

# جهاز NextSeq™ 550Dx

لأغراض الاستخدام في التشخيص المختبري فقط  
للتصدير فقط

كتالوج رقم 20005715

## الغرض من الاستخدام

يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx مُخصّصًا لإجراء التسلسل لمكتبات الحمض النووي عند استخدامها في الفحوصات التشخيصية المختبرية. ويجب استخدام جهاز NextSeq 550Dx مع برنامج تحليلي وكواشف تشخيصية مختبرية مُحددة ومُسجّلة، أو مُصدّق عليها أو معتمدة.

## آليات العمل الأساسية

يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx من Illumina مُصمّمًا لإجراء تسلسل لمكتبات الحمض النووي باستخدام فحوصات التشخيص المختبرية كما أنه مُصمّم للاستخدام من قِبَل موظفي المختبرات السريرية المؤهلين والمُدرّبين في الإجراءات التشخيصية المختبرية المُجرّاة في المعامل السريرية. وبالنسبة للإدخال الخاص به، فإن جهاز NextSeq 550Dx يستخدم المكتبات المُنشأة من الحمض النووي حيث تُضاف مؤشرات العينة والتسلسلات المُلتقطة إلى الأهداف المُضخمة. وتُلتقط مكتبات العينة على إحدى خلايا التدفق وتخضع لإجراء التسلسل في الجهاز باستخدام كيمياء التسلسل من خلال التخليق (SBS). وتستخدم كيمياء التسلسل من خلال التخليق (SBS) طريقة أداة الإنهاء القابلة للانعكاس لاكتشاف القواعد النيوكليوتيدية الفردية الموسومة بمادة فلورية لأنها تكون مُدمجة في أشرطة الحمض النووي DNA النامية. ويُجرى برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA) تحليلًا للصورة والاستدعاء الأساسي ويُعيّن درجة الجودة لكل قاعدة، وذلك في كل دورة تسلسل. وعند الانتهاء من التحليل الأساسي، يُمكن تنفيذ تحليل ثانوي على الجهاز لمعالجة الاستدعاءات الأساسية. يستخدم جهاز NextSeq 550Dx نماذج تحليل ثانوية مختلفة بناءً على سير العمل. وبالنسبة لوحداث متغير الخط الجنسي أو المتغير الجسدي، تتضمن المعالجة موزّع البيانات، وإنشاء ملف FASTQ، والمحاذاة، واستدعاء المتغير وإنشاء ملفات بتنسيق استدعاء المتغير (VCF وgVCF). تتضمن ملفات VCF وgVCF معلومات حول المتغيرات التي تم العثور عليها في مواقع مُحددة في الجينوم المرجعي.

## تكوين التشغيل المزدوج

يتضمّن جهاز NextSeq 550Dx أحد تكوينات التشغيل المزدوج لتمكين استخدام الجهاز إما في وضع تشخيصي (Dx) وإما للاستخدام البحثي (RUO) فقط. وتُنفذ فحوصات التسلسل التشخيصية المختبرية، بما في ذلك وحدات متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي، في الوضع التشخيصي. ولا يجوز استخدام سوى كواشف التسلسل الخاصة بالتشخيص المختبري في الوضع التشخيصي. وتم وضع خصائص الأداء وقيود الإجراءات الخاصة بجهاز NextSeq 550Dx باستخدام وحدتي متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي في الوضع التشخيصي.

## قيود الإجراءات

- 1 للاستخدام في التشخيص المختبري.
- 2 يُمكن لوحداث متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي، عند استخدامها مع مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) أو مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة)، تقديم ما يلي:
  - ◀ إخراج التسلسل  $\leq 90$  جيجا قاعدة (Gb)
  - ◀ طول القراءة (في عملية تشغيل مزدوجة الطرفين)  $2 \times 150$  زوجًا قاعديًا (bp)
  - ◀ قواعد مسلووية لدرجة الجودة  $30 \leq 75\%$  أو أكبر منها عند طول القراءة  $2 \times 150$  زوجًا قاعديًا
- 3 تحصل  $75\%$  من القواعد أو أكبر درجات جودة بقيمة  $\leq 30$  على مقياس فريد (Phred)، ما يُشير إلى دقة استدعاء أساسي أكبر من  $99.9\%$  لا يُجرى برنامج الفحص محاذاة للقراءات التي تحتوي على الإنديل (الإدخالات، أو الحنوفات أو حالات الدمج)، والتي يكون فيها طول المحتوى  $< 25$  زوجًا قاعديًا (bp). وبالتالي، يتعدّى على برنامج الفحص اكتشاف الإنديل الذي يكون طوله  $< 25$  زوجًا قاعديًا.
- 4 قد لا يعمل برنامج الفحص على محاذاة قراءات الأمبليكون ذات المحتوى المتغير المرتفع، ما يؤدي إلى الإبلاغ عن أن المنطقة من النمط ذي النوع البري. يتضمّن مثل هذا المحتوى المرتفع ما يلي:
  - ◀ قراءات تشتمل على أكثر من ثلاث من طفرات الإنديل
  - ◀ قراءات بطول  $30$  زوجًا قاعديًا على الأقل مع محتوى متغير النيوكليوتيد المفرد  $> 4\%$  (SNV) من إجمالي طول الأمبليكون المستهدف (باستثناء مناطق المسبار)

- قراءات بطول > 30 زوجًا قاعديًا مع محتوى متغير النيوكليوتيد المفرد > 10% (SNV) من إجمالي طول الأمبليكون (بما في ذلك مناطق المسبار)
- 5 قد ترد المتغيرات كبيرة الحجم، التي تشمل متغيرات متعددة النيوكليوتيدات (MNVs) وطفرات الإنديل الكبيرة، كمتغيرات أصغر حجمًا منفصلة في ملف الإخراج بتنسيق VCF.
- 6 يُمكن تصفية متغيرات الحذف أو تفويتها عند شمول اثنين من جزيئات الأمبليكون المتجانبة إذا كان طول الحذف أكبر من التداخل بين جزيئات الأمبليكون المتجانبة أو يُسلويها.
- 7 لا يمكن النظام من الكشف عن الإنديل إذا حدث بجوار أحد المُسرعات مباشرةً ولا توجد أي جزيئات أمبليكون مُتداخلة. بالنسبة للمناطق ذات جزيئات الأمبليكون المتداخلة، لا يمكن للفحص اكتشاف الحنوفات عندما تكون منطقة التداخل أقل من حجم الحذف الذي يجب الكشف عنه. فعلى سبيل المثال، إذا كانت منطقة التداخل بين اثنين من جزيئات الأمبليكون المتجانبة عبارة عن قاعدتين، فعندئذٍ يتعدى على الفحص الكشف عن أي حنوفات بما في ذلك هاتان القاعدتان. ويُمكن الكشف عن أحد حنوفات القواعد الفردية في أي من هاتين القاعدتين.
- 8 وكما هو الحال في أي سير عمل خاص بإعداد مكتبة تستند إلى التهجين، يمكن أن يؤثر كل من تعدد الأشكال الأساسي، أو الطفرات، أو الإدخالات أو الحنوفات في المناطق المرتبطة بقليل النيوكليوتيد، على الأليل الذي يُجرى فحصه بالمسبار والاستدعاءات التي تُجرى خلال عملية التسلسل. على سبيل المثال:
- ◀ قد لا يتم تضخيم المتغير في مرحلة المطورة مع متغير في منطقة المُسرّع الأمر الذي تنتج عنه نتيجة سلبية مزيفة.
- ◀ قد تمنع المتغيرات في منطقة المُسرّع من تضخيم الأليل المرجعي، ما ينتج عنه استدعاء غير صحيح لمتغير متمائل الزيجوت.
- ◀ قد تتسبب متغيرات الإنديل في منطقة المُسرّع في استدعاء إيجابي كاذب عند نهاية القراءة المجاورة للمُسرّع.
- 9 يُمكن تصفية الإنديل نتيجة انحراف الشريط إذا حدث بالقرب من نهاية قراءة واحدة وتم قصه بشكل طفيف أثناء عملية المحاذاة.
- 10 لم يتم التحقق من متغيرات متعددة النيوكليوتيدات (MNVs) الصغيرة وترد في وحدة المتغير الجسدي فقط.
- 11 ترد الحنوفات في ملف بتنسيق VCF في إحدائيات القاعدة السابقة وفقًا لتنسيق VCF. ولذلك، ضع في اعتبارك المتغيرات المجاورة قبل الإبلاغ بأن أحد الاستدعاءات الأساسية الفردية عبارة عن مرجع متمائل الزيجوت.
- 12 القيود الخاصة بالخط الجنسي:
- ◀ يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx مُصممًا لتقديم نتائج كمية لاستدعاء متغير الخط الجنسي (على سبيل المثال، متمائل الزيجوت، ومتغاير الزيجوت ونمط النوع البري)، وذلك باستخدام وحدة متغير الخط الجنسي لمدير التشغيل المحلي الخاصة بجهاز NextSeq 550Dx.
- ◀ وعند الاستخدام مع وحدة متغير الخط الجنسي، يكون الحد الأدنى للتغطية لكل جزيء من جزيئات الأمبليكون اللازم لاستدعاء المتغير بصورة دقيقة هو 150 مرة. ونتيجة لذلك، يلزم وجود 150 جزءًا داعمًا من الحمض النووي، وهو ما يُكافئ 300 قراءة متداخلة مقترنة الطرفين. ويؤثر عدد العينات والعدد الإجمالي للقواعد المُستهدفة على التغطية. وقد يؤثر محتوى الجوانين والسيبوزين GC والمحتوى الجينومي الآخر على التغطية.
- ◀ يُمكن أن يؤثر تباين عدد النسخ على ما إذا تم تعريف أحد المتغيرات على أنه متمائل الزيجوت أم متغاير الزيجوت.
- ◀ تتم تصفية المتغيرات في سياق تكراري معيّن في ملفات بتنسيق VCF. يُستخدم مُرشح تكرار RMxN لتصفية المتغيرات إذا كان تسلسل المتغير بأكمله أو جزء منه موجودًا بشكل متكرر في الجينوم المرجعي المُجاور لموقع المتغير. ولاستدعاء متغير الخط الجنسي، يلزم وجود تسعة تكرارات على الأقل في المرجع حتى تتم تصفية المتغير. ويتم النظر في التكرارات التي يصل طولها حتى 5 أزواج قاعدية فقط (R5x9).
- ◀ قد ينتج عن وجود إنديل ومتغير نيوكليوتيد مفرد (SNV) في موقع واحد الإبلاغ عن متغير واحد فقط.
- 13 القيود الجسدية المُحددة:
- ◀ يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx، مُصممًا لتقديم نتائج نوعية لاستدعاء المتغير الجسدي (على سبيل المثال، وجود متغير جسدي بنسبة تواتر متغيرة أكبر من 0.026 أو مساوية لها مع حد للكشف يبلغ 0.05)، وذلك باستخدام وحدة المتغير الجسدي لمدير التشغيل المحلي الخاصة بجهاز NextSeq 550Dx.
- ◀ وعند الاستخدام مع وحدة المتغير الجسدي، يكون الحد الأدنى للتغطية لكل أمبليكون لازم لاستدعاء المتغير بصورة دقيقة هو 450 مرة لكل تجمع من تجمعات قليل النيوكليوتيد. ونتيجة لذلك، يلزم وجود 450 جزءًا داعمًا من الحمض النووي لكل تجمع من تجمعات قليل النيوكليوتيد، وهو ما يُكافئ 900 قراءة متداخلة مقترنة الطرفين. ويؤثر عدد العينات والعدد الإجمالي للقواعد المُستهدفة على التغطية. وقد يؤثر محتوى الجوانين والسيبوزين GC والمحتوى الجينومي الآخر على التغطية.
- ◀ بالنسبة لاستدعاء المتغير الجسدي، يلزم وجود ستة تكرارات على الأقل في المرجع حتى تتم تصفية المتغير، ويتم النظر في التكرارات التي يصل طولها حتى 3 أزواج قاعدية فقط (R3x6).
- ◀ لا تستطيع وحدة المتغير الجسدي التمييز بين متغيرات الخط الجنسي والمتغيرات الجسدية. تُعدّ الوحدة مُصممة للكشف عن المتغيرات عبر مجموعة من تواترات المتغيرات، إلا إنه يتعدى استخدام تواتر المتغير للتمييز بين المتغيرات الجسدية ومتغيرات الخط الجنسي.
- ◀ يؤثر النسيج العادي في العينة على اكتشاف المتغيرات. إذ يعتمد الحد المُبلّغ عنه لاكتشاف على تواتر المتغير بالنسبة إلى إجمالي الحمض النووي المُستخلص من كل من أنسجة الورم والأنسجة العادية.

## مكونات المنتج

- 1 جهاز NextSeq 550Dx (كتالوج رقم 20005715)
- 2 مكونات برنامج جهاز NextSeq 550Dx، بما في ذلك ما يلي:

تطبيق البرنامج	الوظيفة	الوصف
برنامج تشغيل NextSeq 550Dx (NOS)	للتحكم في تشغيل الجهاز	يُدير تطبيق برنامج التشغيل NOS عملية تشغيل الجهاز أثناء إجراء التسلسل ويعمل على إنشاء الصور للاستخدام من خلال برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA).
برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA)	إجراء التحليل الأولي	يُحوّل تطبيق برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA) الصور التي يُنشئها برنامج التشغيل NOS لكل شريحة في كل دورة من دورات عملية تشغيل التسلسل إلى ملفات استدعاء أساسي، والتي تُعدّ بمثابة إدخال لنماذج تحليل مدير التشغيل المحلي. ولا يحتوي تطبيق برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA) على واجهة مستخدم.
مدير التشغيل المحلي	واجهة تحديد النموذج	يُعد برنامج Local Run Manager (مدير التشغيل المحلي) أحد الحلول المُدمجة في الجهاز لإدارة المستخدم، وتحديد نموذج التحليل المناسب ومراقبة الحالة.
وحدة المتغير الجسدي	إجراء التحليل الثانوي	يُعالج برنامج وحدة تحليل مدير التشغيل المحلي الاستدعاءات الأساسية من خلال التحليل الثانوي تتضمن تلك المعالجة عملية توزيع البيانات، وإنشاء ملفات FASTQ، والمحاذة، واستدعاء المتغير وإعداد التقارير. يُنشئ تطبيق أداة استدعاء المتغير (Pisces) ملفات VCF التي تتضمن معلومات حول المتغيرات التي عُثِر عليها في مواقع مُحددة في أحد الجينومات المرجعية، كما يتضمن تكرار المتغير الذي تم قياسه.
وحدة متغير الخط الجنسي	إجراء التحليل الثانوي	يُعالج برنامج وحدة تحليل مدير التشغيل المحلي الاستدعاءات الأساسية من خلال التحليل الثانوي تتضمن تلك المعالجة عملية توزيع البيانات، وإنشاء ملفات FASTQ، والمحاذة، واستدعاء المتغير وإعداد التقارير. يُنشئ تطبيق أداة استدعاء المتغير (Pisces) ملفات VCF التي تتضمن معلومات حول المتغيرات التي عُثِر عليها في مواقع مُحددة في أحد الجينومات المرجعية، كما يُعرّف كل متغير على أنه متغير الزيجوت أو متمائل الزيجوت.

