Seq 2.0. Използването на софтуера изисква основни познания за текущата операционна система Windows и потребителски интерфейс, базиран на уеб браузър. За информация относно таблото за управление на Local Run Manager и системните настройки вижте *Справочно ръководство за софтуера Local Run Manager за MiSeqDx* (документ № 1000000011880).

Въвеждане на информация за изпълняването

Задаване на параметри

- 1 Влезте в Local Run Manager.
- 2 Изберете **Create Run** (Създаване на изпълняване), след което изберете **CF Clinical Seq 2.0**. Ще се покаже изскачащ прозорец за потвърждение, че CF Clinical Seq 2.0 е желаният избор.



- 3 Изберете полето за отметка, след което изберете **Confirm** (Потвърждаване), за да продължите (или изберете **Cancel** (Отказ), за да се върнете към основния екран).
- 4 Въведете име на изпълняването, което идентифицира изпълняването от секвенирането до анализа.
Използвайте буквено-цифрови знаци, интервали, долни черти или тирета (40 знака или по-малко).
- 5 **[Незадължително]** Въведете описание на изпълняването.
Използвайте буквено-цифрови знаци, интервали, долни черти или тирета (150 знака или по-малко).

- Въведете номера на партидата и датата на изтичане на комплекта за подготовка на библиотеки.

Посочване на проби за изпълняването

Посочете пробите за изпълняването чрез една от следните опции.

- ▶ **Enter samples manually** (Ръчно въвеждане на проби) – Използвайте празната таблица на екрана Create Run (Създаване на изпълняване).
- ▶ **Import samples** (Импортиране на проби) – Посочете път до външен файл във формат със стойности, разделени със запетая (*.csv). На екрана Create Run (Създаване на изпълняване) се предлага шаблон за изтегляне.

Ръчно въвеждане на проби

- Въведете уникално име на пробата в полето Sample Name (Име на пробата). Използвайте буквено-цифрови знаци, тирета или долни черти (40 знака или по-малко).
- Щракнете с десния бутон и изберете положителни и отрицателни контролни проби. За да се запише изпълняване, то трябва да има поне една положителна и една отрицателна контрола.
- [Незадължително]** Въведете описание на пробата в раздела Description (Описание) на пробата. Използвайте буквено-цифрови знаци, тирета или долни черти (50 знака или по-малко).
- [Незадължително]** Изберете адаптер Index 1 (Индекс 1) от падащия списък Index 1 (i7) (Индекс 1 [i7]).
Тази стъпка не е задължителна, защото индексните комбинации i7 и i5 се попълват автоматично с подредба по подразбиране.
- [Незадължително]** Изберете адаптер Index 2 (Индекс 2) от падащия списък Index 2 (i5) (Индекс 2 [i5]).
Тази стъпка не е задължителна, защото индексните комбинации i7 и i5 се попълват автоматично с подредба по подразбиране.
- Изберете иконата **Print** (Печат) за показване на подредбата на плаката.
- Изберете **Print** (Печат) за отпечатване на подредбата на плаката като справочна информация за приготвяне на библиотеки.
- [Незадължително]** Изберете **Export** (Експортиране) за експортиране на информация за проба към файл.
- Изберете **Save Run** (Записване на изпълняване).
Ако са въведени по-малко от 24 проби, ще се покаже прозорецът Insufficient Sample (Недостатъчна проба). Изберете **Proceed** (Продължаване), за да продължите, или изберете **Cancel** (Отказ) за редактиране на пробите.



ВНИМАНИЕ

Продължаването с по-малко от 24 проби не е валидирано от Illumina. Вижте листовката в опаковката на TruSight Cystic Fibrosis (документ № 1000000097720) за повече информация.

Импортиране на проби

Информация за проби може да бъде импортирана от два типа файлове:

- ▶ Файл с информация за проба, който е бил експортиран преди това от модула CF Clinical Seq 2.0 чрез функцията Export (Експортиране).
- ▶ Файл с шаблон, който може да бъде генериран чрез избиране на **Template** (Шаблон) на екрана Create Run (Създаване на изпълняване). Файлът с шаблона съдържа правилните заглавия на колони за импортиране, като във всяка колона има информация за място за поставяне. Използвайте външен редактор, за да персонализирате файла с шаблона:
 - 1 Добавяне на информация за пробата за всяка проба в изпълняването.
 - 2 След като бъде добавена цялата информация за проба, изтрийте останалата информация за места за поставяне в неизползвани клетки.
 - 3 Запишете файла с шаблона.

