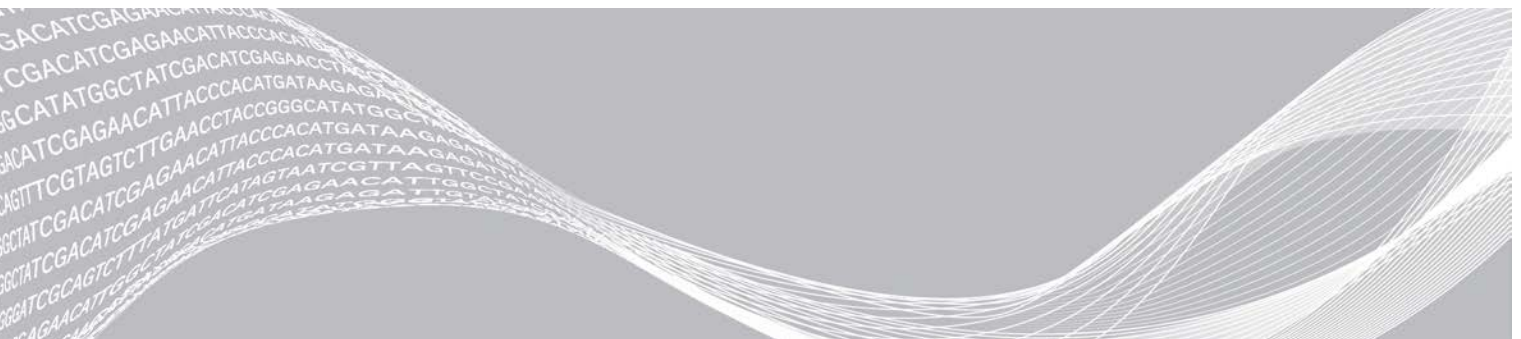


# Local Run Manager DNA GenerateFASTQ Dx-analysemodule

## Workflowhandleiding voor MiSeqDx

BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK

Overzicht	3
Runinformatie invoeren	3
Analysemethoden	5
Run en resultaten weergeven	5
Het rapport Results	6
Uitvoerbestanden van analyses	6
Revisiegeschiedenis	10
Technische ondersteuning	11



Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.

ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).

© 2022 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html) voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

## Overzicht

The Local Run Manager DNA GenerateFASTQ Dx-module demultiplext eerst indexbepalingen. Als deze aanwezig zijn, genereert DNA GenerateFASTQ Dx tussentijdse uitvoerbestanden in de FASTQ-bestandsindeling en sluit vervolgens de workflow. Er wordt geen uitlijning of verdere analyse uitgevoerd. FASTQ-bestanden zijn vereiste invoer voor analyse met analysetools van derden.

De Local Run Manager DNA GenerateFASTQ Dx-module kan worden uitgevoerd op Local Run Manager v3.1.0 (of later) en is compatibel met Windows 10. De analysemodule ondersteunt sequencing naar analyse voor de Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-assay.

## Toelichting op deze handleiding

In deze handleiding vindt u instructies voor het instellen van runparameters voor sequencing en analyse voor de DNA GenerateFASTQ Dx-analysemodule. Voor het gebruik van de software is basiskennis nodig van het Windows-besturingssysteem en van de gebruikersinterface, die werkt in een webbrowser. Raadpleeg voor informatie over het dashboard van Local Run Manager en de systeeminstellingen de *Referentiehandleiding Local Run Manager-software voor MiSeqDx (documentnr. 200003931)*.

