



Illumina TruPath Genome

Dokumentacija proizvoda

VLASNIŠTVO TVRTKE ILLUMINA

Broj dokumenta 200065852 v01

Svibanj 2026.

Samo za istraživačke svrhe. Nije za upotrebu u dijagnostičkim postupcima.

Ovaj dokument i njegov sadržaj vlasništvo su tvrtke Illumina, Inc. i njezinih povezanih društava („Illumina“) te su namijenjeni isključivo za ugovornu upotrebu klijentima u vezi s proizvodom(ima) opisanim u njemu(ima). Dokument i njegov sadržaj ne smiju se upotrebljavati ni distribuirati ni u koju drugu svrhu niti se smiju na neki drugi način prenositi, otkrivati ili reproducirati bez prethodnog pisanog odobrenja tvrtke Illumina. Illumina ovim dokumentom ne prenosi nikakve licencije zaštićene svojim pravom na patent, žig, autorskim pravom ili običajnim pravom ni slična prava bilo koje treće strane.

Kvalificirano osoblje s odgovarajućom izobrazbom mora se strogo i bez iznimki pridržavati uputa u ovom dokumentu da bi se zajamčila pravilna i sigurna upotreba proizvoda opisanih u njemu. Prije upotrebe proizvoda nužno je s razumijevanjem pročitati cjelokupan sadržaj dokumenta.

AKO UPUTE U DOKUMENTU NE PROČITATE U CIJELOSTI TE IH SE NE PRIDRŽAVATE BEZ IZNIMKI, MOŽE DOĆI DO OŠTEĆENJA PROIZVODA, OZLJEDA KORISNIKA ILI DRUGIH OSOBA I DO OŠTEĆENJA DRUGE IMOVINE TE SE TIME PONIŠTAVAJU SVA JAMSTVA ZA PROIZVOD(E).

ILLUMINA NE PREUZIMA ODGOVORNOST ZA ŠTETE NASTALE USLIJED NEPRAVILNE UPOTREBE PROIZVODA KOJI JE (SU) OPISAN(I) U OVOM DOKUMENTU (UKLJUČUJUĆI DIJELOVE TOG(TIH) PROIZVODA I SOFTVER).