## ظروف التشغيل

العنصر	المواصفات
درجة الحرارة	احرص على أن تكون درجة حرارة المعمل من 19° مئوية إلى 25° مئوية (22° مئوية ±3° مئوية). تُعدّ درجة الحرارة هذه هي درجة حرارة التشغيل للجهاز. واحرص على ألا تختلف درجة الحرارة المحيطة أكثر من 2° ± درجة مئوية أثناء الاستخدام.
الرطوبة	احرص على أن تكون الرطوبة النسبية غير المتكاثفة بين 20 و80%.

## المعدات والمواد

### المعدات والمواد المطلوبة، التي تباع بصورة منفصلة

مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (75 دورة)، كتالوج رقم 20028870  
مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة)، كتالوج رقم 20028871

### المعدات والمواد المطلوبة، غير متوفرة

المستهلكات التي يوفرها المستخدم من أجل عمليات تشغيل التسلسل

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
مناديل كحولية، أيزوبروبيل بنسبة 70% أو إيثانول، 70%	VWR، كتالوج رقم 95041-714 (أو ما يعادله) مورد المختبر العام	تنظيف حجرة التدفق والغرض العام
منديل المختبر، قليل الوبر	VWR، كتالوج # 21905-026 (أو ما يعادله)	تنظيف حجرة التدفق والغرض العام

## المستهلكات التي يوفرها المستخدم من أجل صيانة الجهاز

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
NaOCl، 5% (هيبوكلوريت الصوديوم)	Sigma-Aldrich، كتالوج رقم 239305 (أو ما يعادل درجة جودة المختبرات)	غسل الجهاز باستخدام الغسيل اليدوي بعد عملية التشغيل؛ مخفف إلى 0.12%
توين 20	Sigma-Aldrich، كتالوج رقم P7949	غسل الجهاز باستخدام خيارات الغسيل اليدوي؛ مخفف إلى 0.05%
ماء، عالي الجودة وفقاً لمعايير المختبرات	مورد المختبر العام	غسل الجهاز (غسيل يدوي)
فلتر الهواء	Illumina، كتالوج رقم 20022240	تنظيف كمية الهواء التي يستوعبها الجهاز للتبريد

## إرشادات استخدام الماء من فئة المختبر

استخدم دائماً الماء عالي الجودة وفقاً لمعايير المختبرات أو ماء مزال الأيونات لتنفيذ إجراءات الجهاز. لا تستخدم ماء الصنبور أبداً. لا تستخدم سوى الفئات التالية من المياه أو ما يعادلها:

- ◀ ماء مزال الأيونات
- ◀ Illumina PW1
- ◀ ماء 18 ميغا أوم (MΩ)
- ◀ ماء عالي النقاء (Milli-Q)
- ◀ ماء فائق النقاء (Super-Q)
- ◀ الماء الجزيئي وفقاً لمعايير علم الأحياء

## التحذيرات والإحتياطات

تنبيه يحظر القانون الفيدرالي الأمريكي بيع هذا الجهاز سواء بواسطة الطبيب أم ممارس آخر مُرخَّص له بموجب قانون الولاية التي يعمل بها أو بناء على طلب منه لاستخدام الجهاز أو بتوصية منه باستخدامه.

- 1 تحتوي بعض مكونات الكواشف التي تقدّمها Illumina للاستخدام مع جهاز NextSeq 550Dx على مواد كيميائية يُحتمل أن تكون خطيرة. يمكن أن تحدث الإصابة الشخصية عن طريق استنشاق تلك المواد، وابتلاعها وملامستها للجلد والعين. ارتدِ معدات الحماية، بما في ذلك واقية العين، والقفازات، ومعطف المختبر المناسب لتجنب التعرض للمخاطر. تعامل مع الكواشف المستخدمة باعتبارها نفايات كيميائية وتخلص منها وفقاً للقوانين واللوائح الإقليمية، والوطنية، والمحلية المعمول بها. للحصول على معلومات إضافية ذات صلة بالبيئة والصحة والسلامة، راجع أوراق بيانات السلامة (SDS) على [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).
- 2 أبلغ Illumina والسلطات المختصة للدول الأعضاء التي يُقيم فيها المستخدم والمريض في الحال عن أي حوادث خطيرة تتعلق بهذا المنتج.
- 3 تعامل مع جميع عينات الدم كما لو كانت مُعدية لفيروس نقص المناعة البشرية (HIV)، وفيروس التهاب الكبد الوبائي من النوع (B HBV)، والعوامل الأخرى المسببة للأمراض التي تنتقل عبر الدم (وسائل الوقاية العالمية).
- 4 قد يؤدي عدم اتباع الإجراءات كما هو موضح إلى نتائج مشوية بالأخطاء أو انخفاض جودة العينة بدرجة كبيرة.
- 5 اتّخذ الإحتياطات المعملية المعتادة. ولا تستخدم الفم لسحب المواد بطريقة الشفط. وتجنب تناول الطعام، أو المشروبات أو التدخين في مناطق العمل المُخصصة. وارتدِ القفازات والمعاطف المختبرية التي يُمكن التخلص منها عند التعامل مع العينات وكواشف المجموعة. واغسل يديك جيداً بعد التعامل مع العينات وكواشف المجموعة.
- 6 يلزم الحفاظ على الممارسات المختبرية السليمة والنظافة الصحية المختبرية الجيدة لمنع منتجات تفاعل سلسلة البوليميرات (PCR) من تلويث الكواشف، والأجهزة وعينات الحمض النووي الجينومي. فقد يتسبب تلوث تفاعل سلسلة البوليميرات (PCR) في ظهور نتائج غير دقيقة وغير موثوق بها.
- 7 لمنع التلوث، تأكد من وجود معدات ومستهلكات مُخصصة في مناطق ما قبل التضخيم وما بعد التضخيم (مثل، الماصّات، وأطراف الماصّة، وموانع الحرارة، والخلاطات الوامية وأجهزة الطرد المركزي).
- 8 يجب أن يتطابق مؤشر اقتران العينة تماماً مع تصميم تخطيط اللوحة المطبوع. يعمل مدير التشغيل المحلي على ملء مُسَرعات المؤشر المرتبطة بأسماء العينة تلقائياً، وذلك عند إدخالها في الوحدة. ونصح المستخدم بالتحقق من مُسَرعات المؤشر المرتبطة بالعينات قبل بدء عملية تشغيل التسلسل. وقد ينتج عن حالات عدم التطابق بين نتائج العينة ومُخطط اللوحة عدم القدرة على تحديد العينة الإيجابية والإبلاغ غير الصحيح عن النتائج.
- 9 يُوصى بشدة بتثبيت برنامج مضاد الفيروسات الذي يُوفره المستخدم لحماية جهاز الكمبيوتر ضد الفيروسات. واستشر دليل المستخدم للاطلاع على تعليمات التثبيت.
- 10 لا تُشغّل جهاز NextSeq 550Dx مع إزالة أي من الألواح. إذ قد يؤدي تشغيل الجهاز مع إزالة أي من الألواح إلى احتمال التعرض للجهد الخطي وفولتية التيار المباشر.
- 11 لا تلمس منصة خلية التدفق في حجرة خلية التدفق. إذ يعمل السخان في هذه الحجرة بين 22 درجة مئوية و95 درجة مئوية وقد يؤدي إلى حدوث حروق.
- 12 يزن الجهاز 185 رطلاً تقريباً، وقد يسبب إصابة خطيرة إذا سقط أو أسبنت مناولته.

## تعليمات الاستخدام

تُعدّ تعليمات الاستخدام التالية مُخصصة لتشغيل وحدات متغير الخط الجنسي والمتغير الجسدي في الوضع التشخيصي على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) أو مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة).

### إدخال معلومات التشغيل

للحصول على التعليمات بصورة مُفصّلة، راجع الدليل المرجعي لجهاز NextSeq 550Dx (المستند رقم 100000009513) ودليل نموذج برنامج مدير التشغيل المحلي القابل للتطبيق.

### تعيين المَعْلَمَات

- 1 سجّل الدخول إلى مدير التشغيل المحلي.
  - 2 حدد **Create Run (إنشاء عملية التشغيل)**، وحدد **Somatic Variant (المتغير الجسدي)** أو **Germline Variant (متغير الخط الجنسي)**.
  - 3 أدخل اسم عملية التشغيل التي تُحدد عملية التشغيل بدايةً من التسلسل حتى التحليل.
  - 4 استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو المسافات، أو الشرط السفلية أو الشرط. **[اختياري]** أدخل وصف عملية التشغيل للمساعدة في تحديد عملية التشغيل.
  - 5 استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو المسافات، أو الشرط السفلية أو الشرط. حدد عدد العينات ومجموعة المؤشرات من القائمة المنسدلة. ضع في الاعتبار المعلومات التالية عند الاختيار.
- ◀ تتضمن القائمة المنسدلة عددًا من العينات داخل مجموعة المؤشرات. على سبيل المثال، تُشير Set 1-24 إلى وجود 24 عينة تخضع للاختبار، إلى جانب مؤشرات من مجموعة المؤشر 1.
  - ◀ تُشير أرقام مجموعة المؤشر إلى مجموعات مختلفة من أزواج المؤشر i5 و i7. تُقدّم كل من Set 1 (المجموعة الأولى) و Set 2 (المجموعة الثانية) تنوعًا للمؤشرات. تُقدّم مجموعتا المؤشر للمساعدة في منع استفاد مجموعة واحدة.
  - ◀ اختر عدد العينات الأقرب إلى عدد العينات التي تُجري اختبارًا لها. وإذا لم يكن العدد النقيق للعينات مُرجحًا في القائمة، فاختر عدد العينات الأقرب لكن أقل من عدد العينات التي تُجري اختبارًا لها. على سبيل المثال، إذا كنت ترغب في اختبار 18 عينة، حدد 16 عينة.
  - ◀ تُحدد مجموعات المؤشر والمجموعات الخاصة بالعينة المُقترحة التي تُلبي متطلبات تنوع المؤشر باللون الأخضر.

### استيراد ملفات البيان لعملية التشغيل

- 1 تأكد من أن ملفات البيان التي ترغب في استيرادها متاحة في أحد مواقع الشبكة التي يُمكن الوصول إليها أو على محرك USB.
- 2 حدد **Import Manifests (استيراد ملفات البيان)**.
- 3 انتقل إلى ملف البيان، وحدد ملفات البيان التي تريد إضافتها.

**ملاحظة** لجعل ملفات البيان متاحة لجميع عمليات التشغيل باستخدام نموذج تحليل متغير الخط الجنسي أو المتغير الجسدي، أضف ملفات البيان باستخدام ميزة Module Settings (إعدادات النموذج). تتطلب هذه الميزة أدونات المسؤول على مستوى المستخدم. للحصول على المزيد من المعلومات، راجع الدليل المرجعي لجهاز NextSeq 550Dx (مستند رقم 100000009513).

### تحديد العينات لعملية التشغيل

حدد العينات لعملية التشغيل باستخدام أحد الخيارات والتوجيهات التالية.

- ◀ **إدخال العينات يدويًا**—استخدم الجدول الفارغ الموجود على شاشة Create Run (إنشاء عملية التشغيل).
- ◀ **استيراد العينات**—انتقل إلى ملف خارجي بتنسيق (CSV) مع قيم مفصولة بفاصلة. يتوفر قالب للتنزيل على شاشة Create Run (إنشاء عملية تشغيل).

### إدخال العينات يدويًا

- 1 أدخل اسم العينة الفريد **(وحدة تحليل المتغير الجسدي)** أو مُعرّف العينة **(وحدة تحليل متغير الخط الجنسي)**.
- 2 استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو الشرط السفلية، أو الشرط السفلية. **[اختياري]** بالنسبة للعينات ذات عنصر التحكم الإيجابي أو السلبي، انقر بزر الماوس الأيمن على نوع التحكم وحدده. يقوم عنصر التحكم في مجمع عينة واحد بملء المجمع المقابل تلقائيًا في التجمع الآخر باسم عنصر التحكم ذاته.
- 3 **[اختياري]** أدخل وصف العينة في حقل Sample Description (وصف العينة).
- 4 استخدم الأحرف الأبجدية الرقمية، أو الشرط السفلية، أو الشرط السفلية. حدد محوّل المؤشر 1 من القائمة المنسدلة للمؤشر 1 (i7).

وعند استخدامك مجموعات العينة المقترحة، سيعمل البرنامج على التعيينة التلقائية لمحولات المؤشر i7 و i5 التي تُلبى متطلبات التنوع للمؤشر. وإذا لم يكن العدد الدقيق للعينات التي تختبرها مُدرجًا في القائمة، فتأكد من تحديد محولات المؤشر للمجموعات الإضافية.

- 5 حدد محول المؤشر 2 من القائمة المنسدلة للمؤشر 2 (i5).
- 6 حدد أحد ملفات البيان من القائمة المنسدلة لملفات البيان.
- تتطلب العينات في التجمع أو وجود ملف بيان مختلف عن العينات الموجودة في التجمع ب.
- 7 اختر أحد الخيارات لعرض مخطط اللوحة، أو طباعته أو حفظه كمرجع لإعداد المكتبات:
- حدد رمز **Print (طباعة)** لعرض مخطط اللوحة. حدد **Print (طباعة)** لطباعة مخطط اللوحة.
- حدد **Export (تصدير)** لتصدير معلومات العينة إلى ملف خارجي.
- 8 حدد **Save Run (حفظ عملية التشغيل)**.

#### استيراد العينات

- 1 حدد **Import Samples (استيراد العينات)** وتصفح وصولًا إلى موقع ملف معلومات العينة. يوجد نوعان من الملفات التي يُمكنك استيرادها.
- حدد **Template (القالب)** على شاشة **Create Run** (إنشاء عملية التشغيل) لإنشاء مخطط لوحة جديد. يتضمّن ملف القالب عناوين العمود الصحيحة للاستيراد. أدخل معلومات العينة الخاصة بالعينات في عملية التشغيل في كل عمود. احذف معلومات المثل في الخلايا غير المُستخدمة ثم احفظ الملف.
- استخدم ملف معلومات العينة تم تصديره من وحدة متغيّر الخط الجنسي أو المتغيّر الجسدي باستخدام ميزة **Export (التصدير)**.
- 2 حدد رمز **Print (طباعة)** لعرض مخطط اللوحة.
- 3 حدد **Print (طباعة)** لطباعة مخطط اللوحة كمرجع لإعداد المكتبات.
- 4 حدد **Save Run (حفظ عملية التشغيل)**.

#### إعداد خرطوشة الكاشف

تأكد من اتباع إرشادات خرطوشة الكاشف بعناية للحصول على تسلسل ناجح.

- 1 أخرج خرطوشة الكاشف من التخزين في درجة حرارة تتراوح من 25 درجة مئوية إلى 15 درجة مئوية.
- 2 اختر إحدى الطرق التالية لإذابة الكواشف. لا تغمر الخرطوشة. بعد إذابة الخرطوشة، جفّفها قبل المتابعة إلى الخطوة التالية.

