

illumina®

Illumina TruPath Genome

Dokumentace k produktu

VLASTNICTVÍ SPOLEČNOSTI ILLUMINA

Dokument č. 200065852 v00

Únor 2026

Pouze pro výzkumné účely. Není určeno pro diagnostické postupy.

Tento dokument a jeho obsah je vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. a jejích přidružených společností (dále jen „Illumina“). Slouží výlučně zákazníkovi ke smluvním účelům v souvislosti s použitím zde popsanych produktů a k žádnému jinému účelu. Tento dokument a jeho obsah nesmí být používán ani šířen za žádným jiným účelem ani jinak sdělován, zveřejňován či rozmnožován bez předchozího písemného souhlasu společnosti Illumina. Společnost Illumina nepředává tímto dokumentem žádnou licenci na svůj patent, ochrannou známku, autorské právo či práva na základě zvykového práva ani žádná podobná práva kterýchkoli třetích stran.

Pokyny v tomto dokumentu musí být důsledně a výslovně dodržovány kvalifikovaným a řádně proškoleným personálem, aby bylo zajištěno správné a bezpečné používání zde popsanych produktů. Veškerý obsah tohoto dokumentu musíte před použitím takových produktů beze zbytku přečíst a pochopit.

NEDODRŽENÍ POŽADAVKU NA PŘEČTENÍ CELÉHO TEXTU A NA DŮSLEDNÉ DODRŽOVÁNÍ ZDE UVEDENÝCH POKYNŮ MŮŽE VÉST K POŠKOZENÍ PRODUKTŮ, PORANĚNÍ OSOB, AŤ UŽ UŽIVATELŮ ČI JINÝCH OSOB, A POŠKOZENÍ JINÉHO MAJETKU A POVEDE KE ZNEPLATNĚNÍ JAKÉKOLI ZÁRUKY VZTAHUJÍCÍ SE NA PRODUKT.

SPOLEČNOST ILLUMINA NA SEBE NEBERE ŽÁDNOU ODPOVĚDNOST VYPLÝVAJÍCÍ Z NESPRÁVNÉHO POUŽITÍ ZDE POPSANÝCH PRODUKTŮ (VČETNĚ DÍLŮ TĚCHTO PRODUKTŮ NEBO SOFTWARE).

