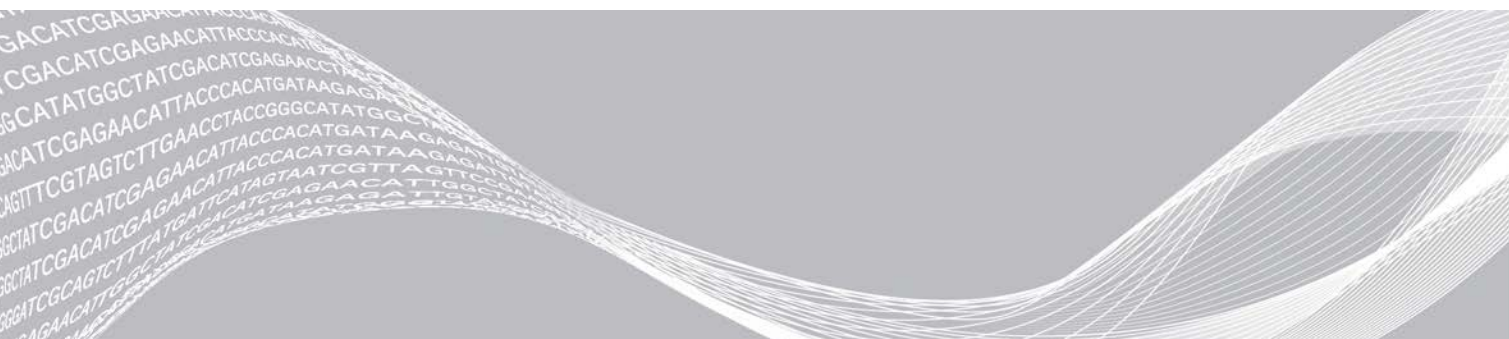


Local Run Manager CF Clinical Seq 2.0-analysemodul

Arbeidsprosessveiledning

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

| | |
|----------------------------|---|
| Oversikt | 3 |
| Oppgi kjøringsinformasjon | 3 |
| Analysemetoder | 5 |
| Vise kjøring og resultater | 5 |
| Fil med lotsporingsdata | 6 |
| Resultatrapport | 6 |
| Teknisk hjelp | 9 |



Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKkelig FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

© 2021 Illumina, Inc. Med enerett.

Alle varemerker tilhører Illumina, Inc. eller deres respektive eiere. Ytterligere informasjon om varemerker finner du på www.illumina.com/company/legal.html.

Oversikt

Local Run Manager CF Clinical Seq 2.0-analysemodul brukes med TruSight klinisk sekvenseringsanalyse for cystisk fibrose. Analysen detekterer mutasjoner i proteinkodingsregionene og intron/ekson-grensene til *CFTR*-genet (cystisk fibrose transmembran ledeevneregulator), inkludert to store delesjoner og to dype introniske mutasjoner. Analysemodulen utfører sekundære analyser og genererer rapport fra sekvenseringskjøringer som bruker TruSight cystisk fibrose. Se pakningsvedlegget for *TruSight cystisk fibrose (dokumentnr. 1000000097720)*.

Analysemodulen evaluerer korte områder med forsterket DNA, eller amplikoner, for varianter. Fokuset sekvensering av amplikoner muliggjør høy dekning av særskilte områder på tvers av et stort antall prøver.