حد الاستقرار	الوقت المتبقي للذوبان	درجة الحرارة
لا يتجاوز 6 ساعات	60 دقيقة	حمام مياه في درجة حرارة من 15 درجة مئوية إلى 30 درجة مئوية
لا يتجاوز 5 أيام	7 ساعات	من 2 إلى 8 درجات مئوية

**ملاحظة** إذا حدث ذوبان لأكثر من خرطوشة واحدة في الحمام المائي نفسه، فاترك وقتًا إضافيًا للذوبان.

- 3 اقلب الخرطوشة خمس مرات لمزج المواد الكاشفة.
- 4 افحص الجزء السفلي من الخرطوشة للتأكد من إذابة الكواشف وخلوها من الرواسب. تأكد من إذابة المواضع 29، و30، و31، و32، نظرًا لأنها الأكبر وتستغرق وقتًا أطول للذوبان.
- 5 اضغط بلطف على الحافة لتقليل فقاعات الهواء.
- للحصول على أفضل النتائج، انتقل مباشرة إلى تحميل العينة وإعداد عملية التشغيل.

#### تحضير خلية التدفق

- 1 أزل علبة خلية التدفق الجديدة من التخزين في درجة حرارة من 2 إلى 8 درجات مئوية.
- 2 أخرج الحزمة الرقائعية من الصندوق واتركها جانبًا في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة.

#### تحضير المكتبات للتسلسل

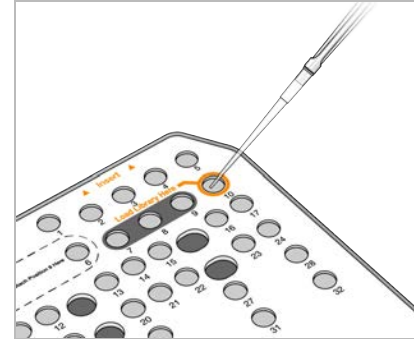
غير مكتباتك وخففها إلى حجم تحميل بمقدار 1.3 مل. من الناحية العملية، يمكن أن يتنوع تركيز التحميل حسب تحضير المكتبة وطرق القياس الكمي. يعتمد تخفيف مكتبات العينات على مدى تعقيد التجمعات قليلة النوكليوتيد. للحصول على توجيهات حول كيفية إعداد مكتبات العينات للتسلسل، بما في ذلك التخفيف والتجميع بالمكتبة، راجع قسم إرشادات الاستخدام لمجموعة أدوات إعداد المكتبة المستخدمة. يلزم تحسين كثافة الكتلة على تطبيق NextSeq 550Dx.

#### تحميل المكتبات فوق خرطوشة الكاشف

- 1 نظف السدادة الرقائعية التي تغطي الخزان رقم 10 المكتوب عليه **Load Library Here (حمل المكتبة هنا)** باستخدام منديل قليل الوير.
- 2 اخترق السدادة برأس ماصّة ونظيفة 1 مل.

3 حمل 1.3 مل من المكتبات المعدة في الخزان رقم 10 المكتوب عليه **Load Library Here (حمل المكتبة هنا)**. تجنب لمس السدادة الرقائبة أثناء توزيع المكتبات.

#### الشكل 1 تحميل المكتبات



#### إعداد عملية تشغيل التسلسل

- 1 سجّل الدخول إلى NextSeq 550Dx باستخدام كلمة مرور برنامج مدير التشغيل المحلي الخاصة بك.
- 2 من الشاشة الرئيسية لبرنامج NOS، حدد **Sequence (تسلسل)**.
- 3 حدد إحدى عمليات التشغيل من القائمة ثم حدد **Next (التالي)**.
- 4 تُفتح سلسلة من شاشات إعداد عملية التشغيل بالترتيب التالي: تحميل خلية التدفق، وتحميل خرطوشة التخزين المؤقت، وتحميل خرطوشة الكاشف وفحص ما قبل عملية التشغيل.
- 4 عندما تظهر شاشة تحميل خلية التدفق، نظّف خلية التدفق ومن ثم قم بتحميلها.
  - ◀ أزل خلية التدفق من حزمة الرقاقة.
  - ◀ افتح الحزمة البلاستيكية الشفافة ذات الشكل الصدفي وأزل خلية التدفق
  - ◀ نظف السطح الزجاجي لخلية التدفق بقطعة قماش مبللة بالكحول وخالية من الوبر. ثم جفف الزجاج باستخدام منديل المختبر قليل الوبر
  - ◀ تأكد من نظافة السطح الزجاجي لخلية التدفق. كرر خطوة التنظيف، إذا لزم الأمر.
  - ◀ أزل خلية التدفق المستعملة في إحدى عمليات التشغيل السابقة.
  - ◀ قم بمحاذاة خلية التدفق فوق دبابيس المحاذاة وضع خلية التدفق على منصتها.
- 5 حدد **Load (تحميل)**.
- 6 يُغلق الباب تلقائيًا، ويظهر معرف خلية التدفق على الشاشة، وتُفحص أجهزة الاستشعار.
- 6 اتبع توجيهات البرنامج لتفريغ حاوية الكواشف المستعملة، وقم بتحميل خرطوشة التخزين المؤقت لجهاز NextSeq 550Dx وكذلك قم بتحميل خرطوشة الكاشف لجهاز NextSeq 550Dx.
- 7 عند تحميل خرطوشة التخزين المؤقت وخرطوشة الكواشف لجهاز NextSeq 550Dx، يقرأ البرنامج رقاقات تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) ويسجلها. وتظهر مُعرّفات خرطوشة التخزين المؤقت وخرطوشة الكاشف على الشاشة كما يجري فحص أجهزة الاستشعار.
- 7 عند اكتمال الفحص التلقائي ما قبل التشغيل، حدد **Start (البدء)**. (لا يلزم هذا إذا تمت التهيئة للبدء تلقائيًا).
- 8 تفتح شاشة التسلسل عند بدء عملية التشغيل. تُوفر هذه الشاشة تمثيلًا بصريًا لعملية التشغيل قيد التقدم، بما في ذلك الكثافات ودرجات الجودة (Q-scores).

#### النتائج

يُعد التحليل في الوقت الفعلي (RTA) عبارة عن برنامج متكامل يُجري تحليلًا للصورة والاستدعاء الأساسي ويُعيّن درجة الجودة لكل قاعدة، لكل دورة تسلسل. وعند الانتهاء من التحليل الأولي، تبدأ الوحدة المحددة لمدير التشغيل المحلي على جهاز NextSeq 550Dx إجراء التحليل الثانوي تلقائيًا. تُعدّ عمليات التحليل الثانوي الموضّحة هنا مخصصة لوحدة متغيّر الخط الجنسي والمتغيّر الجسدي.

#### موزّع البيانات

يُعارن موزّع البيانات كل تسلسل لقراءة المؤشر بتسلسلات المؤشر المحددة لعملية التشغيل. ولا يتم النظر في قيم الجودة في هذه الخطوة. تُحدّد قراءات المؤشر باستخدام الخطوات التالية:

- ◀ تُرقم العينات بدءًا من 1 حسب الترتيب المُدرّج بها لعملية التشغيل.
- ◀ يُعدّ رقم العينة 0 مخصصًا للعناقيد التي لم تُعيّن إلى إحدى العينات.

تُعيّن العناقيد إلى إحدى العينات عندما يتطابق تسلسل المؤشر تمامًا أو عندما يكون هناك ما يصل إلى حالة عدم تطابق واحدة لكل قراءة مؤشر.

## إنشاء ملف FASTQ

بعد توزيع البيانات، يُنشئ البرنامج ملفات التحليل الوسيطة بتنسيق FASTQ، وهو تنسيق نصي يُستخدم لتمثيل عمليات التسلسل. تتضمن ملفات FASTQ قراءات لكل عينة ودرجات الجودة المرتبطة بها. وتُستثنى العناقيد التي لم تمر من الفلتر.

يحتوي كل ملف من ملفات FASTQ على قراءات لعينة واحدة فقط، ويُضمن اسم تلك العينة في اسم ملف FASTQ. وفي وحدات متغير الخط الجسدي والمتغير الجسدي، تُنشأ ثمانية ملفات FASTQ للعينة الواحدة لكل مجمع قليل النيوكليوتيد، وتكون أربعة ملفات منها من القراءة 1 وأربعة أخرى من القراءة 2. وينتج عن هذا الإخراج إجمالي 8 ملفات و16 ملف FASTQ للعينة الواحدة، وذلك لمتغير الخط الجسدي والمتغير الجسدي على التوالي. تُعدّ ملفات FASTQ بمثابة الإدخال الأولي للمحاذاة.

## المحاذاة

خلال خطوة المحاذاة، تعمل خوارزمية سميث ووترمان ذات التنسيق الخاص على محاذاة العناقيد من كل عينة مقابل تسلسلات الأمبليكون المحددة في ملف البيان. تجري خوارزمية سميث ووترمان ذات التنسيق الخاص عمليات محاذاة شبيهة عامة للتسلسل لتحديد المناطق المماثلة بين عمليتي تسلسل. وبدلاً من مقارنة التسلسل الإجمالي، تُقارن خوارزمية سميث ووترمان مقاطع لجميع الأطوال الممكنة.

يجري تقييم كل قراءة ذات نهاية مُقترنة فيما يتعلق بالمحاذاة الخاصة بها مع تسلسلات المسبار ذات الصلة بهذه القراءة.

◀ يجري تقييم القراءة رقم 1 مقابل المتمم المعكوس الخاص بقليل النيوكليوتيد ذي الموقع الكروموسومي المحدد المتماشي مع الاتجاه (DLSO).

◀ يجري تقييم القراءة رقم 2 مقابل قليل النيوكليوتيد ذي الموقع الكروموسومي المحدد عكس الاتجاه (ULSO).

◀ إذا كانت بداية القراءة تُطابق تسلسل المسبار بما لا يتجاوز اختلافاً واحداً، تتم محاذاة الطول الكامل للقراءة مقابل الأمبليكون المستهدف لهذا التسلسل.

◀ إذا كانت بداية القراءة تُطابق تسلسل المسبار بما لا يتجاوز ثلاثة اختلافات (حالات عدم التطابق أو التحولات نتيجة الإنديل الأساسي)، تتم محاذاة الطول الكامل للقراءة مقابل الأمبليكون المستهدف لهذا التسلسل.

◀ لا تتم ملاحظة الإنديل الموجود في نطاق DLSO وULSO بسبب كيمياء الفحص.

تتم تصفية عمليات المحاذاة من نتائج المحاذاة بناءً على معدلات عدم التطابق على منطقة الاهتمام أو الأمبليكون بالكامل، وفقاً لطول الأمبليكون. وتُكتب عمليات المحاذاة التي تمت تصفيتها في ملفات المحاذاة بوصفها "غير محاذاة" كما أنها ليست مستخدمة في استدعاء المتغير.

## استدعاء المتغير

صُمم تطبيق أداة استدعاء المتغير Pisces لإجراء استدعاءات لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة ومتغيرات الإنديل من المكتبات المُعدة للجهاز.

## التقارير وملفات الإخراج الإضافية

تُنشئ وحدة تحليل المتغير تقارير بتنسيق PDF وتقارير بتنسيق محدد بعلامات جدولة (\*.txt) تعرض المقاييس مثل عمق التسلسل وعدد المتغيرات. كما تُنتج الوحدات ملفات الإخراج مثل ملفات بتنسيق VCF وتنسيق استدعاء المتغير الجينومي (gVCF) لتطبيقات استدعاء المتغير.

## إجراءات التحكم في الجودة

يُقيم برنامج NextSeq 550Dx جميع عمليات التشغيل، والعينات، وحالات الاستدعاء الأساسي مقابل مقاييس التحكم في الجودة. ويُوصى بعناصر التحكم الإيجابية والسلبية في إعداد المكتبة كما يلزم تقييمها. قم بتقييم عناصر التحكم كما يلي:

- **عناصر التحكم السلبية (عناصر التحكم دون قالب) أو عناصر التحكم السلبية الأخرى**— يجب أن تُنشئ النتيجة المتوقعة. إذا قامت عناصر التحكم السلبية بإنشاء نتيجة مختلفة عما هو متوقع، فإن ذلك يعني وقوع خطأ محتمل في تتبع العينة، أو التسجيل غير الصحيح لمُسرعات الفهرسة أو التلوث.
- **عينة عناصر التحكم الإيجابية**— يجب أن تُنشئ النتيجة المتوقعة. إذا قامت عناصر التحكم الإيجابية بإنشاء نتيجة مختلفة عما هو متوقع، فإن ذلك يعني وقوع خطأ محتمل في تتبع العينة، أو التسجيل غير الصحيح لمُسرعات الفهرسة.

## خصائص الأداء

وُضعت خصائص الأداء لجهاز NextSeq 550Dx باستخدام وحدات متغير الخط الجسدي والمتغير الجسدي من مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) وتم تأكيدها باستخدام مجموعة كاشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). وتضمنت الدراسات فهرسة العينة، وترحيل العينة، ومدخلات الحمض النووي، والحساسية التحليلية (حدّ الفراغ/حدّ الكشف)، والدقة، والضبط، ومقارنة الطرق وقابلية الاستنساخ.



صُممت الدراسات التحليلية باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) لتقييم مطالبات الأداء التي نشأت سابقاً باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة). كما تُوضَّح النتائج أن لمجموعات الكواشف (إصدار 2 وإصدار 2.5) أداءً قابلاً للمقارنة باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. راجع النشرة الداخلية لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx للاطلاع على خصائص الأداء ذات الصلة بالعوامل قبل التحليلية مثل طرق الاستخلاص أو المواد المتداخلة.

## التعريفات الخاصة بالحسابات المستخدمة في خصائص الأداء

- 1 يتم حساب توافق النسبة الإيجابية (PPA) على أساس نسبة المواقع الكروموسومية المُصنَّفة كمتغيرات من خلال إحدى الطرق المرجعية التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة.
  - ◀ (عدد المواقع الكروموسومية للمتغير التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة) / (إجمالي عدد المواقع الكروموسومية للمتغير)
  - يُطلق على المواقع الكروموسومية للمتغير التي يُبلغ عنها الفحص والمتوافقة مع الطريقة المرجعية اسم الإيجابيات الحقيقية (TPs). بينما يُطلق على المواقع الكروموسومية للمتغير التي يُبلغ عنها الفحص بوصفها استدعاءات مرجعية أو استدعاءات متغير مختلفة اسم السلبيات الكاذبة (FNs).
- 2 يتم حساب توافق النسبة السلبية (NPA) على أساس نسبة المواقع الكروموسومية المُصنَّفة كنوع بري من خلال إحدى الطرق المرجعية التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة.
  - ◀ (عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة) / (إجمالي عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري)
  - يُطلق على المواقع الكروموسومية من النوع البري التي يُبلغ عنها الفحص والمتوافقة مع الطريقة المرجعية اسم السلبيات الحقيقية (TNS). بينما يُطلق على المواقع الكروموسومية من النوع البري التي يُبلغ عنها الفحص كمتغيرات اسم الإيجابيات الكاذبة (FPS).
- 3 يتم حساب توافق النسبة الإجمالية (OPA) على أساس نسبة المواقع الكروموسومية التي يُبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة بالقياس إلى الطريقة المرجعية.
  - ◀ ((عدد المواقع الكروموسومية للمتغير التي أبلغ عنها الفحص بصورة صحيحة) + (عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري التي أوردتها الفحص بصورة صحيحة)) / ((إجمالي عدد المواقع الكروموسومية للمتغير) + (إجمالي عدد المواقع الكروموسومية من النوع البري))
- 4 لا تتضمن حسابات توافق النسبة الإيجابية (PPA)، وتوافق النسبة السلبية (NPA) وتوافق النسبة الإجمالية (OPA) حالات عدم الاستدعاء (المواقع الكروموسومية المرجعية أو الخاصة بالمتغير التي لا تلي واحدًا أو أكثر من مرشحات الجودة)
- 5 يتم حساب معدل الاستدعاء الكروموسومي الجسدي على أساس إجمالي عدد المواقع الكروموسومية التي تمر من الفلتر مقسومة على إجمالي عدد المواقع التي أُجري تسلسلها للكروموسومات من 1 إلى 22؛ وتُستثنى الكروموسومات X و Y. لا ينظر هذا المقياس إلى توافق الاستدعاءات مع الطريقة المرجعية.