© 2026 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

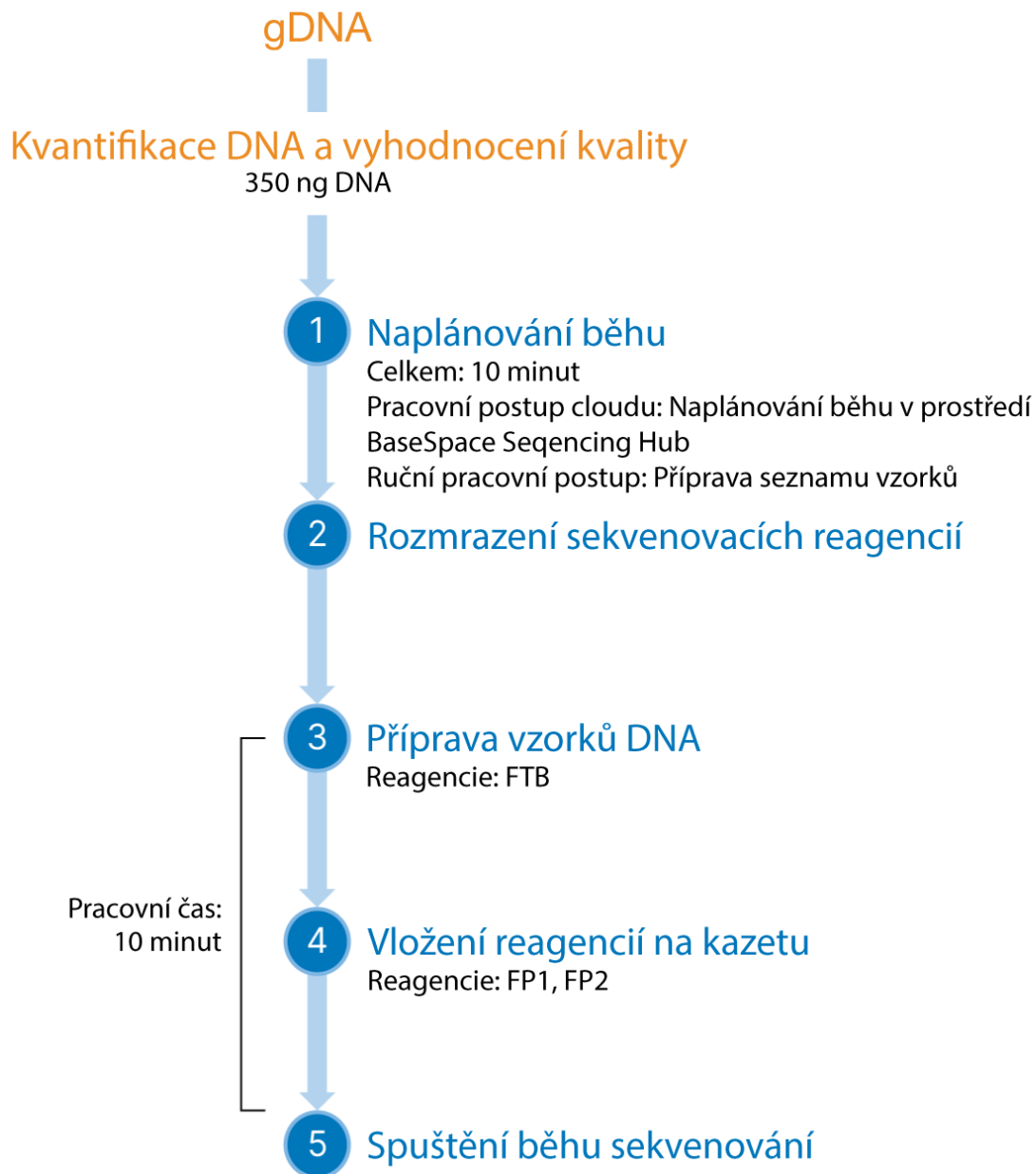
Všechny ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. nebo jejich příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách viz adresa www.illumina.com/company/legal.html.

Obsah

| | |
|--|-----------|
| Přehled | 1 |
| Doporučení pro vstup DNA | 2 |
| Spotřební materiál a vybavení | 4 |
| Spotřební materiály/reagencie Genom TruPath | 4 |
| Spotřební materiály a vybavení dodávané uživatelem | 5 |
| Protokol | 7 |
| Kvantifikace gDNA a vyhodnocení kvality | 7 |
| Plánování běhu | 7 |
| Rozmrazení sekvenovacích reagensů | 7 |
| Příprava vzorků DNA | 8 |
| Vložení reagensů na kazetu | 9 |
| Zdroje a literatura | 11 |
| Historie revizí | 11 |

Přehled

Tato produktová dokumentace podrobně popisuje pracovní postup Illumina Genom TruPath a následující diagram ilustruje pracovní postup.



Doporučení pro vstup DNA

Kvalita genomické DNA

Pracovní postup Genom TruPath vyžaduje purifikovanou genomickou DNA (gDNA) extrahovanou z buněk nebo krev v odběrových zkumavkách K2EDTA s vhodnou soupravou podle typu vzorku. Širší rozsah typů vzorků naleznete v technické poznámce [Výkonnost Genom TruPath se vzorky různého typu a kvality](#). Tento pracovní postup není vhodný pro vzorky FFPE gDNA nebo extrakce cfDNA. Posudte kvalitu gDNA pomocí jedné z následujících metod:

- **Test Agilent gDNA ScreenTape** – Použijte nástroj pro analýzu oblasti k vyhodnocení podílů fragmentů větších než 10 kb a 60 kb. Vzorek by měl obsahovat minimálně 50 % fragmentů DNA větších než 10 kb. I vzorky nižší kvality mohou poskytnout přijatelné sekvenční údaje z krátkých čtení, avšak přinesou jen minimální množství doplňkových údajů o blízkosti. Pro nejlepší výsledky údajů o blízkosti použijte vzorek se 70 % nebo více fragmentů DNA mezi 10 kb a 500 kb a 40 % nebo více fragmentů mezi 60 kb a 500 kb.
- **Souprava Agilent Femto Pulse gDNA 165 kb** – Vzorek by měl získat minimálně hodnotu GQN 5,0. I vzorky nižší kvality mohou poskytnout přijatelné sekvenční údaje z krátkých čtení, avšak přinesou jen minimální množství doplňkových údajů o blízkosti. Chcete-li získat nejkvalitnější data o blízkosti, použijte vzorek s hodnotou GQN nejméně 7,0 při prahové hodnotě 10 kb a nejméně 4,0 při prahové hodnotě 60 kb.