## Runinformatie invoeren

### Parameters instellen

- 1 Log in bij Local Run Manager.
- 2 Selecteer **Create Run** en selecteer vervolgens **DNA GenerateFASTQ Dx**.
- 3 Voer een runnaam in die de run van de sequencing tot en met de analyse identificeert (40 tekens of minder).  
De runnaam mag alfanumerieke tekens, spaties en de speciale tekens `~!@#\$\$%-\_{} bevatten.  
U kunt geen naam van een eerdere run gebruiken.
- 4 **[Optioneel]** Voer een runbeschrijving in om de run te kunnen identificeren (150 tekens of minder).  
De runbeschrijving mag alfanumerieke tekens, spaties en de volgende speciale tekens bevatten:  
`~!@#\$\$%-\_{}.
- 5 Configureer de volgende runinstellingen:
  - ▶ **Index Plate:** Selecteer de indexplaatindeling die wordt gebruikt tijdens de bibliotheekvoorbereiding. U kunt kiezen uit Indexset A, Indexset B en Indexset AB. Raadpleeg de *bijsluiter Illumina DNA Prep with Enrichment Dx* voor informatie over de indexplaatindelingen.  
Indexsets A en B bevatten 96 monsters en de overeenkomstige unieke dubbele primers (UDP's).  
Indexset AB bevat 192 monsters en de overeenkomstige UDP's.
  - ▶ **Read Type:** Selecteer single read of paired-end. Het standaard bepalingstype is paired-end.
  - ▶ **Read Lengths:** Voer de bepaling lengte in. De standaard bepaling lengte is 151.
- 6 Stel onder Module-Specific Settings de optie Adapter Trimming in.  
Adapter Trimming is standaard ingeschakeld.
- 7 Selecteer het aantal te sequencen monsters. Het geselecteerde aantal monsters bevat automatisch ingevulde UDP-aanbevelingen. Wilt u geen UDP-aanbevelingen gebruiken, selecteer dan **Custom**.

Als het aantal monsters dat u wilt sequencen niet in de vervolgkeuzelijst wordt vermeldt, selecteert u het dichtstbijzijnde aantal monsters. Zorg ervoor dat het geselecteerde aantal kleiner is dan het aantal dat u wilt sequencen en voeg zo nodig extra UDP's toe. Als u bijvoorbeeld 18 monsters wilt testen, selecteert u de optie voor 16 monsters.

## Monsters voor de run specificeren

Specificeer monsters voor de run op een van de volgende manieren.

- ▶ **Monsters handmatig invoeren:** gebruik de lege tabel in het scherm Create Run.
- ▶ **Monsters importeren:** navigeer naar een extern bestand met een kommagescheiden (\*.csv) indeling. In het scherm Create Run kan een sjabloon worden gedownload.

## Monsters handmatig invoeren

- 1 Voer op het tabblad Sample ID een unieke identificatie voor het monster in. Gebruik alfanumerieke tekens en/of streepjes (40 tekens of minder).  
De monster-ID en de bijbehorende monsterbeschrijving en UDP-positie zijn blauw gemarkeerd om aan te geven dat het monster is ingevoerd.
- 2 **[Optioneel]** Klik met de rechtermuisknop op monsterwells om monsters voor positieve en negatieve controle te selecteren.
- 3 **[Optioneel]** Voer in het tabblad Sample Description een monsterbeschrijving in. De monsterbeschrijving mag alfanumerieke tekens, punten en de speciale tekens `~!@#\$\$%-\_{} bevatten. Spaties zijn niet toegestaan.  
Als de monster-ID die aan de monsterbeschrijving is gekoppeld in een latere run opnieuw wordt gebruikt, wordt de oorspronkelijke monsterbeschrijving overschreven.
- 4 Wijzig zo nodig de aanbevolen UDP-posities. De voorgestelde posities voor monsterwells zijn gemarkeerd in geel, paars, oranje en roze.  
Bij gebruik van voorgestelde monsterwells, voert de software automatisch UDP-indexadapters in die voldoen aan de diversiteitsindexvereisten. Als het aantal monsters dat u hebt geselecteerd niet exact overeenkomt met het aantal monsters dat u gaat testen, moet u UDP-indexadapters voor de extra wells selecteren.
- 5 **[Optioneel]** Selecteer **Export Samples** om het monsterinformatiebestand te exporteren.
- 6 Selecteer **Save Run**.