## أداء مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة)

### فهرسة العينة

تُعيّن مَشْرعات المؤشر الخاصة بالعينة، المُضافة أثناء إعداد المكتبة، تسلسلاً فريداً لكل حمض نووي خاص بالعينة. تسمح تلك التسلسلات الفريدة بجمع عينات عديدة معاً داخل عملية واحدة من عمليات تشغيل التسلسل. وتُستخدم فهرسة العينة لكل من عمليات سير الخط الجنسي والجسدي. وكان الغرض من هذه الدراسة إنشاء الحد الأدنى (8) والحد الأقصى (96) من عدد العينات التي يُمكن معالجتها في عملية تشغيل تسلسل واحدة باستخدام جهاز NextSeq 550Dx. وخضعت ثماني عينات فريدة من الجينوم البلاتيني للاختبار مع 12 مزيجاً مختلفاً من مَشْرع الفهرسة لكل عينة. تمت مقارنة نتائج العينة من أربع عمليات من عمليات تشغيل التسلسل باستخدام وحدة متغير الخط الجنسي بالجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016.

وبالنسبة للمجموعة الأولى من عمليات التشغيل، فقد خضعت 96 مكتبة من مكتبات العينات الفريدة المفهرسة للاختبار باستخدام فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات التي تغطي 12,588 قاعدة لكل شريط عبر جميع الكروموسومات البشرية التي يبلغ عددها 23 للتحقق من قدرة الفحص على إجراء استدعاء النمط الجيني بصورة متسقة لعينة محددة عبر مجموعات مَشْرع الفهرسة المختلفة. وبالنسبة للمجموعة الثانية من عمليات التشغيل، تم تسلسل ثماني مكتبات عينات مفهرسة بشكل فريد في عمليتي تشغيل من عمليات تشغيل التسلسل للتحقق من الحد الأدنى لعدد المؤشرات المدعومة.

أما بالنسبة لعمليات التشغيل ذات المؤشر 96، كان توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة يتراوح من 98.7% إلى 100%، وكان توافق النسبة الإيجابية (PPA) للإدخالات والحدوفات يبلغ 100% بينما كان توافق النسبة السلبية (NPA) يبلغ 100% لكل مجموعة من المجموعات ذات المؤشر 96. وكانت قيم توافق النسبة الإيجابية (PPA) لدى عمليات التشغيل ذات الفهرس 8 تبلغ 100% (متغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحدوفات) وكان توافق النسبة السلبية (NPA) لكل مجموعة من المجموعات الثماني ذات الفهرس ثمانية يبلغ 100%.

### ترحيل العينة

يسمح جهاز NextSeq 550Dx بإجراء التسلسل للعديد من العينات بالإضافة إلى عناصر التحكم في عملية تشغيل تسلسل واحدة. كما أُجريت دراسة لتقييم مدى ترحيل العينة داخل عملية تشغيل التسلسل (داخل عملية التشغيل) وبين عمليات تشغيل التسلسل (بين عملية تشغيل وأخرى). كما جرى اختبار اثنين من عينات الجينوم البلاتيني، إحداها عينة ذكورية والأخرى عينة أنثوية، داخل الفحص التمثيلي المُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تغطي 12,588 قاعدة (150 أمبليون) عبر 23 كروموسوماً مختلفاً، بما في ذلك كلٌّ من الستة كروموسومات الجنسية. كما أُجريت عملية التسلسل للمكتبات على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام وحدة متغير الخط الجنسي. ولوحظ ترحيل العينات الذكورية إلى العينات الأنثوية من خلال تواجد قراءات أمبليون الكروموسوم Y في العينات الأنثوية.

قد تظهر عملية الترحيل داخل عملية التشغيل أثناء إنشاء العقود، والاستدعاء الأساسي لدورة المؤشر وتوزيع البيانات الخاص بالعينة. وفيما يتعلق باختبار ترحيل العينة داخل عملية تشغيل التسلسل، أُجريت عملية التسلسل لمجموعة المكتبة التي تتكوّن من 46 نسخة، وكل منها تشمل عينات ذكورية وأنثوية بالإضافة إلى أربعة

من عناصر التحكم دون قالب، مرة واحدة على جهاز NextSeq 550Dx. وأجري تقييم لترحيل العينة داخل عملية التشغيل من خلال مقارنة تغطية الأمبليكون الخاص بالكروموسوم Y لكل نسخة أنثوية بتغطية الأمبليكون المتوسطة للكروموسوم Y في جميع النسخ الذكورية في المجمع. وكانت القيمة المتوسطة الملاحظة لترحيل داخل عملية التشغيل هي 0.084%.

لإجراء الاختبار الخاص بترحيل العينة من عملية تشغيل إلى أخرى، تم تجهيز اثنين من مجمعات المكتبة وإجراء التسلسل لها على التوالي على أحد أجهزة NextSeq 550Dx. وقد تضمن المجمع الأول 46 نسخة من العينة الأنثوية بالإضافة إلى اثنين من عناصر التحكم دون قالب. وتضمن المجمع الثاني 46 نسخة من العينة الذكورية بالإضافة إلى اثنين من عناصر التحكم دون قالب. واستخدم كلا المجمعين المجموعة نفسها من محولات المؤشر. وأجري التسلسل للمجمع الأنثوي أولاً، متبوعاً بعملية تشغيل تسلسل لاحقة للمجمع الذكوري، ثم عملية تشغيل تسلسل أخرى متكررة للمجمع الأنثوي. كما أُجري التقييم لترحيل العينة من عملية تشغيل إلى أخرى من خلال مقارنة تغطية الأمبليكون للكروموسوم Y بين النسخ المقابلة لكل من عملية التشغيل المتكررة للمجمع الأنثوي وعملية تشغيل المجمع الذكوري. وكانت القيمة المتوسطة الملاحظة لترحيل من عملية تشغيل إلى أخرى هي 0.0076%.

## إدخال الحمض النووي

### عينة الدم (الخط الجنسي)

تم إنشاء نطاق إدخال الحمض النووي الخاص بعينة الدم لإعداد مكتبة مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx باستخدام سير عمل وحدة متغير الخط الجنسي لجهاز NextSeq 550Dx. كما خضع هذا النطاق للتقييم من خلال إجراء دراسة تخفيف تسلسلي باستخدام 13 عينة من الجينوم البلاتيني إلى جانب فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تُغطي 12,588 قاعدة عبر 23 كروموسوماً مختلفاً. وأجري تسلسل المكتبة على اثنين من أجهزة NextSeq 550Dx باستخدام دفعة واحدة من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة).

هذا وقد خضعت خمس عينات للاختبار بنسختين عند خمسة مستويات إدخال للحمض النووي تتراوح من 250 نانوجرام إلى 12 نانوجرام (250 نانوجرام، و100 نانوجرام، و50 نانوجرام، و25 نانوجرام و12 نانوجرام). كما خضعت ثماني عينات للاختبار بنسخة واحدة عند كل مستوى من مستويات إدخال الحمض النووي الخمسة. ومن أجل تحديد الدقة، خضعت الأنماط الجينية الخاصة بالعينة للمقارنة بالجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016. كما تم تحديد النتائج لكل مستوى إدخال. ستجد توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل نوع متغير (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات) معروضاً في الجدول 1؛ وستجد توافق النسبة السلبية (NPA) معروضاً في الجدول 2. كما إن جميع مستويات الإدخال تتمتع بمستوى الدقة نفسه. يُعد إدخال الحمض النووي الموصى به لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx هو 50 نانوجرام إلى جانب 25 نانوجرام و100 نانوجرام ما يوقر الحد الأدنى والأقصى لتلبية خصائص الأداء.

الجدول: 1 نتائج توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي حسب نوع المتغير

إدخال الحمض النووي (نانوجرام)	نوع المتغير	المتغيرات المتوقعة	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (%)
12	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	2412	2381	31	0	98.7
25			2404	8	0	99.7
50			2403	9	0	99.6
100			2412	0	0	100
250			2412	0	0	100
12	الإدخال	808	784	3	21	99.6
25			781	5	22	99.4
50			786	2	20	99.8
100			786	0	22	100
250			786	0	22	100
12	الحذوفات	758	732	12	14	98.4
25			737	7	14	99.1
50			742	2	14	99.7
100			744	0	14	100
250			744	0	14	100

الجدول: 2 توافق النسبة السلبية (NPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي

إدخال الحمض النووي (نانوجرام)	السلبات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	حالات عدم الاستدعاء المرجعية	توافق النسبة السلبية (%)
12	430940	4	26	99.9<
25	430936	0	34	100
50	430936	2	32	99.9<
100	430942	0	28	100
250	430942	0	28	100

العينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين (FFPE) (الجسدية)

تم إنشاء نطاق إدخال الحمض النووي الخاص بالعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين (FFPE) لإعداد مكتبة مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx باستخدام سير عمل وحدة المتغير الجسدي لجهاز NextSeq 550Dx. كما خضع نطاق إدخال الحمض النووي للتقييم من خلال إجراء دراسة تخفيف تسلسلي باستخدام ثلاث عينات من الجينوم البلاتيني إلى جانب فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تُغطي 12,588 قاعدة عبر 23 كروموسومًا مختلفًا. وقد تم تثبيت خطوط الخلية ذات الجينوم البلاتيني GM12877 و GM12878 بالفورمالين ودمجها في البارافين متبوعة باستخراج الحمض النووي. وتم تخفيف خط الخلية GM12878 باستخدام GM12877 بحيث أصبحت ترددات أليل المتغير (VAFs) لـ 81 متغيرًا (55 متغير نيوكليوتيد مفرد، و10 إدخالات و16 من الحذوفات) تقترب من 0.025، أو 0.05 أو 0.10. بالإضافة إلى ذلك، كان لكل عينة 91 متغيرًا مع تكرارات متغير أعلى تصل إلى تردد أليل متغير 1.0. كما تمت معالجة العينات من خلال نسختين عند مستويات إدخال الحمض النووي الخمسة مع متوسط الدورة الكمية لدلتا (dCq) يبلغ 2.1، و3.6، و4.6، و6.0 و7.8 وفق قياسات مجموعة التحكم في الجودة الخاصة بالعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين (FFPE) لـ TruSeq Custom Amplicon Dx. وقد أُجري تسلسل كل مكتبة على اثنين من أجهزة NextSeq 550Dx باستخدام دفعتين من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة). ولتحديد الدقة، خضعت استدعاءات المتغير الخاصة بالعينات للمقارنة بالجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016. إذ ستجد توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل نوع متغير (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات) معروضًا في الجدول: 3؛ وستجد توافق النسبة السلبية (NPA) معروضًا في الجدول: 4. يُعد إدخال الحمض النووي الموصى به للمتغيرات عند تردد أليل المتغير (VAF) (0.05) أو أعلى هو متوسط الدورة الكمية لدلتا (dCq) ≤ 4 إلى جانب 4.6 ما يوقر حدًا أدنى لتلبية خصائص الأداء.

الجدول: 3 نتائج توافق النسبة الإيجابية (PPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي حسب نوع المتغير

متوسط الدورة الكمية لدلتا (dCq)	نوع المتغير	المتغيرات المتوقعة	حالات عدم الاستدعاء المتوقعة	تردد أليل المتغير للتخفيف المستهدف					
				0.10		0.05		0.025	
				توافق النسبة الإيجابية (%)	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (%)	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (%)	حالات عدم استدعاء المتغير
2.1	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	808	لا تنطبق.	100	0	100	0	100	196
3.6				100	0	100	4	99.3	250
4.6				100	5	99.2	51	94.6	251
6.0				100	100	91.4	213	65.3	257
7.8				100	100	90.7	185	69.3	254
2.1	الإدخال	264	8	100	8	100	8	96.5	66
3.6				100	8	100	8	97.0	62
4.6				100	8	100	21	96.3	48
6.0				95.8	24	98.2	47	80.4	40
7.8				100	31	96.2	56	87.0	57
2.1	الحذوفات	304	16	100	16	100	16	100	58
3.6				100	16	100	16	100	80
4.6				100	16	100	28	95.4	65
6.0				100	36	94.0	105	74.8	78
7.8				98.8	57	95.1	79	75.0	76

الجدول: 4 توافق النسبة السلبية (NPA) لكل إدخال خاص بالحمض النووي

تردد أليل المتغير للتخفيف المستهدف						النوع البري المتوقع	متوسط الدورة الكمية لدلتا (dCq)
0.10		0.05		0.025			
توافق النسبة السلبية (%)	حالات عدم الاستدعاء المرجعية	توافق النسبة السلبية (%)	حالات عدم الاستدعاء المرجعية	توافق النسبة السلبية (%)	حالات عدم الاستدعاء المرجعية		
100	324	100	260	100	344	93688	2.1
100	380	100	332	100	400		3.6
100	784	100	1336	100	1308		4.6
100	2996	99.9<	3296	99.9<	3900		6.0
99.9<	2448	99.9<	2880	99.9<	3020		7.8

## الحساسية التحليلية (حد الفراغ [LoB] وحد الكشف [LoD])

أجريت هذه الدراسة لتقييم حد الفراغ (LoB) وحد الكشف (LoD) الخاص بوحدة المتغير الجسدي على جهاز NextSeq 550Dx. وقد أُجري ذلك باستخدام فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن الجينات المتنوعة التي تُغطي 12,588 قاعدة عبر 23 كروموسومًا مختلفًا. وقد تم تثبيت خطوط الخلية ذات الجينوم البلاتيني GM12877 و GM12878 بالفورمالين ودمجها في البارافين متبوعة باستخراج الحمض النووي. تم تخفيف خط الخلية GM12878 باستخدام GM12877 بحيث أصبحت ترددات المتغير لـ 74 متغيرًا (53 متغير نيوكليوتيد مفرد، و 7 إدخالات و 14 من الحذوفات)  $0.02 \pm 0.05$ . وخضعت كل من GM12877 و GM12878 المُخففتين (GM12878-D) للاختبار على مدار ستة أيام تشغيل متتالية باستخدام جهاز واحد، مع التبديل بين اثنين من دفعات مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة)، لإجمالي ست من عمليات تشغيل التسلسل. ونتج عن هذا الاختبار 60 مستنسًا لكل متغير في GM12878-D و 72 مستنسًا لكل نظير مقابل من النوع البري في GM12877، وذلك لكل دفعة من الكواشف. تم حساب حد الفراغ (LoB) وحد الكشف (LoD) باستخدام النهج الكلاسيكي المُوضَّح في إرشادات EP17-A2 لمعهد المعايير السريرية والمخبرية (CLSI) باستخدام الخيار غير المُعلمي. كما تم حساب حد الفراغ (LoB) وحد الكشف (LoD) لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخال والحذوفات بصورة منفصلة من خلال تجميع تكرارات المتغير لنوع متغير مُحدد. تم تحديد الخطأ من النوع الأول كـ 0.01، وتم تحديد الخطأ من النوع الثاني كـ 0.05.