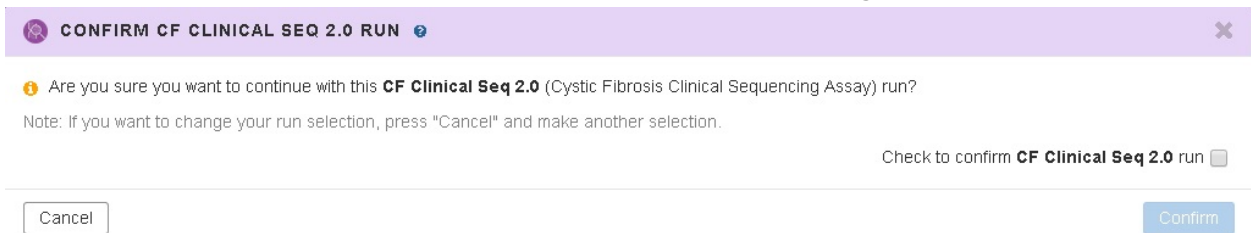
Om denne veiledningen

Denne veiledningen gir instruksjoner om å konfigurere kjøringsparametere for sekvensering og analyse for CF Clinical Seq 2.0-analysemodulen. Bruk av programvaren krever grunnleggende kunnskap om det gjeldende Windows-operativsystemet og nettleser-basert brukergrensesnitt. Informasjon om Local Run Manager-instrumentbordet og -systeminnstillingene finnes i *Referanseveiledning for Local Run Manager-programvare for MiSeqDx (dokumentnr. 1000000011880)*.

Oppgi kjøringsinformasjon

Angi parametere

- 1 Logg på Local Run Manager.
- 2 Velg **Create Run** (Opprett kjøring), og velg **CF Clinical Seq 2.0**.
Et popup-vindu vises for å bekrefte at CF Clinical Seq 2.0 er det rette valget.



- 3 Velg avmerkingsboksen og velg **Confirm** (Bekreft) for å fortsette (eller velg **Cancel** (Avbryt) for å gå tilbake til hovedskjermbildet).
- 4 Skriv inn et kjøringsnavn som identifiserer kjøringen fra sekvensering til analyse.
Bruk alfanumeriske tegn, mellomrom, understrekingstegn eller bindestreker (maksimalt 40 tegn).
- 5 **[Valgfritt]** Legg inn en beskrivelse av kjøringen.
Bruk alfanumeriske tegn, mellomrom, understrekingstegn eller bindestreker (maksimalt 150 tegn).
- 6 Skriv lotnummeret og utløpsdatoen for bibliotekklargjøringssettet.

Spesifisere prøvene for kjøringen

Spesifiser prøvene for kjøringen ved å velge ett av følgende alternativer.

- ▶ **Enter samples manually** (Angi prøver manuelt) – Bruk den tomme tabellen i skjermbildet Create Run (Opprett kjøring).

- ▶ **Import samples** (Importer prøver) – Naviger til en ekstern fil i kommadelt CSV-format. En mal kan lastes ned i skjermbildet Create Run (Opprett kjøring).

Legge inn prøver manuelt

- 1 Angi et unikt prøvenavn i feltet Sample Name (Prøvenavn).
Bruk alfanumeriske tegn, bindestreker eller understrekingstegn (maksimalt 40 tegn).
- 2 Høyreklikk og velg positive eller negative kontrollprøver.
For å lagre en kjøring må den ha minst én positiv og én negativ kontroll.
- 3 **[Valgfritt]** Angi en prøvebeskrivelse i fanen Sample Description (Prøvebeskrivelse).
Bruk alfanumeriske tegn, bindestreker eller understrekingstegn (maksimalt 50 tegn).
- 4 **[Valgfritt]** Velg en Indeks 1-adapter fra rullegardinlisten Index 1 (i7).
Dette trinnet er valgfritt fordi indeksskombinasjonene i7 og i5 fylles ut automatisk med en standard layout.
- 5 **[Valgfritt]** Velg en Indeks 2-adapter fra rullegardinlisten Index 2 (i5).
Dette trinnet er valgfritt fordi indeksskombinasjonene i7 og i5 fylles ut automatisk med en standard layout.
- 6 Velg ikonet **Print** (Skriv ut) for å vise plateoppsettet.
- 7 Velg **Print** (Skriv ut) for å skrive ut plateoppsettet som en referanse for klargjøring av biblioteker.
- 8 **[Valgfritt]** Velg **Export** (Eksporter) for å eksportere prøveinformasjonsfilen.
- 9 Velg **Save Run** (Lagre kjøring).
Hvis du har lagt inn færre enn 24 prøver, vises vinduet Insufficient Sample (Utilstrekkelig prøve).
Velg **Proceed** (Fortsett) for å fortsette, eller velg **Cancel** (Avbryt) for å redigere prøvene.