## Monsterblad importeren

U kunt monsterinformatie importeren uit een monsterinformatiebestand dat eerder is geëxporteerd vanuit de DNA GenerateFASTQ Dx-module met behulp van de functie Export Samples of met behulp van een sjabloonbestand, dat kan worden gegenereerd door **Template** te selecteren in het scherm Create Run. Zie *Monsters handmatig invoeren op pagina 4* voor instructies voor het aanmaken en exporteren van monsterinformatie.

Het sjabloonbestand bevat niet de automatisch ingevulde UDP-aanbevelingen.

U kunt het sjabloonbestand als volgt bewerken:

- 1 Selecteer **Template** in het scherm Create Run om een nieuwe plaatindeling te maken.  
Het sjabloonbestand bevat de juiste kolomkoppen voor importeren. Bewerk het bestand als volgt.
  - a Open het monsterblad in een teksteditor.

- b Voer de vereiste monsterinformatie in.
- c Sla het bestand op in een door komma's gescheiden indeling (\*.csv). Zorg ervoor dat de monster-ID's uniek zijn.

Het importeren van monsterinformatie gaat als volgt:

- 2 Selecteer **Import Samples** en selecteer daarna het CSV-bestand.
- 3 **[Optioneel]** Selecteer **Export** om monsterinformatie naar een extern bestand te exporteren.
- 4 Selecteer **Save Run**.

## Een run bewerken

Raadpleeg de *Referentiehandleiding Local Run Manager-software voor MiSeqDx (documentnr. 200003931)* voor instructies over het bewerken van de informatie in uw run voordat u gaat sequencen.

## Analysemethoden

De DNA GenerateFASTQ Dx-analysemodule voert de volgende analysestappen uit en schrijft de uitvoerbestanden van de analyse naar de map Alignment.

- ▶ Voert demultiplexen van indexbepalingen uit
- ▶ Genereert FASTQ-bestanden

## Demultiplexen

Met demultiplexen wordt elke indexbepalingssequentie met de voor de run opgegeven indexsequenties vergeleken. In deze stap worden geen kwaliteitswaarden overgenomen.

Indexbepalingen worden geïdentificeerd aan de hand van de volgende stappen:

- ▶ Monsters worden genummerd vanaf 1 in de volgorde waarin ze in de run zijn opgenomen.
- ▶ Monster nummer 0 is gereserveerd voor clusters die niet aan een monster zijn toegewezen.
- ▶ Clusters worden toegewezen aan een monster wanneer de indexsequentie exact overeenkomt of wanneer er maximaal één discrepantie per indexbepaling is.

## FASTQ-bestand genereren

Na het demultiplexen genereert de software tussenliggende analysebestanden in de FASTQ-bestandsindeling, wat een tekstindeling is die wordt gebruikt om sequenties weer te geven. FASTQ-bestanden bevatten bepalingen voor elk monster en de bijbehorende kwaliteitsscores. Alle controles die voor de run worden gebruikt en clusters die niet zijn doorgelaten door filters, worden uitgesloten.

Elk FASTQ-bestand bevat bepalingen van slechts één monster. De naam van dat monster is opgenomen in de FASTQ-bestandsnaam. FASTQ-bestanden zijn de primaire invoer voor uitlijning.

## Run en resultaten weergeven

- 1 Selecteer in het dashboard van Local Run Manager de runnaam.
- 2 Bekijk op het tabblad Run Overview de meetwaarden van de sequencing-run.
- 3 Als u de locatie van de analysegegevens voor toekomstige uitvoeringen van de geselecteerde run wilt wijzigen, selecteert u het pictogram **Edit** en wijzigt u vervolgens het bestandspad van de uitvoerrunmap. U kunt de naam van de uitvoerrunmap niet bewerken.

- 4 **[Optioneel]** Selecteer **Copy to Clipboard** om het bestandspad naar de uitvoerrunmap te kopiëren.
- 5 Selecteer het tabblad Sequencing Information om de runparameters en de informatie over de verbruiksartikelen te bekijken.
- 6 Selecteer het tabblad Samples & Results om het analyserapport te bekijken.
  - ▶ Als de analyse opnieuw in de wachtrij is geplaatst, selecteert u de juiste analyse in de vervolgkeuzelijst Select Analysis.
  - ▶ Selecteer in de linkernavigatiebalk een monster-ID om het rapport voor een ander monster te bekijken.
- 7 **[Optioneel]** Selecteer **Copy to Clipboard** om het bestandspad naar de Analysis Folder te kopiëren.