وبالنسبة لحد الفراغ (LoB)، تم فرز تكرارات المتغير المُجمعة من الأدنى إلى الأعلى، وتم حساب موقع المرتبة الـ 99 لكل دفعة كاشف لكل نوع متغير (الجدول: 5). تستخدم وحدة المتغير الجسدي حدًا ثابتًا (حد الفراغ الفعال) لتردد أليل المتغير (0.026 VAF) لتحديد الكشف النوعي للمتغيرات. ساعد حد الفراغ (LoB) المحسوب في التحقق من أن هذا الحد الثابت نتج عنه خطأ من النوع الأول لما لا يزيد عن 0.01.

الجدول: 5 حد الفراغ

نوع المتغير	إجمالي الملاحظات	دفعة كشف حد الفراغ (1) (LoB) (%)	دفعة كشف حد الفراغ (2) (LoB) (%)
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	3816	0.77	0.77
الإدخال	504	0.56	0.56
الحذوفات	1008	1.20	1.20

بالنسبة لحد الكشف (LoD)، تم حساب النسبة المئوية لتكرار الطفرة الفردية لكل دفعة كاشف، وذلك لكل نوع متغير يقع أدنى الحد الثابت البالغ 0.026 (الجدول: 6). نظراً لأن النسب المئوية كانت أقل من الخطأ ذي النوع الثاني بنسبة 5% (0.05)، تم حساب متوسط تكرارات المتغير المدمجة بوصفه حد الكشف (الجدول: 6). وتم اعتبار حد الكشف لكل نوع متغير هو القيمة الكبرى من بين القيمتين المحسوبيتين لدفعتي الكواشف – بنسبة 4.97% لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة، و5.12% للإدخالات و5.26% للحدوفات.

## الجدول: 6 حد الكشف

حد الكشف (%)	النسبة المئوية لقياسات تردد أليل المتغير (VAF) %2.6 >	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF) %2.6 >	إجمالي الملاحظات	نوع المتغير	دفعة الكاشف
4.94	1.7	53	3180	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	1
5.08	1.4	6	420	الإدخال	2
5.22	0.8	7	840	الحدوفات	
4.97	1.6	51	3180	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	2
5.12	1.2	5	420	الإدخال	
5.26	0.80	7	840	الحدوفات	

## الدقة

## الخط الجنسي

أجريت الدراسة التالية لتقييم دقة استدعاء المتغير لوحدة متغير الخط الجنسي على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة). وخضعت 13 عينة فريدة من الجينوم البلاتيني للاختبار باستخدام فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات التي تُغطي 12,588 قاعدة (150 أمبليكون) عبر 23 كروموسوماً مختلفاً. أُجريت تسع عمليات تشغيل إجمالاً باستخدام ثلاث أجهزة تسلسل، وثلاثة من دفعات الكواشف وثلاثة مُشغلين على مدار خمسة أيام. تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحدوفات من خلال مقارنة النتائج بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة للجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016. وتم تحديد المناطق الجينومية المؤكدة بناءً على هذه الطريقة المرجعية ما لم يُحد خلاف ذلك.

## الجدول: 7 ملخص توافق الخط الجنسي

المعايير	إجمالي الملاحظات <sup>1</sup>	النتائج حسب الملاحظة <sup>2</sup>	النتائج حسب عملية التشغيل <sup>3</sup>
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة	819	98.7	99.9<
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للإدخالات	819	95.0	98.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للحدوفات	819	100	100
توافق النسبة السلبية (NPA)	819	100	100
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	819	99.9<	99.9<

<sup>1</sup> تم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل (91) x عدد عمليات التشغيل (9) = 819.

<sup>2</sup> أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عمليات التشغيل التي يبلغ عددها 9.

<sup>3</sup> أقل قيمة عند تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصورة إجمالية.

يحتوي الجدول: 8 على بيانات الدراسة المُقَمَّمة مع توافق النسبة الإيجابية والسلبية على أساس العينة الواحدة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016 لحسابات توافق النسبة الإيجابية (PPA). وتُدمج أنواع المتغير الثلاثة (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحدوفات) ونظراً لأن الطريقة المرجعية لا تُقَمَّ النتائج سوى لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة والإدخالات/الحدوفات، تخضع نتائج القاعدة التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة بينية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19، وذلك لحسابات توافق النسبة السلبية (NPA).

الجدول: 8 توافق الخط الجنسي لكل عينة

العينة	متوسط معدل الاستدعاء	المتغيرات المتوقعة <sup>1</sup>	الإيجابيات الحقيقية	السلبات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	السلبات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
NA12877	99.9<	4788	4788	0	0	756762	0	100	100	100
NA12878	99.9<	8505	8379	1	125	751464	0	99.9<	100	99.9<
NA12879	99.9<	6048	5985	5	58	757701	0	99.9	100	99.9<
NA12880	99.9<	6993	6930	0	63	757638	0	100	100	100
NA12881	99.9<	7875	7811	3	61	751653	0	99.9<	100	99.9<
NA12882	99.9<	6300	6174	3	123	754803	0	99.9<	100	99.9<
NA12883	99.9<	7119	7056	0	63	751905	0	100	100	100
NA12884	99.9<	7182	7119	6	57	754146	0	99.9	100	99.9<
NA12885	99.9<	7686	7560	2	124	754173	0	99.9<	100	99.9<
NA12886	99.9<	7245	7182	7	56	752469	0	99.9	100	99.9<
NA12887	99.9<	7119	7119	0	0	750645	0	100	100	100
NA12888	99.9<	6804	6804	0	0	756065	0	100	100	100
NA12893	99.9<	7434	7371	1	62	750015	0	99.9<	100	99.9<

<sup>1</sup> إجمالي عدد المتغيرات في جميع نسخ العينة عبر 9 عمليات تشغيل.

يحتوي **الجدول: 9** على بيانات الدراسة المُقَمَّمة على أساس كل عينة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة. تم تقييم الكشف لكل نوع متغير – متغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات – بشكل منفصل. وتُستثنى المواقع المرجعية.

الجدول: 9 توافق الخط الجنسي لكل عينة حسب نوع المتغير

<عينة	متغيرات النيوكليوتيدات المفردة			الإدخالات			الحذوفات		
	<المتوقع	<الإيجابيات الحقيقية	<السلبات الكاذبة	<المتوقع	<الإيجابيات الحقيقية	<السلبات الكاذبة	<المتوقع	<الإيجابيات الحقيقية	<السلبات الكاذبة
NA12877	2331	2331	0	1323	1323	0	1134	1134	0
NA12878	5733	5733	0	1197	1260	1	1449	1512	0
NA12879	3591	3591	0	1260	1323	5	1134	1134	0
NA12880	4221	4221	0	1512	1512	0	1197	1260	0
NA12881	4913	4914	1	1449	1512	2	1449	1449	0
NA12882	3717	3717	0	1323	1386	3	1134	1197	0
NA12883	4284	4284	0	1449	1449	0	1323	1386	0
NA12884	4284	4284	0	1512	1575	6	1323	1323	0
NA12885	4725	4725	0	1512	1575	2	1323	1386	0
NA12886	4347	4347	0	1386	1449	7	1449	1449	0
NA12887	4284	4284	0	1323	1323	0	1512	1512	0
NA12888	4158	4158	0	1449	1449	0	1197	1197	0
NA12893	4599	4599	0	1323	1386	1	1449	1449	0

خضعت العينات للتحليل أيضاً لاستدعاء الإدخالات والحذوفات الصغيرة (الإنديل). يرد ملخص إجمالي في **الجدول: 10**. وكان هناك إجمالي 71 إنديلاً يتراوح حجمها من زوج قاعدي واحد حتى 24 زوجاً قاعدياً للإدخالات ومن زوج قاعدي واحد حتى 25 زوجاً قاعدياً للحذوفات.

## الجدول: 10 ملخص كشف إنديل الخط الجنسي

نوع المتغير	المتغيرات المتوقعة	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (PPA)
الإدخال	18522	18018	27	477	99.9
الحدوفات	17388	17073	0	315	100

كان الفحص التمثيلي يشمل 150 أمبليكون ومُخصصًا لتغطية المحتوى الجينومي المتنوع. وكان محتوى GC الخاص بالأمبليكون يتراوح من 0.19 إلى 0.87. وكان لدى الأمبليكونات كذلك مجموعة من تكرارات النيوكليوتيد المفردة (مثل، A المتعدد و T المتعدد)، وثنائي النيوكليوتيد، وثلاثي النيوكليوتيد. تم تجميع البيانات على أساس كل أمبليكون (الجدول: 11) لتحديد تأثير المحتوى الجينومي على نسبة الاستدعاءات الصحيحة. تتكون نسبة الاستدعاءات الصحيحة من استدعاءات المتغير والاستدعاءات المرجعية كما أنها أقل من 100% في حال كانت هنا إما استدعاءات غير صحيحة أو حالات عدم الاستدعاء.

الجدول: 11 الدقة على مستوى الأمبليكون للخط الجنسي

الأمبليكون	الكروموسوم	بداية الأمبليكون	نهاية الأمبليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأمبليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
1	1	36450499	36450591	93	93	الإنديل	0.22	76167	0	0	100
2	1	109465122	109465200	79	79	A المتعدد (5)، و C المتعدد (5)، والإنديل	0.38	64701	0	0	100
3	1	218353867	218353957	91	91	الإنديل	0.4	74529	0	0	100
4	1	223906657	223906748	92	92	الإنديل	0.49	75348	0	0	100
5	1	228526602	228526682	81	81	G المتعدد (5)	0.69	66339	0	0	100
6	1	236372039	236372108	70	70	T المتعدد (10)، والإنديل	0.39	57330	0	0	100
7	1	247812041	247812128	88	88	A المتعدد (5)، و CT(3)، و TAA(3)، والإنديل	0.27	72072	0	0	100
8	2	55862774	55862863	90	90	الإنديل	0.28	73710	0	0	100
9	2	87003930	87004009	80	80	الإنديل	0.38	65520	0	0	100
10	2	177016721	177016805	85	81	غير متوفر	0.65	66339	0	0	100
11	2	186625727	186625801	75	75	A المتعدد (8)	0.35	61425	0	0	100
12	2	190323504	190323591	88	88	T المتعدد (5)	0.42	72072	0	0	100
13	2	200796740	200796826	87	87	T المتعدد (5)، والإنديل	0.31	71253	0	0	100
14	2	212245049	212245139	91	91	T المتعدد (5)، و A المتعدد (6)، والإنديل	0.3	74529	0	0	100
15	2	228147052	228147144	93	93	الإنديل	0.43	76167	0	0	100
16	2	235016350	235016422	73	73	T المتعدد (5)، والإنديل	0.42	59787	0	0	100
17	3	4466229	4466321	93	93	AT(3)، والإنديل	0.27	74823	0	1344	98.2
18	3	46620561	46620643	83	83	غير متوفر	0.43	67977	0	0	100
19	3	49851331	49851400	70	70	CT(3)، والإنديل	0.49	57330	0	0	100
20	3	189713161	189713248	88	88	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (9)، و TG(3)	0.41	72072	0	0	100
21	3	190106030	190106104	75	74	الإنديل	0.57	60543	0	63	99.9
22	4	2233667	2233744	78	78	A المتعدد (6)	0.26	63882	0	0	100



نسبة الاستعدادات الصحيحة	حالات عدم الاستعداد	الاستعدادات غير الصحيحة	الاستعدادات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المُحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسوم	الأمبليكون
100	0	0	79443	0.42	G المتعدد (6)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (5)	97	97	7780637	7780541	4	23
100	0	0	63882	0.29	غير متوفر	78	78	15688681	15688604	4	24
100	0	0	50778	0.36	A المتعدد (5)، والإنديل	62	66	56236586	56236521	4	25
100	0	0	56511	0.46	A المتعدد (5)	69	71	102839314	102839244	4	26
100	0	0	50778	0.27	A المتعدد (7)، والإنديل	62	62	164446804	164446743	4	27
100	0	0	61425	0.78	غير متوفر	75	78	1882158	1882081	5	28
100	0	0	68796	0.62	CCA(3)، و GT(3)	84	84	14769144	14769061	5	29
100	0	0	52416	0.39	غير متوفر	64	64	41069871	41069808	5	30
100	0	0	67977	0.3	A المتعدد (6)، والإنديل	83	83	74077196	74077114	5	31
100	0	0	54873	0.37	T المتعدد (5)	67	67	147475409	147475343	5	32
100	0	0	74529	0.55	AG(3)، و CT(4)	91	91	149323821	149323731	5	33
100	0	0	61425	0.43	الإنديل	75	75	155662287	155662213	5	34
100	0	0	83538	0.68	G المتعدد (6)	102	102	6318814	6318713	6	35
100	0	0	75348	0.63	الإنديل	92	92	24950074	24949983	6	36
99.5	378	0	76608	0.61	GCT(5)، والإنديل	94	100	31084999	31084900	6	37
100	0	0	80262	0.55	T المتعدد (5)، و TCT(3)، و CTT(3)	98	98	32148084	32147987	6	38
100	0	0	77805	0.53	الإنديل	95	95	32986958	32986864	6	39
100	0	0	70434	0.7	C المتعدد (6)	86	86	33408583	33408498	6	40
100	0	0	76986	0.61	G المتعدد (5)، والإنديل	94	95	41647495	41647401	6	41
100	0	0	74529	0.44	A المتعدد (5)	91	91	112435955	112435865	6	42
100	0	0	59787	0.44	غير متوفر	73	73	22202148	22202076	7	43
100	0	0	72072	0.35	الإنديل	88	88	66276187	66276100	7	44
100	0	0	71253	0.26	A المتعدد (7)، و AG(4)	87	87	77365821	77365735	7	45
100	0	0	69615	0.38	الإنديل	85	85	110940030	110939946	7	46
100	0	0	73710	0.62	G المتعدد (5)، والإنديل	90	90	128533557	128533468	7	47
100	0	0	74529	0.71	G المتعدد (6)، و C المتعدد (6)، والإنديل	91	91	149503965	149503875	7	48