Pokyny k použití Agilent TapeStation nebo Agilent Femto Pulse naleznete na webových stránkách výrobce. Pro zlepšení kvality DNA a měření blízkosti Genom TruPath použijte extrakční sadu DNA s vysokou molekulární hmotností (HMW).

Kvantita genomické DNA

Genom TruPath doporučuje vstup DNA 350 ng gDNA na vzorek na řadu. Při snížení vstupního množství vzorku na 175 ng se získají data o pokrytí v blízkém okolí, avšak hloubka pokrytí autosomů může být snížena.

- Před extrakcí skladujte vzorky krve po dobu až tří dnů při teplotě 2 °C až 8 °C. Pokud vzorky skladujete déle než tři dny, uchovávejte je při teplotě -25 °C až -15 °C.
- Vyhněte se více než 10 cyklům zmrazení a rozmrazení DNA.
- Změňte koncentraci DNA v každém vzorku pomocí fluorometru Qubit s využitím soupravy testu Qubit pro dsDNA. Viz webové stránky výrobce.

Manipulace s DNA

- Při použití HMW DNA může být roztok viskózní a tvořit vlákna, což může ztěžovat pipetování < 20 µl. Přitlačte špičku pipety na dno zkumavky, aby se rozbila vlákna ve vzorku a bylo možné provést přesné pipetování.
- DNA HMW nevortexujte.

- Při míchání DNA používejte pipetovací špičky s širokým otvorem, aby nedocházelo ke stříhu.

Spotřební materiál a vybavení

Protokol Genom TruPath vyžaduje následující spotřební materiál a vybavení:

- Buď průtoková kyveta C2 (pro dva vzorky, jeden na řadu) spárovaná s kazetou reagensů NovaSeq X 1.5 B, nebo průtoková kyveta C8 (pro osm vzorků, jeden na řadu) spárovaná s kazetou reagensů NovaSeq X 10B.
- Reagencie Genom TruPath.
- Různý spotřební materiál a vybavení dodávané uživatelem.

Spotřební materiály/reagencie Genom TruPath

Spotřební materiály pro sadu se dvěma vzorky

Illumina katalogové č. 20157406

| Součást sady | Skladovací teplota |
|---|--------------------|
| Sada reagensů Genom TruPath | -25 °C až -15 °C |
| Průtoková kyveta řady C2 NovaSeq X | 2 °C až 8 °C |
| Lyo vložka řady 1.5B NovaSeq X | -25 °C až -15 °C |
| Kazeta reagensů řady 1.5B NovaSeq X (300 cyklů) | -25 °C až -15 °C |
| Proužek zkumavek knihovny NovaSeq X řady 1.5B | Pokožová teplota |
| Kazeta s pufrem řady NovaSeq X | Pokožová teplota |

Spotřební materiály pro sadu s osmi vzorky

Illumina katalogové č. 20157405

| Součást sady | Skladovací teplota |
|--|--------------------|
| Sada reagensů Genom TruPath | -25 °C až -15 °C |
| Průtoková kyveta řady C8 NovaSeq X | 2 °C až 8 °C |
| Lyo vložka řady 10B NovaSeq X | -25 °C až -15 °C |
| Kazeta reagensů řady 10B NovaSeq X (300 cyklů) | -25 °C až -15 °C |
| Proužek zkumavek knihovny NovaSeq X řady 10B/25B | Pokožová teplota |
| Kazeta s pufrem řady NovaSeq X | Pokožová teplota |