## Het rapport Results

De resultaten worden samengevat op het tabblad Samples and Results.

## Monsters

Tabel 1 De tabel Samples

Kolomkop	Beschrijving
Sample ID	De monster-ID die bij het aanmaken van de run is opgegeven.
Plate	De plaat die bij de indexplaat werd aangeleverd toen de run werd gemaakt. De kolom wordt alleen weergegeven als de indexplaat AB is geselecteerd.
Index Well	De indexwell die bij de locatie van de monsterwell werd aangeleverd toen de run werd gemaakt.
Description	De voorbeeldbeschrijving die werd aangeleverd toen de run werd gemaakt.
UDP	De UDP die met het monster wordt gebruikt.
Control	De positieve of negatieve controle die met het monster is gebruikt.

## Indexering

Tabel 2 Indexeringstabel

Kolomkop	Omschrijving
Index Number	Een toegewezen ID op basis van de volgorde waarin monsters in de monstertabel worden vermeld.
Sample ID	De monster-ID die bij het aanmaken van de run is opgegeven.
UDP	De UDP die met het monster wordt gebruikt.
% Reads Identified (PF)	Het percentage bepalingen dat door filters is doorgelaten.

## Uitvoerbestanden van analyses

De volgende analyse-uitvoerbestanden worden gegenereerd voor de DNA GenerateFASTQ Dx-analysemodule.

Bestandsnaam	Omschrijving
Demultiplexen (*.demux)	Tussenbestanden met demultiplexresultaten.
FASTQ (*.fastq.gz)	Tussentijdse bestanden die basepalingen met kwaliteitsscores bevatten. FASTQ-bestanden zijn de primaire invoer voor de uitlijningsstap.

## Bestandsindeling voor demultiplexen

Bij demultiplexen wordt de aan elk cluster gekoppelde indexsequentie gelezen om te bepalen van welk monster het cluster afkomstig is. De toewijzing van clusters aan monsternummers wordt weggeschreven naar een demultiplexbestand (\*.demux) voor elke tegel van de stroomcel.

De naamgeving van het demultiplexbestand is **s\_1\_X.demux**, waarbij X het nummer van de tegel is.

Demultiplexbestanden beginnen met een kopregel:

- ▶ Versie (geheel getal van 4 bytes), momenteel 1
- ▶ Clustertelling (geheel getal van 4 bytes)

De rest van het bestand bestaat uit monsternummers voor elk cluster uit de tegel.

Wanneer de demultiplexstap is voltooid, genereert de software een demultiplexbestand met de naam **DemultiplexSummaryF1L1.txt**.

- ▶ In de bestandsnaam staat **F1** voor het stroomcelnummer.
- ▶ In de bestandnaam staat **L1** voor het baannummer.
- ▶ Demultiplexresultaten in een tabel met één rij per tegel en één kolom per monster, inclusief monster 0.
- ▶ De meest voorkomende sequenties in indexbepalingen.

## FASTQ-bestandsindeling

FASTQ is een tekstbestandsindeling die basepalingen en kwaliteitswaarden per bepaling bevat.

Elke record bevat 4 regels:

- ▶ De identificatie
- ▶ De sequentie
- ▶ Een plusteken (+)
- ▶ De Phred-kwaliteitsscores in een ASCII + 33-indeling

De identificatie is als volgt ingedeeld:

**@Instrument:RunID:FlowCellID:Lane:Tile:X:Y ReadNum:FilterFlag:0:SampleNumber**

Voorbeeld:

```
@SIM:1:FCX:1:15:6329:1045 1:N:0:2
TCGCACTCAACGCCCTGCATATGACAAGACAGAATC
+
<>;##=><9=AAAAAAAAA9#:<#<;<<<????#=#
```

## Aanvullende uitvoerbestanden

De volgende uitvoerbestanden bevatten aanvullende informatie of een samenvatting van de runresultaten en analysefouten. Hoewel deze bestanden niet nodig zijn voor de beoordeling van de analyseresultaten, kunnen ze worden gebruikt voor het oplossen van problemen. Alle bestanden bevinden zich in de map Alignment, tenzij anders aangegeven.