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المُحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسوم	الأمبليكون
100	0	0	54054	0.31	غير متوفر	66	81	154404599	154404519	7	49
100	0	0	76167	0.35	الإنديل	93	93	156476599	156476507	7	50
100	0	0	67977	0.42	غير متوفر	83	83	1817394	1817312	8	51
99.0	720	0	72171	0.61	G المتعدد (7)، و(4)CTC، والإنديل	89	90	24811109	24811020	8	52
100	0	0	54873	0.3	الإنديل	67	67	76518691	76518625	8	53
100	0	0	80262	0.67	G المتعدد (6)	98	98	103055006	103054909	9	54
100	0	0	53235	0.32	الإنديل	65	65	105586214	105586150	9	55
100	0	0	78624	0.49	غير متوفر	96	96	107620918	107620823	9	56
100	0	0	67977	0.37	AT(3)	83	83	123769231	123769149	9	57
100	0	0	79443	0.68	C المتعدد (6)، والإنديل	97	97	138995441	138995345	9	58
100	0	0	63882	0.47	G المتعدد (5)، والإنديل	78	79	5987198	5987120	10	59
100	0	0	74529	0.87	GC(3)	91	98	11784726	11784629	10	60
100	0	0	64701	0.3	T المتعدد (5)	79	79	27317855	27317777	10	61
100	0	0	73710	0.2	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)	90	90	33018440	33018351	10	62
100	0	0	77805	0.35	الإنديل	95	95	45084253	45084159	10	63
99.5	325	0	71747	0.42	AC(11)، والإنديل	88	89	55892687	55892599	10	64
100	0	0	65520	0.49	غير متوفر	80	80	101611329	101611250	10	65
100	0	0	66339	0.51	غير متوفر	81	81	118351453	118351373	10	66
100	0	0	78624	0.45	غير متوفر	96	97	8159912	8159816	11	67
100	0	0	57330	0.46	الإنديل	70	70	30177717	30177648	11	68
100	0	0	81900	0.65	غير متوفر	100	100	47470444	47470345	11	69
100	0	0	50778	0.37	الإنديل	62	62	59837740	59837679	11	70
100	0	0	83538	0.59	غير متوفر	102	102	64418957	64418856	11	71
100	0	0	59787	0.4	A المتعدد (5)	73	73	93529684	93529612	11	72
100	0	0	69615	0.42	غير متوفر	85	85	101347136	101347052	11	73
100	0	0	74529	0.55	G المتعدد (6)	91	91	102477426	102477336	11	74
100	0	0	69615	0.53	الإنديل	85	85	118406369	118406285	11	75

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المُحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسوم	الأمبليكون
100	0	0	69615	0.34	A المتعدد (5)، و(3)CA، والإنديل	85	85	120357885	120357801	11	76
100	0	0	69615	0.52	GA(3)	85	85	125769397	125769313	11	77
100	0	0	68796	0.52	C المتعدد (5)، والإنديل	84	84	2834853	2834770	12	78
100	0	0	76167	0.33	A المتعدد (7)، و(4)AC	93	93	26811096	26811004	12	79
100	0	0	66339	0.49	غير متوفر	81	81	30881846	30881766	12	80
100	0	0	58149	0.35	A المتعدد (6)	71	71	88474175	88474105	12	81
100	0	0	77805	0.68	G المتعدد (5)	95	95	120966966	120966872	12	82
100	0	0	59787	0.52	غير متوفر	73	73	24167576	24167504	13	83
100	0	0	72072	0.22	A المتعدد (5)، و(7)T، والإنديل A المتعدد (7)، والإنديل	88	89	25817049	25816961	13	84
100	0	0	72891	0.49	الإنديل	89	89	44880200	44880112	13	85
100	0	0	63063	0.39	الإنديل	77	77	77665294	77665218	13	86
100	0	0	54873	0.39	GA(3)، TA(3)	67	67	31619393	31619327	14	87
100	0	0	67977	0.25	غير متوفر	83	83	39517966	39517884	14	88
99.4	326	0	58642	0.19	T المتعدد (5)، والإنديل	72	73	46959034	46958962	14	89
100	0	0	66339	0.38	الإنديل	81	81	58050110	58050030	14	90
100	0	0	74529	0.35	الإنديل	91	91	82390649	82390559	14	91
100	0	0	54054	0.41	A المتعدد (5)	66	66	92549609	92549544	14	92
100	0	0	76986	0.62	الإنديل	94	94	102808589	102808496	14	93
100	0	0	78624	0.45	C المتعدد (5)	96	98	43170848	43170751	15	94
100	0	0	55692	0.25	الإنديل	68	68	63446216	63446149	15	95
100	0	0	76167	0.68	G المتعدد (5)، والإنديل	93	95	77879901	77879807	15	96
100	0	0	77805	0.43	T المتعدد (6)	95	95	81625428	81625334	15	97
100	0	0	58149	0.65	الإنديل	71	72	85438334	85438263	15	98
100	0	0	74529	0.36	غير متوفر	91	91	89817503	89817413	15	99
100	0	0	57330	0.56	الإنديل	70	70	89864343	89864274	15	100
100	0	0	51597	0.27	غير متوفر	63	63	1894972	1894910	16	101

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المُحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسوم	الأمبليكون
100	0	0	77805	0.67	C المتعدد (5)	95	95	28997998	28997904	16	102
100	0	0	71253	0.41	TA(3)	87	87	53682994	53682908	16	103
100	0	0	85176	0.67	C المتعدد (5)	104	104	57954509	57954406	16	104
100	0	0	74529	0.37	T المتعدد (5)، والإنديل	91	91	85706465	85706375	16	105
100	0	0	72891	0.64	GC(3)	89	89	3564008	3563920	17	106
100	6	0	71247	0.67	C المتعدد (5)، والإنديل	87	87	3594277	3594191	17	107
100	0	0	74529	0.46	الإنديل	91	91	3970180	3970090	17	108
100	0	0	76167	0.26	الإنديل	93	93	16085037	16084945	17	109
100	0	0	72891	0.54	T المتعدد (5)	89	91	33998849	33998759	17	110
98.8	788	27	66343	0.29	A المتعدد (13)، والإنديل (x2)	82	84	39589774	39589691	17	111
100	0	0	74529	0.34	A المتعدد (5)	91	91	41244484	41244394	17	112
100	0	0	75348	0.26	A المتعدد (7)، وAT(3)، وAT(4)، وAT(4)، والإنديل	92	92	45438957	45438866	17	113
99.6	288	0	64413	0.41	الإنديل	79	79	61502510	61502432	17	114
100	0	0	70434	0.22	T المتعدد (7)	86	86	64023667	64023582	17	115
100	0	0	68796	0.62	GAG(3)	84	84	72308320	72308237	17	116
100	0	0	54873	0.31	GA(3)	67	67	2616522	2616456	18	117
100	0	0	74529	0.37	غير متوفر	91	91	6980568	6980478	18	118
100	0	0	56511	0.43	A المتعدد (6)، وTG(3)	69	69	9888094	9888026	18	119
100	0	0	61425	0.37	A المتعدد (5)، والإنديل	75	75	38837073	38836999	18	120
100	0	0	66339	0.47	CTC(3)، والإنديل	81	81	47405462	47405382	18	121
100	0	0	69615	0.45	CT(3)، والإنديل	85	85	54815749	54815665	18	122
100	0	0	53235	0.48	غير متوفر	65	65	59774060	59773996	18	123
100	0	0	81081	0.59	غير متوفر	99	99	625241	625143	19	124
100	0	1	60605	0.68	غير متوفر	74	74	18121491	18121418	19	125
100	0	0	57330	0.64	غير متوفر	70	70	18186643	18186574	19	126
100	0	0	76986	0.61	غير متوفر	94	94	746149	746056	20	127

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المُحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسوم	الأمبليكون
100	0	0	67158	0.59	AC(3)	82	82	10633276	10633195	20	128
100	0	0	62244	0.58	CT(3)	76	76	17705708	17705633	20	129
100	0	0	57330	0.46	GT(3)•TG(4) والاندیل	70	70	21766890	21766821	20	130
100	0	0	82719	0.63	الاندیل	101	101	25278521	25278421	20	131
100	0	0	54873	0.36	الاندیل	67	67	50897368	50897302	20	132
100	0	0	72072	0.73	G المتعدد (6)	88	91	62331994	62331904	20	133
100	0	0	71253	0.57	الاندیل	87	87	62690946	62690860	20	134
100	0	0	54054	0.35	الاندیل	66	66	30300888	30300823	21	135
100	0	0	80262	0.54	T المتعدد (6)، وCA(3)	98	98	33694273	33694176	21	136
100	0	0	71253	0.39	GT(3) والاندیل	87	87	36710792	36710706	21	137
99.9	72	0	56439	0.32	A المتعدد (6)، وAG(3) والاندیل	69	69	46644992	46644924	21	138
100	0	0	73710	0.5	T المتعدد (5)، وA المتعدد (6)	90	90	46705664	46705575	21	139
100	0	0	81900	0.63	الاندیل	100	100	25750873	25750774	22	140
100	0	0	79443	0.68	غير متوفر	97	97	32439329	32439233	22	141
100	0	0	79443	0.46	الاندیل	97	97	37409940	37409844	22	142
100	0	0	81081	0.6	غير متوفر	99	99	37637694	37637596	22	143
100	0	0	75348	0.66	الاندیل	92	92	47081438	47081347	22	144
100	0	0	56511	0.26	T المتعدد (5)	69	69	15870492	15870424	X	145
100	0	0	56511	0.62	C المتعدد (5)	69	69	135288611	135288543	X	146
100	0	0	58149	0.52	غير متوفر	71	71	135290847	135290777	X	147
غير متوفر	0	0	0	0.55	غير متوفر	0	65	2655461	2655397	Y	148
غير متوفر	0	0	0	0.48	غير متوفر	0	91	2655609	2655519	Y	149
غير متوفر	0	0	0	0.37	A المتعدد (5)	0	71	2655679	2655609	Y	150

خضعت نتائج التسلسل للعيونة NA12878 للمقارنة بالنمط الجيني المؤكد بدرجة كبيرة لـ NA12878، على النحو الذي حدده المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST) (الإصدار 2.19). وتم احتواء 92 أمبليون بالكامل، من أصل 150 أمبليون، داخل المناطق الجينومية المؤكدة بدرجة كبيرة، وكان يوجد تداخل جزئي في 41 أمبليون، ولم يكن هناك أي تداخل في 17 أمبليون في تسلسل المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST). وأدت هذه النتيجة إلى ظهور 10,000 من الإحداثيات لكل نسخة خضعت للمقارنة. خضعت الاستدعاءات الأساسية التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة ببنية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19. تظهر نتائج الدقة في الجدول: 12.

الجدول: 12 توافق الخط الجنسي لعيونة NA12878 داخل قاعدة بيانات المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST)

العيونة	عدد الأمبليكون	متوسط معدل الاستدعاء	الإيجابيات الحقيقية	السلبات الكاذبة	السلبات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
NA12878	133	<99.9%	6552	1	610470	0	<99.9%	100	<99.9%

- بناءً على البيانات التي قدمتها دراسة الخط الجنسي تلك ذات التسع عمليات تشغيل، يُمكن لجهاز NextSeq 550Dx إجراء التسلسل بصورة متسقة لما يلي:
- محتوى  $GC \geq 19\%$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 19% مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.6%)
  - محتوى  $GC \leq 87\%$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 87% مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
  - أطوال A المتعددة  $\geq 9$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار A المتعدد لتسعة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
  - أطوال T المتعددة  $\geq 10$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار T المتعدد لعشرة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
  - أطوال G المتعددة  $\geq 7$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها وتتضمن تكرار G المتعدد لسبعة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 1.0%)
  - أطوال C المتعددة  $\geq 6$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 2457 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار C المتعدد لستة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)
  - أطوال تكرار ثنائي النيوكليوتيد  $\geq 11$  ضعفاً (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها، وتتضمن 11 ضعفاً من تكرارات ثنائي النيوكليوتيد التي تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.5%)
  - أطوال تكرار ثلاثي النيوكليوتيد  $\geq 5$  أضعاف (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 819 أمبليون أجري التسلسل لها، وتتضمن 5 أضعاف من تكرار ثلاثي النيوكليوتيد والذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.5%)
  - أطوال الإدخالات  $\geq 24$  (بلغت القواعد التي تم استدعاؤها 66343 من إجمالي 66370 في 819 أمبليون أجري تسلسله ويتضمن إدخالاً لـ 24 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 1.2%؛ ولم تحدث أي استدعاءات غير صحيحة في المنطقة التي تتضمن إدخالاً لـ 24 نيوكليوتيد)
  - أطوال حذوفات  $\geq 25$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 2457 أمبليون أجري التسلسل لها وتتضمن حذوفات لـ 25 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع عدم وجود أي حالات عدم استدعاء)

#### المتغير الجسدي

استُخدمت الدراسة المُوضَّحة هنا لتقييم دقة استدعاء المتغير الخاصة بوحدة المتغير الجسدي على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة).  
 واستخدمت هذه الدراسة فحصاً تمثيلاً مُصمماً للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات التي تُغطي 12,588 قاعدة (150 أمبليون) عبر 23 كروموسوماً مختلفاً. تم استخلاص الحمض النووي للجينوم البلاتيني من الكتل المُعالجة بالبازيفين والمثبته بالفورمالين FFPE لإنشاء ست عينات فريدة للتقييم في الدراسة.  
 تم تخفيف الحمض النووي للعيونة GM12877 بالحمض النووي للعيونة GM12878 لإنشاء GM12877-D5 و GM12877-D7 كمجموعة من المتغيرات الفريدة متغايرة الزيجوت مع تكرارات المتغير بنسبة تقترب من 5% و 7%. كما تم تخفيف الحمض النووي للعيونة GM12878 بصورة مماثلة بالحمض النووي للعيونة GM12877 لإنشاء GM12878-D5 و GM12878-D7. خضعت جميع العينات للاختبار في ثلاث نسخ باستثناء العينات المخففة، والتي خضعت للاختبار في ست نسخ. أُجريت تسع عمليات تشغيل إجمالاً باستخدام ثلاث أجهزة تسلسل، وثلاثة من دفعات الكواشف وثلاثة مُشغليين على مدار خمسة أيام. تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذوفات من خلال مقارنة النتائج بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة للجينومات البلاتينية من الإصدار 2016-1.0. وتم تحديد المناطق الجينومية المؤكدة بناءً على هذه الطريقة المرجعية ما لم يُحدد خلاف ذلك.

## الجدول: 13 ملخص التوافق الجسدي

المعايير	إجمالي الملاحظات <sup>1</sup>	النتائج حسب الملاحظة <sup>2</sup>	النتائج حسب عملية التشغيل <sup>3</sup>
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة	378	98.9	99.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للإدخالات	378	96.9	99.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للحدوفات	378	97.1	99.9
توافق النسبة السلبية (NPA)	378	99.9<	99.9<
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	378	99.9<	99.9<

<sup>1</sup> تم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل (42) x عدد عمليات التشغيل (9) = 378.

<sup>2</sup> أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عمليات التشغيل التي يبلغ عددها 9.

<sup>3</sup> أقل قيمة عند تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصورة إجمالية.

يحتوي الجدول: 14 على بيانات الدراسة المُقَمَّمة مع توافق النسبة الإيجابية والسلبية على أساس العينة الواحدة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة لحسابات توافق النسبة الإيجابية (PPA). ويتم دمج أنواع المتغير الثلاثة (متغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحدوفات). ونظراً لأن الطريقة المرجعية لا تُقَمَّ النتائج سوى لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة والإدخالات/الحدوفات، تخضع نتائج القاعدة التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة ببنية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19، وذلك لحسابات توافق النسبة السلبية (NPA).

## الجدول: 14 التوافق الجسدي لكل عينة

العينة	متوسط معدل الاستدعاء	المتوقع	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	السلبيات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
GM12877	98.7	2052	2025	0	27	318682	15	100	99.9<	99.9<
GM12878	98.8	3645	3564	0	81	317645	0	100	100	100
GM12879	99.8	2592	2538	0	54	323614	2	100	99.9<	99.9<
GM12884	99.8	3078	3024	0	54	322038	5	100	99.9<	99.9<
GM12885	99.8	3294	3213	0	81	322121	0	100	100	100
GM12888	99.8	2916	2889	0	27	323048	2	100	99.9<	99.9<
GM12877-D5	99.8	9288	8930	0	358	630621	0	100	100	100
GM12877-D7	99.7	9288	9032	0	256	629719	0	100	100	100
GM12878-D5	99.5	9288	8699	42	547	628582	0	99.5	100	99.9<
GM12878-D7	99.7	9288	9108	0	180	629803	0	100	100	100

يحتوي **الجدول: 15** على بيانات الدراسة المُقدّمة على أساس كل عينة، حيث تتم مقارنة نتائج المتغير بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة. تم تقييم الكشف لكل نوع متغير – متغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحدوفات – بشكل منفصل. وتُستثنى المواقع المرجعية.