Sada reagensíí Genom TruPath

Illumina katalogové č. 20138424

| Reagencie | Skladovací teplota |
|---|--------------------|
| FP1 (přípravná směs průtokové kyvety 1) | -25 °C až -15 °C |
| FT2 (transpozom průtokové kyvety 2) | -25 °C až -15 °C |
| FTB (tagmentační pufr FC) | -25 °C až -15 °C |

Spotřební materiály a vybavení dodávané uživatelem

| Spotřební materiály a vybavení | Dodavatel |
|--|--|
| Mikroodstředivka | Dodavatel běžného laboratorního vybavení |
| Fluorometr Qubit 4 | Thermo Fisher Scientific, kat. č. Q33238 |
| Sada testu Qubit dsDNA, HS nebo BR | Jedna z následujících možností v závislosti na kvantifikační metodě: Stanovení HS, Thermo Fisher Scientific, katalogové č. Q32851 nebo Q32854 Stanovení HS, Thermo Fisher Scientific, katalogové č. Q32850 nebo Q32853 |
| Voda bez nukleázy | Dodavatel běžného laboratorního vybavení |
| Jednokanálová pipeta, 1 nebo 5 ml | Dodavatel běžného laboratorního vybavení |
| Jednokanálová pipeta, 200 µl | Dodavatel běžného laboratorního vybavení |
| Pipetovací špičky se širokým průměrem, 200 µl* | Dodavatel běžného laboratorního vybavení |
| Jednokanálová pipeta, 20 µl | Dodavatel běžného laboratorního vybavení |
| Pipetovací špičky se širokým průměrem, 20 µl* | Dodavatel běžného laboratorního vybavení |

*Při manipulaci s DNA HMW se doporučují špičky se širokým průměrem. Standardní špičky mohou způsobit fragmentaci DNA, což vede k menšímu profilu velikosti DNA, než je požadováno. Pokud nejsou k dispozici pipetovací špičky s širokým průměrem, lze použít běžné špičky; vyhněte se však opakovaným cyklům aspirace/dávkování.

Důrazně se doporučuje vyhodnotit kvalitu gDNA, aby se zajistilo, že vzorek DNA splňuje stanovené prahové hodnoty kvality. Pro dimenzování DNA je vhodné následující vybavení a spotřební materiály.

| Spotřební materiály a vybavení (volitelné) | Dodavatel |
|---|---|
| TapeStation | Agilent, katalogové č. G2991BA nebo G2992AA |
| Analýza genomické DNA | Agilent, katalogové č. 5067-5366 a 5067-5365 |
| Femto pulzní systém | Agilent, katalogové č. M5330AA |
| Souprava pro analýzu Femto Pulse gDNA 165 kb | Agilent, katalogové č. FP-1002-0275 |

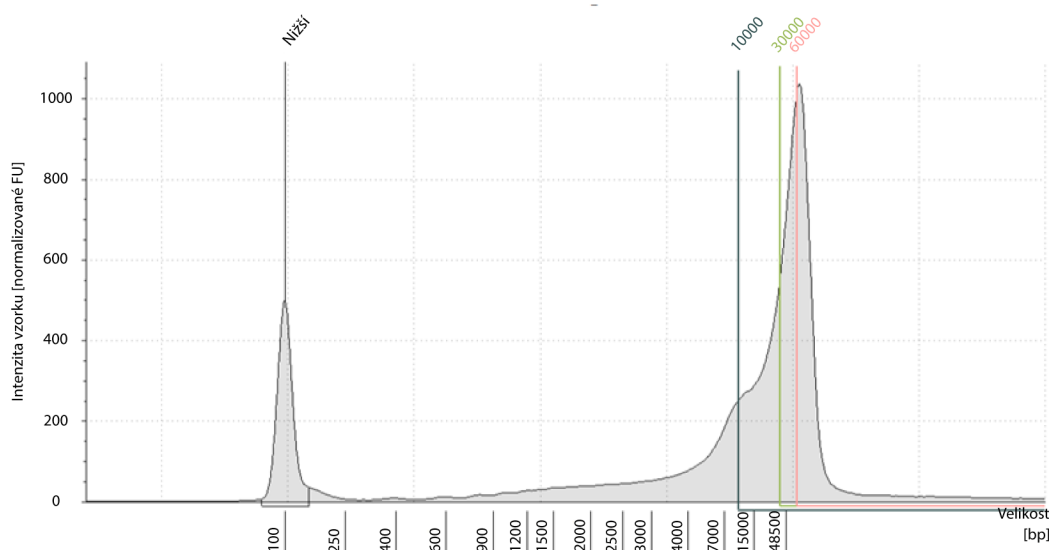
Protokol

Tato část popisuje protokol Genom TruPath.