© 2026. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

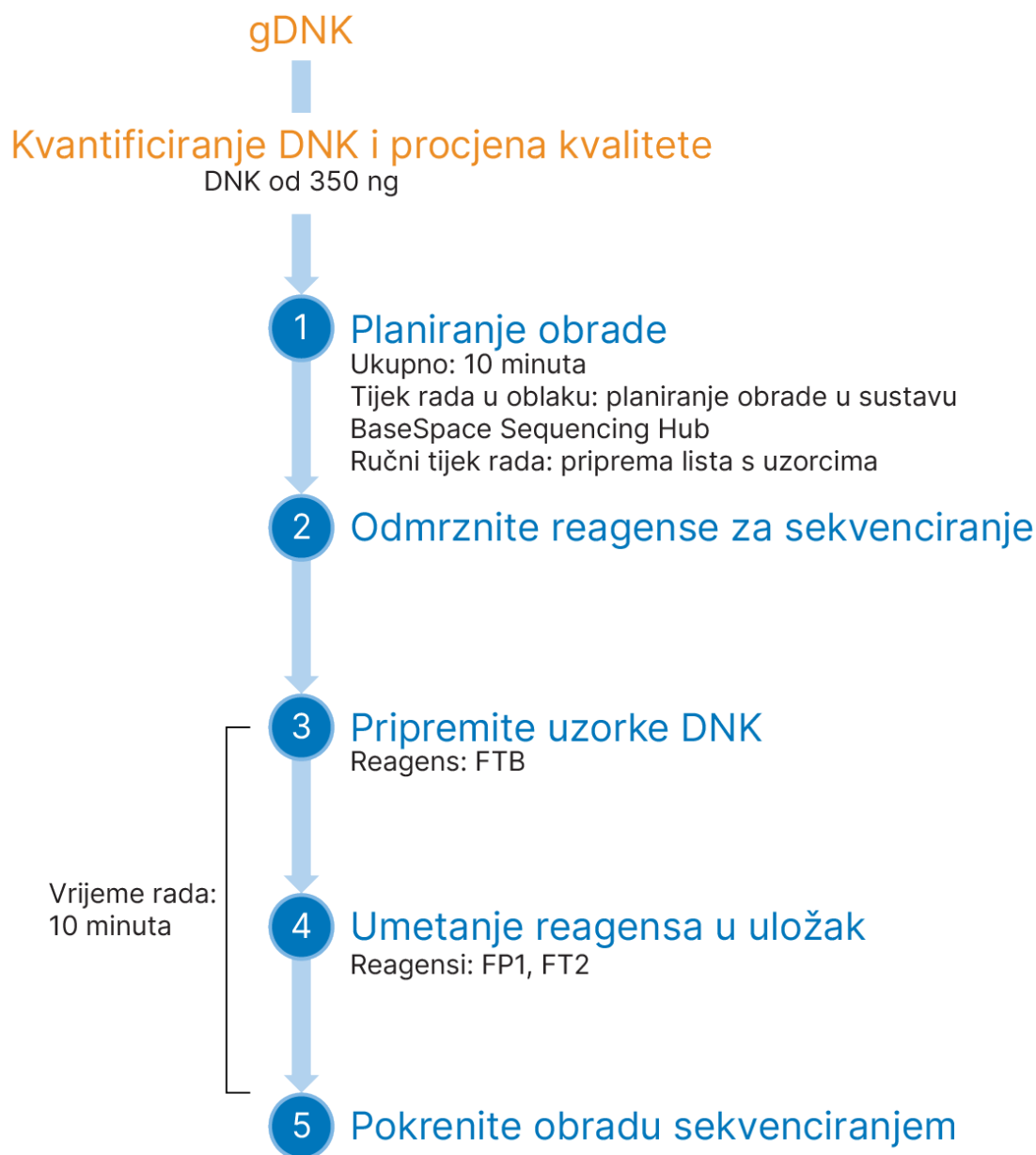
Svi su žigovi vlasništvo tvrtke Illumina, Inc. ili njihovih vlasnika. Konkretna informacija o žigovima potražite na adresi www.illumina.com/company/legal.html.

Sadržaj

Pregled	1
Preporuke za unos DNK-a	2
Potrošni materijal i oprema	4
TruPath Genome potrošni materijal/reagensi	4
Potrošni materijal/oprema koju mora pribaviti korisnik	5
Protokol	7
Kvantificiranje gDNK i procjena kvalitete	7
Planiranje obrade	7
Odmrznite reagense za sekvenciranje	8
Pripremite uzorke DNK	8
Umetanje reagensa u uložak	9
Resursi i reference	11
Povijest revizija	11

Pregled

Dokumentacija ovog proizvoda detaljno opisuje Illumina TruPath Genome tijek rada, a sljedeći dijagram prikazuje tijek rada.



Preporuke za unos DNK-a

Kvaliteta genomskog DNK-a

TruPath Genome tijekom rada zahtijeva pročišćeni genomski DNA (gDNA) ekstrahiran iz stanica ili iz krvi u epruvetama za prikupljanje s K2EDTA, uz odgovarajući komplet za svaku vrstu uzorka. Pogledajte tehničku napomenu [TruPath Genome Performanse uzoraka različitih vrsta i kvalitete](#) za širi raspon uzoraka. Taj tijek rada nije prikladan za FFPE gDNA uzorke niti za ekstrakciju cfDNA. Procijenite kvalitetu gDNA uzorka jednom od sljedećih metoda:

- **Analiza Agilent gDNA ScreenTape** —upotrijebite alat za analizu područja kako biste procijenili udio fragmenata većih od 10 kb i 60 kb. Uzorak bi trebao sadržavati najmanje 50 % DNA fragmenata većih od 10 kb. Uzorci niže kvalitete i dalje mogu dati prihvatljive podatke sekvenciranja kratkih čitanja, ali pružaju minimalne dodatne podatke o blizini. Za optimalne podatke o blizini upotrijebite uzorak koji sadrži 70 % ili više DNA fragmenata u rasponu od 10 kb do 500 kb te 40 % ili više fragmenata u rasponu od 60 kb do 500 kb.
- **Komplet Agilent Femto Pulse gDNA 165 kb** —uzorak bi trebao imati minimalnu GQN vrijednost od 5,0 na pragu od 10 kb. Uzorci niže kvalitete i dalje mogu dati prihvatljive podatke sekvenciranja kratkih čitanja, ali pružaju minimalne dodatne podatke o blizini. Za optimalne podatke o blizini upotrijebite uzorak s GQN vrijednošću od najmanje 7,0 na pragu od 10 kb i najmanje 4,0 na pragu od 60 kb.