Bestandsnaam	Omschrijving
<b>AdapterTrimming.txt</b>	Geeft het aantal getrimde basen en het percentage basen voor elke tegel weer. Dit bestand is alleen aanwezig als het trimmen van de adapter is opgegeven voor de run.
<b>AnalysisLog.txt</b>	Verwerkingslogboek waarin elke stap wordt beschreven die is uitgevoerd tijdens de analyse van de huidige runmap. Dit bestand bevat geen foutmeldingen. Bevindt zich op het hoofdniveau van de runmap.
<b>AnalysisError.txt</b>	Verwerkingslogboek waarin een lijst is opgenomen van eventuele fouten die tijdens de analyse zijn opgetreden. Dit bestand is leeg als er geen fouten zijn opgetreden. Bevindt zich op het hoofdniveau van de runmap.
<b>CompletedJobInfo.xml</b>	Wordt geschreven nadat de analyse is voltooid en bevat informatie over de run, zoals datum, stroomcel-ID, softwareversie en andere parameters. Bevindt zich op het hoofdniveau van de runmap.
<b>Checksum.csv</b>	Bevat de bestandsnamen en unieke checksumwaarden voor bepaalde en onbepaalde FASTQ-bestanden, BCL-bestanden en het bestand <b>SampleSheetUsed.csv</b> .
<b>DemultiplexSummaryF1L1.txt</b>	Rapporteert demultiplexresultaten in een tabel met 1 rij per tegel en 1 kolom per monster.
<b>GenerateFASTQRunStatistics.xml</b>	Bevat samenvattende statistieken die specifiek zijn voor de run. Bevindt zich op het hoofdniveau van de runmap.

## Analysemap

De analysemap bevat de bestanden die worden gegenereerd door de Local Run Manager-software.

De relatie tussen de uitvoer- en de analysemap kan als volgt worden samengevat:

- ▶ Tijdens de sequencing vult Real-Time Analysis (RTA) de uitvoermap met bestanden die tijdens de beeldanalyse, basebepaling en kwaliteitsscore zijn gegenereerd.
- ▶ RTA kopieert bestanden in realtime naar de analysemap. Nadat RTA een kwaliteitsscore heeft toegekend aan elke basis voor elke cyclus, schrijft de software het bestand RTAComplete.xml naar beide mappen.
- ▶ Wanneer het bestand RTAComplete.xml aanwezig is, begint de analyse.
- ▶ Terwijl de analyse wordt voortgezet, schrijft Local Run Manager uitvoerbestanden naar de analysemap en kopieert de bestanden terug naar de uitvoermap.

## Uitlijningsmappen

Telkens wanneer die analyse wordt opgevraagd, maakt Local Run Manager een uitlijningsmap aan met de naam **Alignment\_N**, waarbij N een volgnummer is.

## Mapstructuur

- 📁 Gegevens
- 📁 Alignment\_## of Alignment\_Imported\_##
  - 📁 [Timestamp of Run]
    - 📁 DataAccessFiles
    - 📁 Fastq
      - 📁 FastqSummaryF1L1.txt



- 📁 Sample1\_S1\_L001\_R1\_001.fastq.gz
- 📁 Sample2\_S2\_L001\_R2\_001.fastq.gz
- 📁 Undetermined\_S0\_L001\_R1\_001.fastq.gz
- 📁 Undetermined\_S0\_L001\_R2\_001.fastq.gz
- 📁 **Logging**
  - 📁 BuildFastq0.stdout.txt
  - 📁 BuildFastq1.stdout.txt
  - 📁 commands.txt
- 📁 **Plots**
  - 📁 AdapterCounts.txt
  - 📁 AdapterTrimming.txt
  - 📁 AnalysisError.txt
  - 📁 AnalysisLog.txt
  - 📁 Checkpoint.txt
  - 📁 Checksum.csv
  - 📁 CompletedJobInfo.xml
  - 📁 DemultiplexSummaryF1L1.txt
  - 📁 GenerateFASTQRunStatistics.xml
  - 📁 SampleSheetUsed.csv