Kvantifikace gDNA a vyhodnocení kvality

1. Kvantifikujte DNA pomocí fluorometru Qubit se sadou dsDNA. Illumina doporučuje použití zásoby gDNA, která je menší než 100 ng/μl, aby bylo možné provést vysoce přesnou kvantifikaci, hodnocení kvality a pipetování dále v protokolu. Cílové konečné vnesené množství činí 350 ng.
2. Illumina doporučuje provést QC DNA buď na TapeStation (páska gDNA) nebo na Femto Pulse (sada gDNA 165 kb). Specifikace kvality viz [Doporučení pro vstup DNA na straně 2](#).

Obrázek 1 Profilování velikosti vstupu gDNA pomocí Agilent TapeStation



Plánování běhu

Podrobné pokyny k plánování běhu v BaseSpace Sequence Hub nebo k seznamu vzorků naleznete v [Uživatelské příručce k softwaru Genom TruPath](#).

Rozmrazení sekvenovacích reagensí

Podrobné pokyny k rozmrazování reagensí viz [Dokumentace k přístroji NovaSeq X \(dokument č. 200027529\)](#).

Příprava vzorků DNA

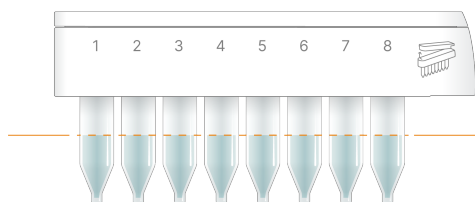
1. Vyjměte reagenty Genom TruPath ze soupravy a rozmrazujte je při pokojové teplotě po dobu 20 minut.
 - FP1 (modrý proužek na štítku)
 - FT2 (červený proužek na štítku)
 - FTB (průhledný proužek na štítku)
2. Po rozmrazení lze uchovávat reagenty na ledu až čtyři hodiny. Pokud reagenty nepoužíváte, vraťte je do mrazicího boxu.
3. Pomalu pětikrát napipetujte plný objem FTB a krátce ho odstředte na stolní odstředivce.
4. Ujistěte se, že je zásoba DNA řádně rozmrazena. Pomalu pětikrát napipetujte obsah, abyste se ujistili, že je zcela resuspendovaný, zejména HMW DNA. Doporučuje se 200µl špička s širokým průměrem.
5. Odvíčkejte strip rentgenky knihovny.
6. U každého vzorku přidejte do **jedné** zkumavky se vzorkem proužků zkumavek knihovny v uvedeném pořadí následující:

 Ujistěte se, že zkumavka se vzorkem odpovídá správné řadě přiřazené v seznamu vzorků.

| Objednávka | Reagenty | Objem |
|-----------------------|-----------------------|---|
| 1 | Voda bez nukleázy | Variabilní (153 µl – objem zásoby gDNA 350 ng) |
| 2 | FTB | 17 µl |
| 3 | Zásoba gDNA 350 ng | Proměnná (v závislosti na koncentraci zásob gDNA) |
| Celkový objem: | | 170 µl |

Pokud je například koncentrace zásob gDNA 100 ng/µl, pak objem zásob gDNA 350 ng bude 3,5 µl (350 ng ÷ 100 ng/µl). Objem vody bez nukleázy bude 149,5 µl (153 µl – 3,5 µl gDNA zásob).

7. Nastavte pipetu P200 na 150 µl.
8. Pomocí nové pipetovací špičky na každý vzorek pomalu pětikrát napipetujte obsah, aby se promíchal, a zabraňte tvorbě bublinek. Ujistěte se, že v dolní části nejsou žádné vzduchové mezery. Doporučuje se 200µl špička s širokým průměrem. Nepoužívejte špičku P1000.
9. Odvíčkejte proužek zkumavek knihovny.
10. **Volitelné:** Krátce odstředte proužek zkumavky a ujistěte se, že na dně zkumavek nejsou vzduchové mezery. Viz [Dokumentace k přístroji NovaSeq X \(dokument č. 200027529\)](#).
11. Ujistěte se, že je objem konzistentní ve všech zkumavkách.