FORSIKTIG

Illumina godkjenner ikke bruk med færre enn 24 prøver. Se mer informasjon i pakningsvedlegget for TruSight cystisk fibrose (dokumentnr. 1000000097720).

Importere prøver

Prøveinformasjon kan importeres fra to filtyper:

- ▶ En fil med prøveinformasjon som ble eksportert tidligere fra CF Clinical Seq 2.0-modulen med funksjonen Export (Eksporter).
- ▶ En malfil, som kan genereres ved å velge **Template** (Mal) i skjermbildet Create Run (Opprett kjøring). Malfilen inneholder korrekte kolonneoverskrifter for import med plassholder-informasjon i hver kolonne. Bruk et eksternt redigeringsprogram for å tilpasse malfilen:
 - 1 Legg til prøveinformasjon for hver prøve i kjøringen.
 - 2 Når all prøveinformasjon er lagt til, sletter du plassholder-informasjonen som står igjen i de ubrukte cellene.
 - 3 Lagre malfilen.

Slik importerer du prøveinformasjon:

- 1 Velg **Import Samples** (Importer prøver), bla deg frem til filen og velg den.
- 2 Velg ikonet **Print** (Skriv ut) for å vise plateoppsettet.
- 3 Velg **Print** (Skriv ut) for å skrive ut plateoppsettet som en referanse for klargjøring av biblioteker.

- 4 **[Valgfritt]** Velg **Export** (Eksporter) for å eksportere prøveinformasjon til en ekstern fil.
- 5 Velg **Save Run** (Lagre kjøring).
Hvis du har lagt inn færre enn 24 prøver, vises vinduet *Insufficient Sample* (Utilstrekkelig prøve).
Velg **Proceed** (Fortsett) for å fortsette, eller velg **Cancel** (Avbryt) for å redigere prøvene.



FORSIKTIG

Illumina godkjenner ikke bruk med færre enn 24 prøver. Se mer informasjon i pakningsvedlegget for *TruSight cystisk fibrose* (dokumentnr. 100000097720).

Redigere en kjøring

Instruksjoner om hvordan du redigerer informasjonen i kjøringen før sekvensering, finnes i *Referanseveiledning for Local Run Manager-programvare for MiSeqDx* (dokumentnr. 100000011880).

Analysemetoder

Beskrivelse av analysemetodene for *TruSight cystisk fibrose* finnes i pakningsvedlegget *TruSight cystisk fibrose* (dokumentnr. 100000097720).

Vise kjøring og resultater

- 1 Klikk på kjøringsnavnet fra hovedskjermbildet til Local Run Manager.
- 2 I fanen Run Overview (Kjøringsoversikt) kan du gjennomgå metrikk for sekvenseringskjøringer.
- 3 **[Valgfritt]** Velg ikonet **Copy to Clipboard** (Kopier til utklippstavle) for å kopiere banen til kjøringens utdatamappe.
- 4 Velg fanen Sequencing Information (Sekvenseringsinformasjon) for å gjennomgå kjøringsparametere og informasjon om forbruksmateriell.
- 5 Velg fanen Samples and Results (Prøver og resultater) for å vise analyseresultatene.
Fanen har en liste over prøver som oppsummerer betegnelsesfrekvens, ytelse, ikke-betegned koordinater og informasjon om kontroller.
 - ▶ Hvis analysen ble gjentatt, utvider du rullegardinlisten *Select Analysis* (Velg analyse) og velger korrekt analyse.
- 6 **[Valgfritt]** Dobbeltklikk på kommentarfeltet for å legge inn en kommentar om en prøve i listen.
Klikk på **Save Changes** (Lagre endringer).
- 7 Velg prøver i listen for å vise detaljert informasjon om variant.
Informasjon om prøvevariant vises under listen med prøver.
- 8 **[Valgfritt]** Dobbeltklikk i feltet i kolonnen Interpretation (Tolkning) for å velge ett av følgende alternativer:
 - ▶ CF – CF-forårsakende
 - ▶ MVCC – Mutasjon med varierende kliniske konsekvenser
 - ▶ MOUS – Mutasjon av ukjent signifikans
 - ▶ NCFCM – Ikke-CF-forårsakende mutasjon
 - ▶ UkjentKlikk på **Save Changes** (Lagre endringer).