**الجدول: 15** التوافق الجسدي لكل عينة حسب نوع المتغير

العينة	متغيرات النيوكليوتيدات المفردة		الإدخالات	الحدوفات	الحدوفات	الحدوفات	الحدوفات	الحدوفات	الحدوفات
	المتوقع	المتوقع							
GM12877	999	999	567	567	486	459	0	0	0
GM12878	2457	2457	540	540	648	594	0	0	0
GM12879	1539	1539	567	567	486	459	0	0	0
GM12884	1836	1836	675	675	567	540	0	0	0
GM12885	2025	2025	675	675	594	540	0	0	0
GM12888	1782	1782	621	621	513	486	0	0	0
GM12877-D5	5454	5454	1782	1782	2052	1891	0	0	0
GM12877-D7	5454	5454	1782	1782	2052	1898	0	0	0
GM12878-D5	5454	5454	1782	1782	2052	1856	9	5	5
GM12878-D7	5454	5454	1782	1782	2052	1944	0	0	0

خضعت العينات العشر للتحليل أيضاً لاستدعاء الإدخالات والحدوفات الصغيرة (الإنديل) (**الجدول: 16**). وكان هناك إجمالي 71 إنديلاً يتراوح حجمه من 1 إلى 24 زوجاً قاعدياً للإدخالات ومن 1 إلى 25 زوجاً قاعدياً للحدوفات.

**الجدول: 16** ملخص كشف الإنديل الجسدي

نوع المتغير	المتغيرات المتوقعة	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	حالات عدم استدعاء المتغير	توافق النسبة الإيجابية (PPA)
الإدخال	10773	10282	9	482	99.2
الحدوفات	11502	10667	5	830	99.9<



صُمم 150 أمبليكون لتغطية المحتوى الجينومي المتنوع. وكان محتوى GC الخاص بالأمبليكون يتراوح من 0.19 إلى 87.0%. وكان لدى الأمبليكونات كذلك مجموعة من تكرارات النيوكليوتيد المفردة (على سبيل المثال، A المتعدد و T المتعدد)، وثنائي النيوكليوتيد، وثنائي النيوكليوتيد. تم تجميع البيانات على أساس كل أمبليكون (الجدول: 17) لتحديد تأثير المحتوى الجينومي على نسبة الاستدعاءات الصحيحة. إذ تتكون نسبة الاستدعاءات الصحيحة من استدعاءات المتغير والاستدعاءات المرجعية كما أنها أقل من نسبة 100% في حال كانت هناك استدعاءات غير صحيحة أو حالات عم الاستدعاء.

الجدول: 17 الدقة الجسدية على مستوى الأمبليكون

الأمبليكون	الكروموسومات	بداية الأمبليكون	نهاية الأمبليكون	حجم الجزء المُحلل	القواعد في المناطق المؤكدة	المحتوى الجينومي للأمبليكون	محتوى GC	الاستدعاءات الصحيحة	الاستدعاءات غير الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	نسبة الاستدعاءات الصحيحة
1	1	36450499	36450591	93	93	الإنديل	0.22	35066	0	88	99.7
2	1	109465122	109465200	79	79	A المتعدد (5)، و C المتعدد (5)، والإنديل	0.38	29827	0	35	99.9
3	1	218353867	218353957	91	91	الإنديل	0.4	34202	0	283	99.2
4	1	223906657	223906748	92	92	الإنديل	0.49	34613	0	163	99.5
5	1	228526602	228526682	81	81	G المتعدد (5)	0.69	30571	0	47	99.8
6	1	236372039	236372108	70	70	T المتعدد (10)، والإنديل	0.39	26452	0	8	100.0
7	1	247812041	247812128	88	88	A المتعدد (5)، و CT(3)، و TAA(3)، والإنديل	0.27	33148	0	116	99.7
8	2	55862774	55862863	90	90	الإنديل	0.28	33928	0	92	99.7
9	2	87003930	87004009	80	80	الإنديل	0.38	30218	0	22	99.9
10	2	177016721	177016805	85	81	غير متوفر	0.65	30616	0	2	99.9<
11	2	186625727	186625801	75	75	A المتعدد (8)	0.35	28017	0	499	98.3
12	2	190323504	190323591	88	88	T المتعدد (5)	0.42	33207	0	57	99.8
13	2	200796740	200796826	87	87	T المتعدد (5)، والإنديل	0.31	32524	9	718	97.8
14	2	212245049	212245139	91	91	T المتعدد (5)، و A المتعدد (6)، والإنديل	0.3	33972	0	456	98.7
15	2	228147052	228147144	93	93	غير متوفر	0.43	35051	0	103	99.7
16	2	235016350	235016422	73	73	T المتعدد (5)، والإنديل	0.42	27459	0	136	99.5
17	3	4466229	4466321	93	93	AT(3)، والإنديل	0.27	34534	0	620	98.2
18	3	46620561	46620643	83	83	غير متوفر	0.43	31339	0	44	99.9
19	3	49851331	49851400	70	70	CT(3)، والإنديل	0.49	26373	0	87	99.7
20	3	189713161	189713248	88	88	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (9)، و TG(3)	0.41	32829	0	857	97.5
21	3	190106030	190106104	75	74	الإنديل	0.57	27925	0	47	99.8
22	4	2233667	2233744	78	78	A المتعدد (6)	0.26	29327	4	162	99.4

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسومات	الأمبليكون
99.7	117	0	36585	0.42	G المتعدد (6)، و T المتعدد (5)، و A المتعدد (5)	97	97	7780637	7780541	4	23
99.8	57	0	29427	0.29	غير متوفر	78	78	15688681	15688604	4	24
99.7	75	5	23356	0.36	A المتعدد (5)، والإنديل	62	66	56236586	56236521	4	25
99.5	140	0	25942	0.46	A المتعدد (5)	69	71	102839314	102839244	4	26
97.6	560	0	22944	0.27	A المتعدد (7)، والإنديل	62	62	164446804	164446743	4	27
99.8	53	0	28299	0.78	غير متوفر	75	78	1882158	1882081	5	28
99.7	94	0	31658	0.62	GT(3) و CCA(3)	84	84	14769144	14769061	5	29
99.7	72	0	24120	0.39	غير متوفر	64	64	41069871	41069808	5	30
99.8	77	0	31297	0.3	A المتعدد (6)، والإنديل	83	83	74077196	74077114	5	31
99.8	55	0	25277	0.37	T المتعدد (5)	67	67	147475409	147475343	5	32
99.7	90	0	34308	0.55	AG(3) و CT(4)	91	91	149323821	149323731	5	33
99.4	163	0	28266	0.43	الإنديل	75	75	155662287	155662213	5	34
99.8	67	0	38489	0.68	G المتعدد (6)	102	102	6318814	6318713	6	35
99.9	46	0	34730	0.63	الإنديل	92	92	24950074	24949983	6	36
98.6	483	0	35057	0.61	GCT(5)، والإنديل	94	100	31084999	31084900	6	37
98.9	406	0	36647	0.55	T المتعدد(5)، و TCT(3)، و CTT(3)	98	98	32148084	32147987	6	38
99.3	238	0	35681	0.53	الإنديل	95	95	32986958	32986864	6	39
99.8	70	0	32438	0.7	C المتعدد (6)	86	86	33408583	33408498	6	40
99.7	91	0	35441	0.61	G المتعدد (5)، والإنديل	94	95	41647495	41647401	6	41
99.9	44	0	34354	0.44	A المتعدد (5)	91	91	112435955	112435865	6	42
99.9	28	0	27575	0.44	غير متوفر	73	73	22202148	22202076	7	43
99.4	213	0	33060	0.35	الإنديل	88	88	66276187	66276100	7	44
98.5	489	0	32423	0.26	A المتعدد (7)، و AG(4)	87	87	77365821	77365735	7	45
99.8	56	0	32074	0.38	الإنديل	85	85	110940030	110939946	7	46
99.2	281	0	33791	0.62	G المتعدد (5)، والإنديل	90	90	128533557	128533468	7	47
99.8	82	0	34316	0.71	G المتعدد (6)، و C المتعدد (6)، والإنديل	91	91	149503965	149503875	7	48

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسومات	الأمبليكون
99.8	47	0	24901	0.31	غير متوفر	66	81	154404599	154404519	7	49
99.8	87	0	35067	0.35	الإنديل	93	93	156476599	156476507	7	50
99.9<	9	0	31365	0.42	غير متوفر	83	83	1817394	1817312	8	51
97.4	890	0	32781	0.61	G المتعدد (7)، و(4)CTC، والإنديل	89	90	24811109	24811020	8	52
99.4	146	0	25228	0.3	الإنديل	67	67	76518691	76518625	8	53
99.8	76	0	36968	0.67	G المتعدد (6)	98	98	103055006	103054909	9	54
99.6	100	0	24472	0.32	الإنديل	65	65	105586214	105586150	9	55
99.8	85	0	36203	0.49	غير متوفر	96	96	107620918	107620823	9	56
99.9	45	0	31329	0.37	AT(3)	83	83	123769231	123769149	9	57
99.5	201	0	36472	0.68	C المتعدد (6)، والإنديل	97	97	138995441	138995345	9	58
99.9<	11	0	29473	0.47	G المتعدد (5)، والإنديل	78	79	5987198	5987120	10	59
99.4	213	0	34188	0.87	GC(3)	91	98	11784726	11784629	10	60
99.9	19	0	29843	0.3	T المتعدد (5)	79	79	27317855	27317777	10	61
99.8	68	0	33968	0.2	A المتعدد (5)، و T المتعدد (5)	90	90	33018440	33018351	10	62
99.8	81	0	35829	0.35	الإنديل	95	95	45084253	45084159	10	63
93.8	2048	88	32098	0.42	AC(11)، والإنديل	88	89	55892687	55892599	10	64
99.9	28	0	30217	0.49	غير متوفر	80	80	101611329	101611250	10	65
99.7	96	0	30531	0.51	غير متوفر	81	81	118351453	118351373	10	66
99.5	192	0	36105	0.45	غير متوفر	96	97	8159912	8159816	11	67
99.4	153	0	26318	0.46	الإنديل	70	70	30177717	30177648	11	68
99.9	24	0	37785	0.65	غير متوفر	100	100	47470444	47470345	11	69
99.7	68	0	23368	0.37	الإنديل	62	62	59837740	59837679	11	70
99.9<	10	0	38546	0.59	غير متوفر	102	102	64418957	64418856	11	71
99.7	78	0	27516	0.4	A المتعدد (5)	73	73	93529684	93529612	11	72
99.9	48	0	32083	0.42	غير متوفر	85	85	101347136	101347052	11	73
98.9	369	0	34047	0.55	G المتعدد (6)	91	91	102477426	102477336	11	74
99.8	74	0	32065	0.53	الإنديل	85	85	118406369	118406285	11	75

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسومات	الأمبليكون
99.9	47	0	32083	0.34	A المتعدد (5)، وCA(3)، والإنديل	85	85	120357885	120357801	11	76
99.9	27	0	32103	0.52	GA(3)	85	85	125769397	125769313	11	77
98.3	525	16	31645	0.52	C المتعدد (5)، والإنديل	84	84	2834853	2834770	12	78
99.1	330	0	34824	0.33	A المتعدد (7)، وAC(4)	93	93	26811096	26811004	12	79
99.6	121	0	30497	0.49	غير متوفر	81	81	30881846	30881766	12	80
99.8	65	0	26773	0.35	A المتعدد (6)	71	71	88474175	88474105	12	81
99.8	72	9	35830	0.68	G المتعدد (5)	95	95	120966966	120966872	12	82
99.6	114	0	27498	0.52	غير متوفر	73	73	24167576	24167504	13	83
98.3	566	0	32824	0.22	A المتعدد (5)، وT المتعدد (7)، وA المتعدد (7)، والإنديل	88	89	25817049	25816961	13	84
99.8	77	0	33574	0.49	الإنديل	89	89	44880200	44880112	13	85
99.9	31	0	29075	0.39	الإنديل	77	77	77665294	77665218	13	86
99.9	13	0	25313	0.39	GA(3)، TA(3)	67	67	31619393	31619327	14	87
99.9	22	0	31360	0.25	غير متوفر	83	83	39517966	39517884	14	88
97.4	717	0	26499	0.19	T المتعدد (5)، والإنديل	72	73	46959034	46958962	14	89
99.6	133	0	30494	0.38	الإنديل	81	81	58050110	58050030	14	90
99.7	86	0	34313	0.35	الإنديل	91	91	82390649	82390559	14	91
94.1	1527	0	24555	0.41	A المتعدد (5)	66	66	92549609	92549544	14	92
99.8	69	0	35472	0.62	الإنديل	94	94	102808589	102808496	14	93
99.9	24	0	36264	0.45	C المتعدد (5)	96	98	43170848	43170751	15	94
99.9	37	0	25667	0.25	الإنديل	68	68	63446216	63446149	15	95
98.8	432	0	34745	0.68	G المتعدد (5)، والإنديل	93	95	77879901	77879807	15	96
99.9	40	0	35870	0.43	T المتعدد (6)	95	95	81625428	81625334	15	97
99.7	76	0	26762	0.65	الإنديل	71	72	85438334	85438263	15	98
99.7	112	0	34286	0.36	غير متوفر	91	91	89817503	89817413	15	99
99.9<	11	0	26449	0.56	الإنديل	70	70	89864343	89864274	15	100
99.9<	5	0	23809	0.27	غير متوفر	63	63	1894972	1894910	16	101

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسومات	الأمبليكون
99.9	50	0	35860	0.67	C المتعدد (5)	95	95	28997998	28997904	16	102
99.8	60	0	32835	0.41	TA(3)	87	87	53682994	53682908	16	103
99.6	144	0	39177	0.67	C المتعدد (5)	104	104	57954509	57954406	16	104
99.1	323	0	34075	0.37	T المتعدد (5)، والإنديل	91	91	85706465	85706375	16	105
99.9<	11	0	33632	0.64	GC(3)	89	89	3564008	3563920	17	106
99.6	134	0	32752	0.67	C المتعدد (5)، والإنديل	87	87	3594277	3594191	17	107
99.8	82	0	34343	0.46	الإنديل	91	91	3970180	3970090	17	108
99.8	78	0	35077	0.26	الإنديل	93	93	16085037	16084945	17	109
99.7	89	0	33553	0.54	T المتعدد (5)	89	91	33998849	33998759	17	110
92.9	2296	53	30554	0.29	A المتعدد (13)، والإنديل (x2)	82	84	39589774	39589691	17	111
99.9	38	0	34360	0.34	A المتعدد (5)	91	91	41244484	41244394	17	112
98.8	418	0	34367	0.26	A المتعدد (7)، و(3)AT، و(4)AT، و(4)AT، والإنديل	92	92	45438957	45438866	17	113
99.6	119	0	29751	0.41	الإنديل	79	79	61502510	61502432	17	114
99.0	340	0	32176	0.22	T المتعدد (7)	86	86	64023667	64023582	17	115
99.5	141	7	31604	0.62	GAG(3)	84	84	72308320	72308237	17	116
99.8	45	8	25273	0.31	GA(3)	67	67	2616522	2616456	18	117
99.9<	12	0	34386	0.37	غير متوفر	91	91	6980568	6980478	18	118
98.5	399	0	25692	0.43	A المتعدد (6)، و(3)TG	69	69	9888094	9888026	18	119
96.9	893	0	27923	0.37	A المتعدد (5)، والإنديل	75	75	38837073	38836999	18	120
99.9	20	0	30598	0.47	CTC(3)، والإنديل	81	81	47405462	47405382	18	121
99.5	161	0	31969	0.45	CT(3)، والإنديل	85	85	54815749	54815665	18	122
99.8	48	0	24531	0.48	غير متوفر	65	65	59774060	59773996	18	123
99.7	124	0	37298	0.59	غير متوفر	99	99	625241	625143	19	124
99.6	109	0	27881	0.68	غير متوفر	74	74	18121491	18121418	19	125
99.9	26	0	26442	0.64	غير متوفر	70	70	18186643	18186574	19	126
99.9	31	0	35501	0.61	غير متوفر	94	94	746149	746056	20	127