## Basebepaling en indexdiversiteit

Wanneer monsters worden gesequencet op het MiSeqDx-instrument, wordt een base vastgesteld (A, C, G of T) voor elk cluster van een bepaalde tegel of beeldvormingsgebied op de stroomcel, bij een specifieke cyclus. Het MiSeqDx-instrument maakt gebruik van sequencing met vier kanalen, waardoor vier beelden nodig zijn om de gegevens voor vier DNA-basen te coderen, twee van het rode kanaal en twee van het groene kanaal.

De procedure voor basebepaling bij indexbepalingen is anders dan voor basebepaling tijdens andere bepalingen.

Bij het selecteren van indexen tijdens het aanmaken van runs wordt een waarschuwing voor lage diversiteit weergegeven als de indexen niet aan de diversiteitseisen voldoen. U kunt deze waarschuwing voorkomen door indexsequenties te kiezen die bij elke cyclus een signaal in beide kanalen leveren.

- ▶ Rood kanaal: A of C
- ▶ Groen kanaal: G of T

Dit basebepalingsproces garandeert nauwkeurigheid bij het analyseren van low-plexmonsters. Voor meer informatie over de reeksen van uw indexen raadpleegt u de *bijsluiter Illumina DNA Prep with Enrichment Dx*.

Tijdens het aanmaken van de run in Local Run Manager kiest u het aantal monsters dat u wilt testen. Voorgestelde indexcombinaties die voldoen aan de eisen voor indexdiversiteit worden automatisch door de software ingevuld. Hoewel u niet verplicht bent de voorgestelde UDP-indexcombinaties te gebruiken, wordt het wel aanbevolen.

## Revisiegeschiedenis

Document	Datum	Omschrijving van wijziging
Documentnr. 200015661 v01	Mei 2022	Adres van de Australische sponsor toegevoegd. Bepering van de monsterbeschrijving verduidelijkt.
Documentnr. 200015661 v00	Feb. 2022	Eerste release

## Technische ondersteuning

Voor technische ondersteuning neemt u contact op met de afdeling technische ondersteuning van Illumina.

**Website:** [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
**E-mail:** [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

Telefoonnummers van klantenondersteuning van Illumina

Regio	Gratis telefoonnummer	Regionaal telefoonnummer
Noord-Amerika	+1 800 809 4566	
Australië	+1.800.775.688	
België	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Denemarken	+45 80820183	+45 89871156
Duitsland	+49 8001014940	+49 8938035677
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrijk	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong, China	800960230	
Ierland	+353 1800936608	+353 016950506
Italië	+39 800985513	+39 236003759
Japan	+81 800 111 5011	
Nederland	+31 8000222493	+31 207132960
Nieuw-Zeeland	+64 800 451 650	
Noorwegen	+47 800 16836	+47 21939693
Oostenrijk	+43 800006249	+43 19286540
Singapore	+1.800.579.2745	
Spanje	+34 911899417	+34 800300143
Taiwan, China	+886 806651752	
Verenigd Koninkrijk	+44 8000126019	+44 2073057197
Zuid-Korea	+82 80 234 5300	
Zweden	+46 850619671	+46 200883979
Zwitserland	+41 565800000	+41 800200442
Overige landen	+44 1799 534 000	

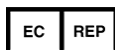
Veiligheidsinformatiebladen (SDS, 'safety data sheets'): zijn verkrijgbaar op de website van Illumina via [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Productdocumentatie: beschikbaar voor downloaden in pdf-vorm via [support.illumina.com](http://support.illumina.com).



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, Californië 92122 VS  
+1 800 809 ILMN (4566)  
+1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

CE



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

**Australische sponsor**

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

**BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK**

© 2022 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

**illumina®**