Za upute o uporabi Agilent TapeStation ili Agilent Femto Pulse, pogledajte web-stranicu proizvođača. Za poboljšanje kvalitete DNA i TruPath Genome metrike blizine upotrijebite komplet za ekstrakciju DNA visoke molekularne mase (HMW).

Količina genomskog DNK-a

TruPath Genome preporučuje se unos 350 ng gDNA po uzorku, po stazi. Niži ulazni uzorci, do 175 ng, generiraju podatke o pokrivenosti blizine, ali dubina pokrivenosti autosoma može biti smanjena.

- Prije ekstrakcije čuvajte uzorke krvi do tri dana na temperaturi od 2 °C do 8 °C. Ako uzorke čuvate dulje od tri dana, držite ih na temperaturi od -25 °C do -15 °C.
- Izbjegavajte više od 10 ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja DNK-a.
- Izmjerite koncentraciju DNK-a svakog uzorka fluorometrom Qubit koristeći dsDNA Qubit komplet. Pogledajte web-mjesto proizvođača.

Rukovanje DNK-om

- Ako upotrebljavate HMW DNK, ona može biti viskozna i stvarati niti, što otežava pipetiranje količine < 20 µl. Pritisnite vrh pipete na dno epruvete kako biste prekinuli niti uzorka i omogućili precizno pipetiranje.
- Nemojte koristiti HMW DNK u vrtložnoj miješalici.
- Prilikom miješanja DNK-a koristite vrhove pipete širokog otvora kako biste izbjegli cijepanje.

Potrošni materijal i oprema

TruPath Genome protokol zahtijeva sljedeći potrošni materijal i opremu:

- Protočni članak C2 (za dva uzorka, po jedan po stazi) uparen sa spremnikom reagensa NovaSeq X 1,5B, ili protočni članak C8 (za osam uzoraka, po jedan po stazi) uparen sa spremnikom reagensa NovaSeq X 10B.
- TruPath Genome reagente.
- Razni potrošni materijali i oprema koje osigurava korisnik.

TruPath Genome potrošni materijal/reagensi

Potrošni materijal za komplet od dva uzorka

Illumina Kataloški broj 20157406

Komponenta kompleta	Temperatura skladištenja
TruPath Genome Komplet reagensa	od -25 °C do -15 °C
NovaSeq X Protočni članak serije C2	od 2 °C do 8 °C
NovaSeq X Lyo umetak serije 1.5B	od -25 °C do -15 °C
NovaSeq X Spremnik reagensa serije 1.5B (300 ciklusa)	od -25 °C do -15 °C
NovaSeq X Traka epruveta biblioteke serije 1.5B	Sobna temperatura
NovaSeq X Uložak pufer serije	Sobna temperatura

Potrošni materijal za komplet od osam uzorka

Illumina Kataloški broj 20157405

Komponenta kompleta	Temperatura skladištenja
TruPath Genome Komplet reagensa	od -25 °C do -15 °C
NovaSeq X Protočni članak serije C8	od 2 °C do 8 °C
NovaSeq X Lyo umetak serije 10B	od -25 °C do -15 °C
NovaSeq X Spremnik reagensa serije 10B (300 ciklusa)	od -25 °C do -15 °C
NovaSeq X Traka epruveta biblioteke serije 10B/25B	Sobna temperatura
NovaSeq X Uložak pufer serije	Sobna temperatura

TruPath Genome Komplet reagensa

Illumina Kataloški broj 20138424

Reagens	Opis	Temperatura skladištenja
FP1	Mješavina za pripremu protočnih stanica 1	od -25 °C do -15 °C
FT2	Transpozom za protočnu stanicu 2	od -25 °C do -15 °C
FTB	FC Tagment Buffer	od -25 °C do -15 °C