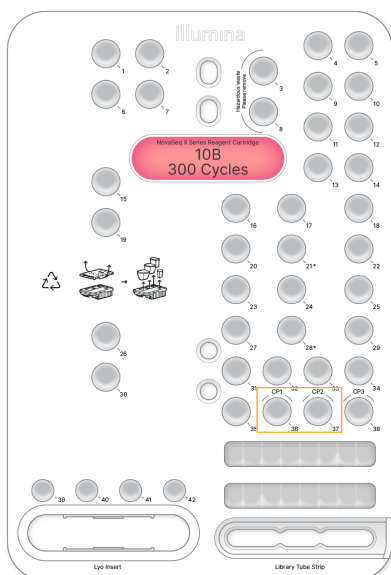


12. Vložte proužek zkumavky s knihovnou do reagenční kazety a zatlačte ji dolů. Lehké cvaknutí označuje, že je proužek zkumavek knihovny na svém místě. Ujistěte se, že je proužek zkumavek knihovny v kazetě rovně.

Vložení reagensí na kazetu

Objemy reagensí uvedené v následujících pokynech jsou stejné pro kazety 1.5B i 10B.

- ! Po přidání FP1 nebo FT2 nerozmraženou reagenční kazetu nepřevracejte. Viz [Dokumentace k přístroji NovaSeq X \(dokument č. 200027529\)](#).
1. Čistou pipetovací špičkou propíchněte fóliové těsnění pozic CP1 a CP2 reagenční kazety. Pozice CP1 a CP2 jsou zvýrazněné na následujícím obrázku.



i Pozice CP3 se pro pracovní postup Genom TruPath nepoužívá.

2. Opatrně několikrát převraťte FP1 (modrý proužek na štítku), aby se obsah promíchal.
3. Pipetou přeneste 3 ml FP1 do pozice CP1 kazety.
Celkový objem náplně je 3 ml. To může, ale nemusí použít celý obsah zkumavky FP1.
4. Opatrně několikrát převraťte FP2 (červený proužek na štítku), aby se obsah promíchal.
5. Pipetou přeneste 2,6 ml FP2 do pozice CP2 kazety.
Celkový objem náplně je 2,6 ml. To může, ale nemusí použít celý obsah zkumavky FP2.

6. Vložte lyo vložku do kazety reagensů a zatlačte dolů. Slyšitelné cvaknutí označuje, že je lyo vložka na svém místě.
7. Pokračujte podle standardního postupu zakládání přístroje. Viz [Dokumentace k přístroji NovaSeq X \(dokument č. 200027529\)](#).

Zdroje a literatura

Stránky podpory na [webových stránkách Illumina](#) obsahují software, školicí zdroje, informace o kompatibilitě produktů a následující dokumentaci. Stránky podpory pravidelně kontrolujte, naleznete na nich vždy nejnovější verze.

Další zdroje

| Zdroj | Popis |
|--|--|
| Dokumentace k produktu NovaSeq X Series | Poskytuje technické informace pro používání řady Illumina NovaSeq X. |
| Illumina Genom TruPath Uživatelská příručka k softwaru | Poskytuje technické informace pro používání softwaru Illumina Genom TruPath. |
| Genom TruPath Výkon se vzorky různého typu a kvality | Poskytuje technické informace pro širší škálu typů vzorků s Genom TruPath. |
| Illumina Genom TruPath Datový list | Poskytuje technické informace o funkcích Genom TruPath. |

Historie revizí

| Dokument | Datum | Popis změny |
|---------------------------|-----------|---------------|
| Dokument č. 200065852 v00 | Únor 2026 | První vydání. |



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, Kalifornie 92122, Spojené státy americké
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (mimo Severní Ameriku)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

Pouze pro výzkumné účely. Není určeno pro diagnostické postupy.

© 2026 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

illumina®