За да импортирате информация за проба:

- 1 Изберете **Import Samples** (Импортиране на проби), след което прегледайте до файла и го изберете.
- 2 Изберете иконата **Print** (Печат) за показване на подредбата на плаката.
- 3 Изберете **Print** (Печат) за отпечатване на подредбата на плаката като справочна информация за приготвяне на библиотеки.
- 4 **[Незадължително]** Изберете **Export** (Експортиране) за експортиране на информация за проба към външен файл.
- 5 Изберете **Save Run** (Записване на изпълняване).
Ако са въведени по-малко от 24 проби, ще се покаже прозорецът Insufficient Sample (Недостатъчна проба). Изберете **Proceed** (Продължаване), за да продължите, или изберете **Cancel** (Отказ) за редактиране на пробите.



ВНИМАНИЕ

Продължаването с по-малко от 24 проби не е валидирано от Illumina. Вижте листовката в опаковката на TruSight Cystic Fibrosis (документ № 1000000097720) за повече информация.

Редактиране на изпълняване

За инструкции за редактиране на информацията във вашето изпълняване преди секвениране вижте *Справочното ръководство на софтуера Local Run Manager за MiSeqDx (документ № 1000000011880)*.

Методи за анализ

За описание на методите за анализ на TruSight Cystic Fibrosis вижте листовката в опаковката на *TruSight Cystic Fibrosis (документ № 1000000097720)*.

Преглед на изпълняването и резултатите

- 1 От основния екран на Local Run Manager щракнете върху името на изпълняването.

- 2 От раздела Run Overview (Общ преглед на изпълняването) прегледайте показателите за изпълняване на секвенирането.
- 3 **[Незадължително]** Изберете иконата **Copy to Clipboard** (Копиране в клипборда) за копиране на пътя до изходната папка за изпълняване.
- 4 Изберете раздела Sequencing Information (Информация за секвениране), за да прегледате параметрите на изпълняване и информацията за консумативите.
- 5 Изберете раздела Samples and Results (Проби и резултати), за да прегледате резултатите от анализа.
Разделът предоставя списък с проби, който обобщава честотата на обозначаване, функционирането, необозначените координати и информацията за контролите.
 - ▶ Ако анализът е бил повторен, разгънете падащия списък Select Analysis (Избор на анализ) и изберете подходящия анализ.
- 6 **[Незадължително]** Щракнете два пъти върху полето Comment (Коментар), за да въведете коментар за проба в списъка. Щракнете върху **Save Changes** (Записване на промените).
- 7 Изберете проби от списъка, за да се покаже подробна информация за варианта. Информация за варианта на пробата се показва под списъка с проби.
- 8 **[Незадължително]** Щракнете двукратно в полето в колоната Interpretation (Тълкуване), за да изберете една от следните опции:
 - ▶ CF – Причинява CF
 - ▶ MVCC – Мутация с различни клинични последиствия
 - ▶ MOUS – Мутация с неизвестна значимост
 - ▶ NCFCM – Мутация, която не причинява CF
 - ▶ Unknown (Неизвестно)Щракнете върху **Save Changes** (Записване на промените).



ЗАБЕЛЕЖКА

Всеки път, когато промените се записват, файл с резултати от анализа ще се генерира в папката **Alignment** (Подравняване). Този файл включва клеймо за време, добавено към името на файла, във формат YYYYMMDD_HHMMSS.

За повече информация за разделите Run Overview (Общ преглед на изпълняване) и Sequencing Information (Информация за секвениране) и как да поставите анализи на изчакване на опашка вижте *Справочното ръководство на софтуера Local Run Manager за MiSeqDx (документ № 1000000011880)*.

Файл с данни за проследяване на партида

След като анализът приключи, изберете една от следните опции, за да видите файла **LotTracking.txt**.

- ▶ От раздела Sample and Results (Проба и резултати) щракнете върху **Export Lot Tracking Data** (Експортиране на данни за проследяване на партида).
- ▶ Отворете файла в папката Alignment (Подравняване).
Пътят до папката Alignment (Подравняване) се показва в раздела Samples and Results (Проби и резултати) в полето Analysis Folder (Папка за анализ).
 - ▶ **[Незадължително]** Изберете иконата **Copy to Clipboard** (Копиране в клипборда) за копиране на пътя до папката за анализ.

Когато анализът приключи, файлът с данни за проследяване на партидата се записва в папката Alignment (Подравняване) за изпълняването. Например: `MiSeqAnalysis\. N е пореден номер, който се увеличава, ако анализът е поставен повторно на изчакване на опашка. YYMMDD_HHMMSS е клеймото за време на изпълняването.`

Отчет с резултати

След завършване на вторичния анализ резултатите от анализа се обобщават в раздела Samples and Results (Проби и резултати). Файл с резултатите от анализа (изходен) за анализа също така обобщава резултатите в текстов файл, разделен с табулатор, озаглавен `TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt`.