Potrošni materijal/oprema koju mora pribaviti korisnik

Potrošni materijal/oprema	Dobavljač
Mikrocentrifuga	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora
Qubit 4 fluorometar	Thermo Fisher Scientific, kataloški broj Q33238
Qubit dsDNA Assay kit, HS, ili BR	Jedno od sljedećeg, ovisno o metodi kvantifikacije: HS Assay, Thermo Fisher Scientific, kataloški broj Q32851 ili Q32854 BR Assay, Thermo Fisher Scientific, kataloški broj Q32850 ili Q32853
Voda bez nukleaze	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora
Jednokanalna pipeta, 1 ili 5 ml	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora
Jednokanalna pipeta, 200 µl	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora
Vrhovi pipete širokog otvora, 200 µl*	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora
Jednokanalna pipeta, 20 µl	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora

* Pri rukovanju HMW DNK-om preporučuju se vrhovi pipete širokog otvora. Standardni vrhovi mogu uzrokovati fragmentaciju DNK-a, što rezultira profilom DNK-a manje veličine od potrebne. Ako vrhovi pipeta širokog otvora nisu dostupni, mogu se koristiti standardni vrhovi; međutim, izbjegavajte višestruke cikluse aspiracije/ispuštanja.

Preporučuje se procijeniti kvalitetu gDNK-a kako bi se osiguralo da uzorak gDNK-a zadovoljava utvrđene kriterije kvalitete. Sljedeća oprema i potrošni materijal prikladni su za određivanje veličine DNK-a.

Potrošni materijal/oprema (opcionalno)	Dobavljač
TrakaStation	Agilent, kataloški broj G2991BA ili G2992AA
Analiza genomskog DNK-a	Agilent, kataloški broj 5067-5366 i 5067-5365
Femto Pulse sustav	Agilent, kataloški broj M5330AA
Komplet za analizu gDNK-a 165 kb za Femto Pulse	Agilent, kataloški broj FP-1002-0275

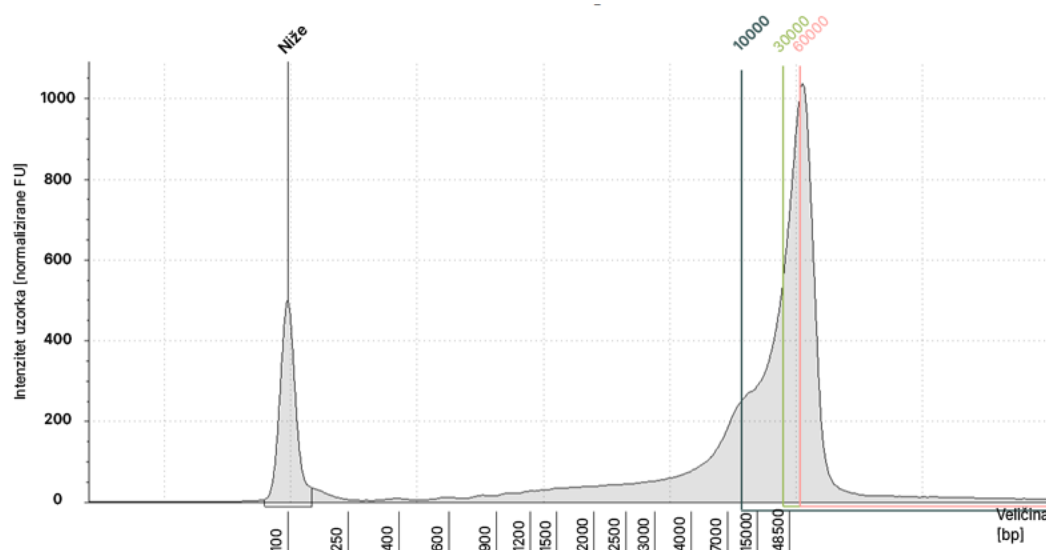
Protokol

Ovaj odjeljak opisuje TruPath Genome protokol.