MERK

Hver gang endringer lagres, genereres det en analyseresultatfil i mappen **Alignment** (Innretting). I denne filen blir et tidsstempel med formatet **ÅÅMMDD_TTMMSS** tilføyd filnavnet.

Du finner mer informasjon om fanene Run Overview (Kjøringsoversikt) og Sequencing Information (Sekvenseringsinformasjon) og om hvordan analyser settes tilbake i kø, i *Referanseveiledning for Local Run Manager-programvare for MiSeqDx (dokumentnr. 100000011880)*.

Fil med lotsporingsdata

Når analysen er fullført, velger du ett av følgende alternativer for å vise filen `LotTracking.txt`.

- ▶ Klikk på **Export Lot Tracking Data** (Eksporter lotsporingsdata) i fanen Samples and Results (Prøver og resultater).
- ▶ Åpne filen i mappen Alignment (Innretting).
Banen til mappen Alignment (Innretting) vises i fanen Samples and Results (Prøver og resultater) i feltet Analysis Folder (Analysemappe).
 - ▶ **[Valgfritt]** Velg ikonet **Copy to Clipboard** (Kopier til utklippstavle) for å kopiere banen til analysemappen.

Når analysen er fullført, skrives filen med lotsporingsdata til mappen Alignment (Innretting) for kjøringen. Eksempel: `MiSeqAnalysis\<Navnet på kjøringssmappen>\Alignment_NÅÅMMDD_TTMMSS`. N er en sekvensiell verdi som øker hvis analysen settes tilbake i kø. ÅÅMMDD_TTMMSS er kjøringens tidsstempel.

Resultatrapport

Etter at sekundæranalysen er fullført, oppsummeres analyseresultatene i fanen Samples and Results (Prøver og resultater). En analyseresultatfil (utdata) for analysen oppsummerer også resultatene i en tabulordelt tekstfil kalt `TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt`.

Resultatene i analyseresultatfilen inkluderer informasjonen som finnes i fanen Samples and Results (Prøver og resultater). Velg ett av følgende alternativer for å vise analyseresultatfilen `TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt`:

- ▶ Klikk på **Export Data** (Eksporter data) i fanen Samples and Results (Prøver og resultater).
- ▶ Åpne filen i mappen Alignment (Innretting).
Banen til mappen Alignment (Innretting) vises i feltet Analysis Folder (Analysemappe) i fanen Samples and Results (Prøver og resultater).



MERK

Velg ikonet **Copy to Clipboard** (Kopier til utklippstavle) for å kopiere banen til analysemappen.

Analysefilene for hver sekvenseringskjøring lagres i apparatet, og filene lagres i `MiSeqAnalysis\<Navnet på kjøringssmappen>\Data\Intensities\BaseCalls` og `MiSeqAnalysis\<Navnet på kjøringssmappen>\Alignment_NÅÅMMDD_TTMMSS`. N er en sekvensiell verdi som øker hvis analysen settes tilbake i kø. ÅÅMMDD_TTMMSS er kjøringens tidsstempel.

Informasjon om analyseresultatfil

Analyseresultatfilen `TruSightClinicalSequencingAssay.txt` består av tre deler: filhode, prøveinformasjon og informasjon om prøvevarianter. Filhodet er oppgitt først og inkluderer generell informasjon om kjøringen. Vær oppmerksom på at det bare er ett filhode per kjøring. Informasjonen om prøve og prøvevarianter er derimot inkludert for hver prøve som benyttes i analysen. Disse delene knyttes sammen for hver prøve.