Резултатите във файла с резултати от анализа включват информацията, която се намира в раздела Sample and Results (Проба и резултати). Изберете една от следните опции за преглед на файла с резултати от анализа `TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt`:

- ▶ От раздела Sample and Results (Проба и резултати) щракнете върху **Export Data** (Експортиране на данни).
- ▶ Отворете файла в папката Alignment (Подравняване).
Пътят до папката Alignment (Подравняване) се показва в полето Analysis Folder (Папка за анализ) на раздела Samples and Results (Проби и резултати).



ЗАБЕЛЕЖКА

Изберете иконата **Copy to Clipboard** (Копиране в клипборда) за копиране на пътя до папката за анализ.

Файловете за анализ за всяко изпълняване на секвениране се съхраняват на инструмента, като файловете се записват в `MiSeqAnalysis\ и MiSeqAnalysis\. N е пореден номер, който се увеличава, ако анализът е нареден повторно на опашка. YYMMDD_HHMMSS е клеймото за време на изпълняването.`

Информация за файл с резултат от анализа

Файлът с резултат от анализа `TruSightClinicalSequencingAssay.txt` включва три раздела: хедер на файла, информация за пробата и информация за варианти на пробата. Хедерът на файла се посочва на първо място и включва обща информация за изпълняването. Имайте предвид, че има само един хедер на файл за изпълняване. За разлика, информацията за пробата и информацията за вариантите на пробата са включени за всяка проба, използвана в анализа. Тези раздели се сдвояват заедно за всяка проба.

Следващата таблица предоставя описание на всеки ред в хедера на файла, който включва информация за изпълняването:

Таблица 1 Хедер на файла (информация за изпълняването)

Заглавие на реда	Описание
Test (Тест)	Описва теста, който е извършен.
Run ID (ИД на изпълняване)	ИД на изпълняване, генериран от операционния софтуер MiSeq (MOS) в началото на изпълняването на секвенирането.
Run Date (Дата на изпълняването)	Дата (ГГММДД), на която изпълняването на секвенирането е стартирано в MOS.

Заглавие на реда	Описание
Analysis Version (Версия на анализ)	Версия на софтуера, която е използвана за анализ.

Следващата таблица предоставя описание на всеки ред в разделите с информация за пробата:

Таблица 2 Информация за пробата

Заглавие на реда	Описание
Sample ID (ИД на проба)	Името на пробата, предоставено при създаването на изпълняването, комбинирано с ИД на анализ, зададен от софтуера Local Run Manager. Ако повторно наредите изпълняване на опашка, частта с името на пробата на ИД на пробата остава същата, а ИД на анализа се променя. Това поле е само във файла *.txt.
Sample Name (Име на пробата)	Името на пробата, предоставено при създаването на изпълняването.
Control (Контрола)	Типът контрола, предоставен при създаването на изпълняването. Стойностите са положителни или отрицателни. Празно поле показва само проба.
Comment (Коментар)	Незадължително текстово поле за коментари. Коментарите от предишно изпълняване на анализ не се пренасят към следващото изпълняване на анализ.
Performance (Функциониране)	Оценка Pass (Преминава) или Fail (Не преминава) на базата на честотата на обозначаване. За положителна контролна проба: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (ПРЕМИНАВА) – с честота на обозначаване $\geq 99\%$ • FAIL (НЕ ПРЕМИНАВА) – с честота на обозначаване $< 99\%$ За отрицателна контролна проба: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (ПРЕМИНАВА) – с честота на обозначаване $\leq 10\%$ • FAIL (НЕ ПРЕМИНАВА) – с честота на обозначаване $> 10\%$ За проба, която не е означена като положителна или отрицателна контрола: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (ПРЕМИНАВА) – с честота на обозначаване $\geq 99\%$ • FAIL (НЕ ПРЕМИНАВА) – с честота на обозначаване $< 99\%$
Sample Call Rate (Честота на обозначаване на проба)	Броят на вариантите позиции, които отговарят на предварително дефиниран праг на стойност на доверителност, разделен на общия брой запитани варианти. Честотата на обозначаването се описва на база за извадка и се отчита като процент, който се изчислява като 1 минус [брой варианти на позиции с непълни обозначавания, разделен на общия брой секвенирани варианти на позиции].