Kvantificiranje gDNK i procjena kvalitete

1. Kvantificirajte DNK pomoću fluorometra Qubit s kompletnim setom dsDNK. Illumina preporučuje uporabu gDNK-a u zalihi s koncentracijom manjom od 100 ng/μl kako bi se omogućila vrlo točna kvantifikacija, procjena kvalitete i daljnje pipetiranje prema protokolu. Ciljna količina za završno učitavanje iznosi 350 ng.
2. Illumina preporučuje kontrolu kvalitete DNK pomoću TapeStation (gDNK traka) ili Femto Pulse (komplet gDNK 165 kb). Specifikacije kvalitete potražite u odjeljku [Preporuke za unos DNK-a na stranici 2](#).

Slika 1 Profiliranje veličine unosa gDNK-a putem Agilent TapeStation



Planiranje obrade

Za detaljne upute o planiranju obrade u BaseSpace Sequence Hub ili pripremi Sample Sheeta, pogledajte [TruPath Genome Korisnički priručnik za softver](#).

Illumina preporučuje postavljanje obrade sa 151 ciklusom po očitavanju (2 x 151). Ne prelazite ukupno 302 ciklusa. Nemojte obrađivati indeksne cikluse.

Odmrznite reagense za sekvenciranje

Za detaljne upute o odmrzavanju reagensa pogledajte dokument [Dokumentacija proizvoda NovaSeq X Series \(broj dokumenta 200027529\)](#).

Pripremite uzorke DNK

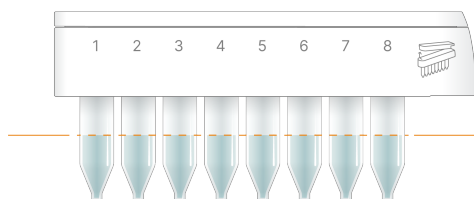
- Izvadite TruPath Genome reagense iz kompleta i odmrznite ih na sobnoj temperaturi tijekom 20 minuta.
 - FP1 (plava traka na naljepnici)
 - FT2 (crvena traka na naljepnici)
 - FTB (prozirna traka na naljepnici)
 - Nakon odmrzavanja reagense čuvajte na ledu do 4 sata. Vratite reagense u zamrzivač ako se ne koriste.
 - Polako pipetirajte puni volumen FTB-a pet puta, zatim kratko centrifugirajte u stolnoj centrifugi.
 - Provjerite je li zaliha DNK-a pravilno odmrznuta. Polako pipetirajte pet puta kako biste bili sigurni da je potpuno resuspendirana, osobito HMW DNK.
Samo za resuspenziju preporučuje se vrh širokog otvora od 200 µl.
 - Odčepite traku epruvete za biblioteku.
 - Po uzorku dodajte sljedeće u **jednu** epruvetu trake za biblioteku, redoslijedom kako je prikazano. Za ovaj korak nisu potrebni vrhovi širokog otvora.
-  Provjerite podudara li se epruveta s uzorkom s odgovarajućim kanalom dodijeljenim u popisu uzoraka.

Narudžba	Reagens	Volumen
1	Voda bez nukleaze	Varijabilno (153 µl – 350 ng gDNK-a u zalihi)
2	FTB	17 µl
3	350 ng gDNK-a u zalihi	Varijabilno (ovisno o koncentraciji gDNK-a u zalihi)
Ukupni volumen:		170 µl

Na primjer, ako je koncentracija gDNK-a u zalihi 100 ng/µl, volumen gDNK-a od 350 ng bit će 3,5 µl (350 ng ÷ 100 ng/µl). Volumen vode bez nukleaze bit će 149,5 µl (153 µl – 3,5 µl gDNK-a u zalihi).

- Postavite pipetu P200 na 150 µl.
- Koristeći novi vrh pipete za svaki uzorak, polako pipetirajte pet puta kako biste promiješali, pazeći da ne nastanu mjehurići. Provjerite da se na dnu ne nalaze zračni mjehurići.
Preporučuje se vrh pipete širokog otvora od 200 µl. Ne koristite vrh pipete P1000.

9. Zatvorite traku epruveta za biblioteku.
10. **[Neobavezno]** kratko centrifugirajte traku epruveta i provjerite da se na dnu epruveta ne nalaze zračni mjehurići. Pogledajte [Dokumentacija proizvoda NovaSeq X Series \(broj dokumenta 200027529\)](#).
11. Provjerite je li volumen dosljedan u svim epruvetama.