Tabellen nedenfor inneholder en beskrivelse av hver rad i filhodet, som inkluderer informasjon om kjøringen:

Tabell 1 Filhode (kjøringsinformasjon)

| Radoverskrift | Beskrivelse |
|----------------|--|
| Test | Beskriver testen som ble utført. |
| Kjørings-ID | Kjørings-ID-en som ble generert av MiSeq Operating Software (MOS) i begynnelsen av sekvenseringskjøringen. |
| Kjøringsdato | Dato (ÅÅMMDD) da sekvenseringskjøringen ble startet i MOS. |
| Analyseversjon | Programwareversjonen som ble brukt under analysen. |

Tabellen nedenfor inneholder en beskrivelse av hver rad i delene med prøveinformasjon:

Tabell 2 Prøveinformasjon

| Radoverskrift | Beskrivelse |
|-----------------------------|--|
| Prøve-ID | Prøvenavnet som ble angitt da kjøringen ble opprettet, kombinert med analyse-ID-en tilordnet av Local Run Manager-programvare. Hvis du setter en kjøring tilbake i kø, forblir prøvenavn-delen i prøve-ID-en den samme selv om analyse-ID-en endres. Dette feltet er kun i *.txt-filen. |
| Prøvenavn | Prøvenavnet som ble angitt da kjøringen ble opprettet. |
| Kontroll | Kontrolltypen som ble angitt da kjøringen ble opprettet Verdiene er positive eller negative. Et tomt felt indikerer kun prøve. |
| Kommentar | Et valgfritt felt for kommentarer. Kommentarer fra en tidligere analysekjøring overføres ikke til den neste analysekjøringen. |
| Ytelse | Bestått eller Ikke bestått basert på betegnelsesfrekvensen. For en positiv kontrollprøve: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Bestått) – med betegnelsesfrekvens ≥ 99 % • FAIL (Ikke bestått) – med betegnelsesfrekvens < 99 % For en negativ kontrollprøve: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Bestått) – med betegnelsesfrekvens ≤ 10 % • FAIL (Ikke bestått) – med betegnelsesfrekvens > 10 % For en prøve som ikke er merket som positiv eller negativ kontroll: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Bestått) – med betegnelsesfrekvens ≥ 99 % • FAIL (Ikke bestått) – med betegnelsesfrekvens < 99 % |
| Prøvens betegnelsesfrekvens | Antall variantposisjoner som oppfyller en forhåndsdefinert konfidensverditerskel, dividert med det totale antallet variantposisjoner i spørringen. Betegnelsesfrekvensen beskrives per prøve og rapporteres som en prosentandel, som beregnes som 1 minus [antall variantposisjoner med ufullstendige betegnelser dividert med det totale antallet variantposisjoner som er sekvensert]. |

Tabellen nedenfor inneholder en beskrivelse av hver kolonne i delene med prøvevarianter:

Tabell 3 Informasjon om prøvevarianter

| Kolonneoverskrift | Beskrivelse |
|-------------------|---|
| Varianttype | Varianttypen. <ul style="list-style-type: none"> • SNV – Single Nucleotide Variant (enkel nukleotidvariant) • DIV – Deletion Insertion Variant (delesjon/insersjon-variant) • DEL – Large deletion (stor delesjon) • PolyTGPolyT – PolyTG/PolyT-genotype i CF-gen |
| Koordinat | Den genomiske posisjonen hvor varianten ble funnet. Feltets navn i *.txt-filen er Coordinate. |