Следващата таблица предоставя описание на всяка колона в разделите с варианти на пробата:

Таблица 3 Информация за варианти на пробата

Заглавие на колона	Описание
Variant Type (Тип вариант)	Типът вариант <ul style="list-style-type: none"> • SNV – Еднонуклеотиден вариант • DIV – Делеция/инсерция вариант • DEL – Голяма делеция • PolyTGPolyT – PolyTG/PolyT генотип в гена CF
Coordinate (Координата)	Геномната позиция, в която се открива вариантът. Името на полето е Coordinate (Координата) във файла *.txt.
Chromosome (Хромозома)	Референтният ИД на хромозомата. Името на полето е Chromosome (Хромозома) във файла *.txt.

Заглавие на колона	Описание
Frequency (Честота)	Фракцията на разчитанията за пробата, която включва варианта. Ако например референтната база при конкретна позиция е А и проба 1 има 60 разчитания на А и 40 разчитания на Т, то SNV е с честота на варианта 0,4.
Depth (Дълбочина)	Броят разчитания на проба, покриващ конкретна позиция.
cDNA Name (HGVS) (Име на κДНК [HGVS])	Описание на варианта на ниво ДНК, като се използва номенклатура на последователността на кодираща ДНК (κДНК), както се препоръчва от Human Genome Variation Society (HGVS) (Обществото за вариация на човешкия геном, HGVS).
Protein Name (HGVS) (Име на протеина [HGVS])	Описание на варианта на ниво протеин, като се използва номенклатура на последователността на протеина, както се препоръчва от Human Genome Variation Society (HGVS) (Обществото за вариация на човешкия геном, HGVS).
dbSNP ID (ИД на dbSNP)	ИД на dbSNP на варианта. Името на полето е dbSNP ID (ИД на dbSNP) във файла *.txt.
Reference (Референция)	Референтната база при геномната координата, където се появява вариантът. Reference (Референция) във файла *.txt.
Result (Резултат)	Генотип на варианта. <ul style="list-style-type: none"> • SNV или DIV – Описани са двата наблюдавани алела. А/Т например описва SNV, където се наблюдават алелите А и Т и е хетерозиготен. Дивият тип алел е посочен първи, последван от вариантния алел. • Small Deletions (Малки делеции) – Вариантният алел описва алела с делеция. Например АТСТ/А. • Insertions (Инсерции) – Вариантният алел описва алела с инсерция. Например С/СТ. • DEL – Резултатът се отчита като Het делеция или Hom делеция. • PolyTGPolyT – Отчита се действителният генотип. Името на полето е Result (Резултат) във файла *.txt.
Interpretation (Тълкуване)	Това поле дава възможност на медицинския генетик да предостави клинично тълкуване на мутацията за всяка проба. <ul style="list-style-type: none"> • CF – Причинява CF • MVCC – Мутация с различни клинични последствия • MOUS – Мутация с неизвестна значимост • NCFCM – Мутация, която не причинява CF • Unknown (Неизвестно)

Разделът с информация за варианти на пробата включва също и запис Coordinates Not Called (Необозначени координати), в който се изброяват геномните координати в рамките на целевия регион, където не е отчетено обозначаване поради ниски стойности на доверителност.

Техническа помощ

За техническа помощ се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina.

Уеб сайт: www.illumina.com
Имейл: techsupport@illumina.com

Телефонни номера на отдела за техническа поддръжка на Illumina

Регион	Безплатен	Регионален
Северна Америка	+1.800.809.4566	
Австралия	+1.800.775.688	
Австрия	+43 800006249	+43 19286540
Белгия	+32 80077160	+32 34002973
Германия	+49 8001014940	+49 8938035677
Дания	+45 80820183	+45 89871156
Ирландия	+353 1800936608	+353 016950506
Испания	+34 911899417	+34 800300143
Италия	+39 800985513	+39 236003759
Китай	400.066.5835	
Нидерландия	+31 8000222493	+31 207132960
Нова Зеландия	0800.451.650	
Норвегия	+47 800 16836	+47 21939693
Обединеното кралство	+44 8000126019	+44 2073057197
Сингапур	+1.800.579.2745	
Тайван, Китай	00806651752	
Финландия	+358 800918363	+358 974790110
Франция	+33 805102193	+33 170770446
Хонконг, Китай	800960230	
Швейцария	+41 565800000	+41 800200442
Швеция	+46 850619671	+46 200883979
Южна Корея	+82 80 234 5300	
Япония	0800.111.5011	
Други държави	+44.1799.534000	

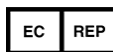
Информационни листове за безопасност (ИЛБ) – налични на уеб сайта на Illumina на адрес support.illumina.com/sds.html.

Документация на продукта – налична за изтегляне от support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way
San Diego, California 92122, САЩ
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (извън Северна Америка)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Спонсор в Австралия

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

ЗА ИН ВИТРО ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА ©

2021 г. Illumina, Inc. Всички права запазени.

illumina[®]