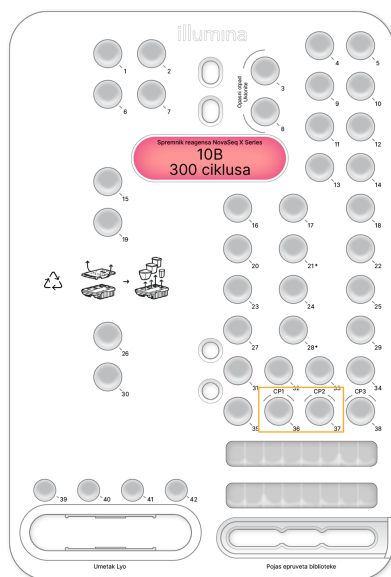
12. Umetnite traku epruvete za biblioteku u spremnik reagensa i pritisnite prema dolje. Blagi „klik” označava da je traka epruvete biblioteke na mjestu. Provjerite je li traka epruveta za biblioteku ravno postavljena unutar uložka.

Umetanje reagensa u uložak

Volumeni reagensa navedeni u sljedećim uputama su isti i za spremnike 1,5B i 10B.

- !** Nemojte preokretati otopljeni spremnik reagensa nakon dodavanja FP1 ili FT2. Pogledajte [Dokumentacija proizvoda NovaSeq X Series \(broj dokumenta 200027529\)](#).

1. Pomoću čistog vrha pipete probušite aluminijsku foliju na položajima CP1 i CP2 spremnika reagensa. Položaji CP1 i CP2 istaknuti su na sljedećoj slici.



- i** Položaj CP3 ne upotrebljava se za TruPath Genome tijekom rada.

2. Nježno preokrenite FP1 (plavu traku na naljepnici) nekoliko puta kako biste promiješali.

3. Pomoću pipete prenesite 3 ml FP1-a u položaj CP1 u ulošku.
Puni volumen je 3 ml. To može, ali i ne mora koristiti cijeli sadržaj epruvete FP1.
4. Nježno preokrenite FT2 (crvenu traku na naljepnici) nekoliko puta kako biste promiješali.
5. Pomoću pipete prenesite 2,6 ml FP2-a u položaj CP2 u ulošku.
Puni volumen je 2,6 ml. To može, ali i ne mora koristiti cijeli sadržaj epruvete FP2.
6. Umetnite lyo umetak u spremnik reagensa i pritisnite prema dolje. Zvuk „klik” označava da je lyo umetak postavljen.
7. Nastavite sa standardnim postupkom punjenja instrumenta. Pogledajte [Dokumentacija proizvoda NovaSeq X Series \(broj dokumenta 200027529\)](#).

Resursi i reference

Stranice za podršku na [Illumina web-mjestu](#) pružaju softver, resurse za obuku, informacije o kompatibilnosti proizvoda i sljedeću dokumentaciju. Na stranicama podrške obavezno provjeravajte ima li najnovijih verzija.

Dodatni resursi

Resurs	Opis
Dokumentacija proizvoda NovaSeq X Series	Pružá tehničke informacije za korištenje sustava Illumina NovaSeq X Series.
Illumina TruPath Genome Korisnički priručnik za softver	Pružá tehničke informacije za korištenje Illumina TruPath Genome softvera.
TruPath Genome Učinkovitost s uzorcima različite vrste i kvalitete	Pružá tehničke informacije za širi raspon vrsta uzoraka uz pomoć TruPath Genome.
Illumina TruPath Genome Specifikacija proizvoda	Pružá tehničke informacije o značajkama proizvoda TruPath Genome.

Povijest revizija

Dokument	Datum	Opis promjene
Broj dokumenta 200065852 v01	Svibanj 2026.	Dodano: - Pojašnjenje informacija o preporukama kvalitete unosa DNK-a. - Preporuke za duljinu očitavanja. Ažurirano: - Ilustracija pregleda. - Popis potrošnog materijala koji mora pribaviti korisnik.
Broj dokumenta 200065852 v00	Veljača 2026.	Početno izdanje.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 SAD
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (izvan Sjeverne Amerike)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

Samo za istraživačke svrhe. Nije za upotrebu u dijagnostičkim postupcima.

© 2026. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

illumina®