| Kolonneoverskrift | Beskrivelse |
|--------------------|--|
| Kromosom | Referanse-kromosom-ID. Feltets navn i *.txt-filen er Chromosome. |
| Frekvens | Andelen avlesinger for prøven som inkluderer varianten. Hvis referansebasen i en spesiell posisjon for eksempel er A, og prøve 1 har 60 A-avlesinger og 40 T-avlesinger, har SNV en variantfrekvens på 0,4. |
| Dybde | Antallet avlesinger for en prøve som dekker en spesiell posisjon. |
| cDNA-navn (HGVS) | Beskrivelsen av varianten på DNA-nivået som bruker kode-DNA-sekvensnomenklatur (cDNA-sekvensnomenklatur) som anbefalt av Human Genome Variation Society (HGVS). |
| Proteinnavn (HGVS) | Beskrivelse av en variant på proteinnivået som bruker proteinsekvensnomenklatur som anbefalt av Human Genome Variation Society (HGVS). |
| dbSNP-ID | Variantens dbSNP-ID. Feltets navn i *.txt-filen er dbSNP ID. |
| Referanse | Referansebasen ved den genomiske koordinaten hvor varianten vises. Referanse i *.txt-filen. |
| Resultat | <p>Variantgenotype.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SNV eller DIV – De to observerte allelene beskrives. Eksempel: A/T beskriver en SNV hvor både A- og T-alleler er observert og er heterozygot. Villtype-allelet er oppgitt først, etterfulgt av variant-allelet. • Små delesjoner – Variant-allelet beskriver allelet med delesjon. Eksempel: ATCT/A. • Inversjoner – Variant-allelet beskriver allelet med inversjon. Eksempel: C/CT. • DEL – Resultatet rapporteres som Het Deletion (Heterozygot delesjon) eller Hom Deletion (Homozygot delesjon). • PolyTGPolyT – Den faktiske genotypen rapporteres. <p>Feltets navn i *.txt-filen er Result.</p> |
| Tolking | <p>I dette feltet kan den medisinske genetikerens angi klinisk tolkning av mutasjonen for hver prøve.</p> <ul style="list-style-type: none"> • CF – CF-forårsakende • MVCC – Mutasjon med varierende kliniske konsekvenser • MOUS – Mutasjon av ukjent signifikans • NCFCM – Ikke-CF-forårsakende mutasjon • Ukjent |

Delen Informasjon om prøvevarianter inkluderer også oppføringen `Coordinates Not Called` (Koordinatene ikke betegnet), som oppgir genomkoordinater innen den målrettede regionen der en betegnelse ikke ble rapportert på grunn av lave konfidensverdier.

Teknisk hjelp

Kontakt teknisk støtte hos Illumina for teknisk hjelp.

Nettsted: www.illumina.com
E-post: techsupport@illumina.com

Telefonnumre til Illuminas kundestøtte

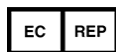
| Region | Gratis | Regionalt |
|----------------|------------------|-----------------|
| Nord-Amerika | +1.800.809.4566 | |
| Australia | +1.800.775.688 | |
| Belgia | +32 80077160 | +32 34002973 |
| Danmark | +45 80820183 | +45 89871156 |
| Finland | +358 800918363 | +358 974790110 |
| Frankrike | +33 805102193 | +33 170770446 |
| Hongkong, Kina | 800960230 | |
| Irland | +353 1800936608 | +353 016950506 |
| Italia | +39 800985513 | +39 236003759 |
| Japan | 0800.111.5011 | |
| Kina | 400.066.5835 | |
| Nederland | +31 8000222493 | +31 207132960 |
| New Zealand | 0800 451 650 | |
| Norge | +47 800 16 836 | +47 21 93 96 93 |
| Singapore | +1.800.579.2745 | |
| Spania | +34 911899417 | +34 800300143 |
| Storbritannia | +44 8000126019 | +44 2073057197 |
| Sveits | +41 565800000 | +41 800200442 |
| Sverige | +46 850619671 | +46 200883979 |
| Sør-Korea | +82 80 234 5300 | |
| Taiwan, Kina | 00806651752 | |
| Tyskland | +49 8001014940 | +49 8938035677 |
| Østerrike | +43 800006249 | +43 19286540 |
| Andre land | +44 1799 534 000 | |

Sikkerhetsdatablad – Tilgjengelige på Illuminas nettsted på support.illumina.com/sds.html.

Produktdokumentasjon – Tilgjengelig for nedlasting fra support.illumina.com.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California, 92122 USA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australsk sponsor

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

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

© 2021 Illumina, Inc. Med enerett.

illumina®