نسبة الاستدعاءات الصحيحة	حالات عدم الاستدعاء	الاستدعاءات غير الصحيحة	الاستدعاءات الصحيحة	محتوى GC	المحتوى الجينومي للأمبليكون	القواعد في المناطق المؤكدة	حجم الجزء المحلل	نهاية الأمبليكون	بداية الأمبليكون	الكروموسومات	الأمبليكون
99.8	72	0	30951	0.59	AC(3)	82	82	10633276	10633195	20	128
99.9	42	0	28686	0.58	CT(3)	76	76	17705708	17705633	20	129
99.7	88	0	26372	0.46	GT(3)·TG(4)، والإنديل	70	70	21766890	21766821	20	130
99.9	20	0	38159	0.63	الإنديل	101	101	25278521	25278421	20	131
97.9	544	0	25188	0.36	الإنديل	67	67	50897368	50897302	20	132
99.1	309	0	32969	0.73	G المتعدد (6)	88	91	62331994	62331904	20	133
99.8	77	0	32818	0.57	الإنديل	87	87	62690946	62690860	20	134
99.2	181	9	24758	0.35	الإنديل	66	66	30300888	30300823	21	135
99.6	160	0	36902	0.54	T المتعدد (6)، وCA(3)	98	98	33694273	33694176	21	136
99.9	48	0	32841	0.39	GT(3)، والإنديل	87	87	36710792	36710706	21	137
98.9	280	0	25939	0.32	A المتعدد (6)، وAG(3)، والإنديل	69	69	46644992	46644924	21	138
99.8	78	0	33942	0.5	T المتعدد (5)، وA المتعدد (6)	90	90	46705664	46705575	21	139
99.8	86	0	37733	0.63	الإنديل	100	100	25750873	25750774	22	140
99.9	49	0	36617	0.68	غير متوفر	97	97	32439329	32439233	22	141
99.6	162	0	36525	0.46	الإنديل	97	97	37409940	37409844	22	142
99.9	24	0	37398	0.6	غير متوفر	99	99	37637694	37637596	22	143
99.9	22	0	34754	0.66	الإنديل	92	92	47081438	47081347	22	144
99.9	36	0	26046	0.26	T المتعدد (5)	69	69	15870492	15870424	X	145
99.8	63	0	26019	0.62	C المتعدد (5)	69	69	135288611	135288543	X	146
99.8	58	0	26780	0.52	غير متوفر	71	71	135290847	135290777	X	147
غير متوفر	0	0	0	0.55	غير متوفر	0	65	2655461	2655397	Y	148
غير متوفر	0	0	0	0.48	غير متوفر	0	91	2655609	2655519	Y	149
غير متوفر	0	0	0	0.37	A المتعدد (5)	0	71	2655679	2655609	Y	150

خضعت نتائج التسلسل للعينة GM12878 للمقارنة بالنمط الجيني المؤكد بدرجة كبيرة لـ NA12878، على النحو الذي حدده المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST) (إصدار 2.19). وتم احتواء 92 أمبليون بالكامل، من أصل 150 أمبليون، داخل المناطق الجينومية المؤكدة بدرجة كبيرة، وكان يوجد تداخل جزئي في 41 أمبليون، ولم يكن هناك أي تداخل في 17 أمبليون في تسلسل المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST). وأدت هذه النتيجة إلى ظهور 10,000 من الإحداثيات لكل نسخة خضعت للمقارنة. خضعت الاستدعاءات الأساسية التي ليست لها صلة بالمتغيرات للمقارنة ببنية التسلسل للجينوم المرجعي البشري hg19. تظهر نتائج الدقة في الجدول: 18.

الجدول: 18 التوافق الجسدي لعينة GM12878 داخل قاعدة بيانات المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا (NIST)

العينة	عدد الأمبيكون	متوسط معدل الاستدعاء	الإيجابيات الحقيقية	السلبيات الكاذبة	السلبيات الحقيقية	الإيجابيات الكاذبة	توافق النسبة الإيجابية (PPA)	توافق النسبة السلبية (NPA)	توافق النسبة الإجمالية (OPA)
GM12878	133	98.8	2808	0	258488	0	100	100	100

- بناءً على البيانات التي قدمتها دراسة الخلايا الجسدية تلك ذات التسع عمليات تشغيل، يُمكن لجهاز NextSeq 550Dx إجراء التسلسل بصورة متسقة لما يلي:
- محتوى  $GC \geq 19\%$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 19% مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 2.6%)
  - محتوى  $GC \leq 87\%$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أجري التسلسل لها بالإضافة إلى محتوى GC الذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة بنسبة 87% مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.6%)
  - أطوال A المتعددة  $\geq 9$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تحتوي على تكرار A المتعدد لتسعة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 2.5%)
  - أطوال T المتعددة  $\geq 10$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أجري التسلسل لها والتي تتضمن تكرار T المتعدد لعشرة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة أقل من 0.1%)
  - أطوال G المتعددة  $\geq 6$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 2268 أمبليون أجري التسلسل لها وتتضمن تكرار G المتعدد لستة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.5%)
  - أطوال C المتعددة  $\geq 6$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 756 أمبليون أجري التسلسل لها وتتضمن تكرار C المتعدد لستة نيوكليوتيدات تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.4%)
  - أطوال تكرار ثنائي النيوكليوتيد  $\geq 4$  أضعاف (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 1890 أمبليون أجري التسلسل لها، وتتضمن 4 أضعاف من تكرارات ثنائي النيوكليوتيد التي تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.9%)
  - أطوال تكرار ثلاثي النيوكليوتيد  $\geq 5$  أضعاف (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أجري التسلسل لها، وتتضمن 5 أضعاف من تكرار ثلاثي النيوكليوتيد والذي تم استدعاؤه بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 1.4%)
  - أطوال الإدخالات  $\geq 23$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 378 أمبليون أجري التسلسل لها ويتضمن إدخالاً لـ 23 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.8%)
  - أطوال حذفات  $\geq 25$  (جميع القواعد التي تم استدعاؤها في 1134 أمبليون أجري التسلسل لها وتتضمن حذفات لـ 25 نيوكليوتيد تم استدعاؤها بصورة صحيحة مع معدل حالات عدم استدعاء بنسبة 0.7%)

## الضبط

تم تحديد ضبط جهاز NextSeq 550Dx من خلال اختبار 13 عينة فريدة من الجينوم البلاتيني باستخدام ثلاثة أجهزة، وثلاث دفعات للكواشف وثلاثة مشغلين لإنشاء تسع عمليات من عمليات تشغيل التسلسل على مدار خمسة أيام تشغيل. يُعدّ الفحص التمثيلي، والعينات والطريقة المرجعية هي ذاتها كما هو موضح في دراسة دقة الخط الجيني. كما تم تحديد إسهامات الضبط من خلال تحليل مكون التباين باستخدام تردد أليل المتغير VAF كمتغير الاستجابة وحساب الانحرافات القياسية عند مستوى المكون للجهاز، ودفعة الكاشف ويوم التشغيل (الجدول: 19). وكان العدد الإجمالي للملاحظات المستخدمة في تحليل كل مكون في الجهاز، أو المشغل أو متغير دفعة الكاشف هو 699، و176 و235 لمتغيرات النيوكليوتيدات المفردة، والإدخالات والحذفات على التوالي.

الجدول: 19 نتائج الضبط لجهاز NextSeq 550Dx (الانحراف القياسي)

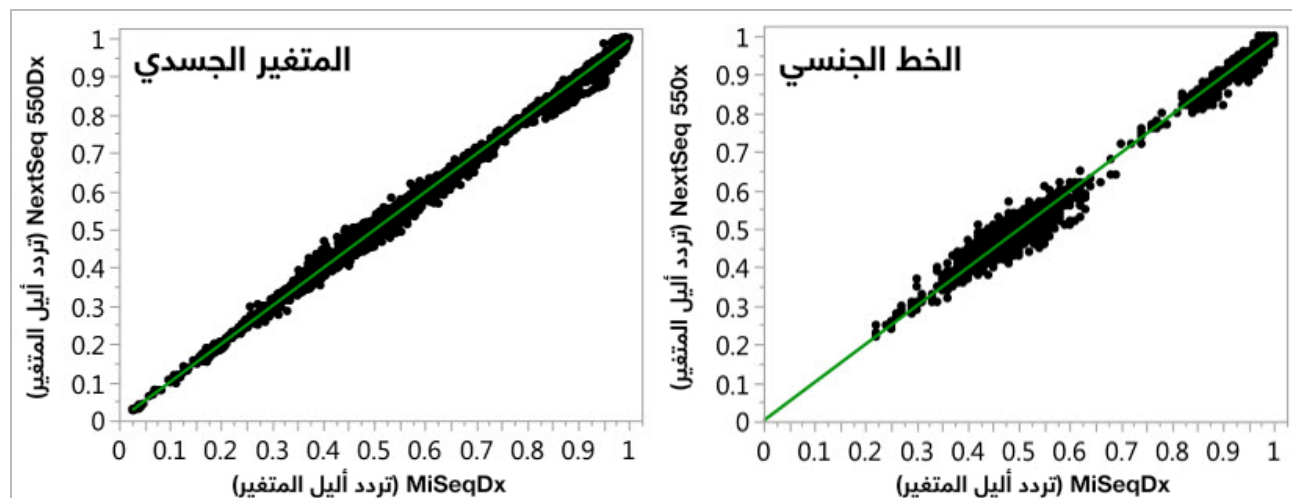
المكون	نوع المتغير	الانحراف القياسي للمكون		إجمالي الانحراف القياسي	
		القيمة القصوى	القيمة المتوسطة	القيمة القصوى	القيمة المتوسطة
الدفعة	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	0.0076	0.0002	0.0833	0.0154
	الإدخال	0.0104	0.0000	0.0410	0.0157
	الحذفات	0.0046	0.0005	0.0560	0.0187
الجهاز	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	0.0114	0.0003	0.0840	0.0153
	الإدخال	0.0138	0.0009	0.0407	0.0161
	الحذفات	0.0079	0.0008	0.0549	0.0187

المكون	نوع المتغير	الانحراف القياسي للمكون		إجمالي الانحراف القياسي	
		القيمة القصوى	القيمة المتوسطة	القيمة القصوى	القيمة المتوسطة
المشغل	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	0.0226	0.0008	0.0841	0.0155
	الإدخال	0.0344	0.0010	0.0417	0.0164
	الحذوفات	0.0083	0.0013	0.0547	0.0187
اليوم	متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	0.0277	0.0012	0.0825	0.0160
	الإدخال	0.0235	0.0012	0.0409	0.0169
	الحذوفات	0.0271	0.0014	0.0548	0.0188

### مقارنة الطريقة (منصة التسلسل)

تم تقييم عينات الدم الكامل والعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE على جهاز NextSeq 550Dx وجهاز MiSeqDx باستخدام عمليات سير عمل الخط الجنسي والجنسي لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. كما خضعت اتفاقية تكرار المتغير لعينات الدم والعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE للتقييم باستخدام فحوصات تمثيلية متعددة. ويرسم الشكل 2 علاقة تردد أليل المتغير (VAF) بين الجهازين لفحص تمثيلي واحد ويُلخص الجدول: 20 هذه العلاقة حسب لوحة الفحص. واستنادًا إلى العلاقة القوية بين جهاز MiSeqDx وجهاز NextSeq 550Dx، تم تحديد خصائص الأداء ذات الصلة بالعوامل ما قبل التحليلية (على سبيل المثال طرق الاستخلاص أو المواد المتداخلة) ليتم تطبيقها على كلا الجهازين. راجع النشرة الداخلية لمجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx للاطلاع على المزيد من التفاصيل.

الشكل 2 علاقة تردد أليل المتغير (VAF) بين جهازَي MiSeqDx وNextSeq 550Dx فيما يتعلق بالعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE (على اليسار) وعينات الدم (على اليمين) باستخدام الفحص الأول



الجدول: 20 نتائج مقارنة الطرق باستخدام عينات الدم والعينات المُدمجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE الفريدة

العلاقة (R <sup>2</sup> )	التقاطع	الانحدار	الملاحظات (عدد المتغيرات)	النسخ الفنية (لكل عينة)	النسخ البيولوجية (العينات)	الفحص (لوحة كليل النيوكليوتيد)	مصدر الحمض النووي الجيني
0.995 <sup>2</sup>	0.002	0.992	8369 <sup>1</sup>	2	45	الفحص الأول	الدم
0.981	0.005	0.995	5457	2	45	الفحص الثاني	الدم
0.997 <sup>2</sup>	0.000	0.993	8319	2	46	الفحص الأول	مُدمجة بالبارافين ومثبتة بالفورمالين FFPE
0.978	0.015	0.969	280	1	40	الفحص الثالث	مُدمجة بالبارافين ومثبتة بالفورمالين FFPE

<sup>1</sup>تمت إزالة نظمتي قياس بناءً على التردد المُحدّد لوحة متغير الخط الجنسي.  
<sup>2</sup>معامل تحديد مخططات تردد أليل المتغير كما هو موضح في الشكل الثاني.



## قابلية الاستنساخ

تم تقييم قابلية الاستنساخ لجهاز NextSeq 550Dx باستخدام عينات الجينوم البلاتيني مع فحص تمثيلي مُصمم للاستعلام عن مجموعة متنوعة من الجينات تغطي 12,588 قاعدة عير 23 كروموسومًا مختلفًا باستخدام 150 أمبليكون. وكان اختبار الخط الجنسي يتكوّن من سبع نسخ طبق الأصل من 13 عينة؛ كما كان الاختبار الجسدي يتكوّن من ست نسخ طبق الأصل من سبع عينات عند مستويات مختلفة لتردد أليل المتغيّر (VAF). وتم تحضير العينات باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx.

كما أُجري الاختبار في ثلاثة مواقع خارجية باستخدام دفعة واحدة من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة). وتم استخدام جهاز NextSeq 550Dx واحد في كل موقع. وأجرى اثنان من مسؤولي التشغيل الاختبار في كل موقع. وأجرى كل مُشغّل الاختبار في ثلاثة أيام تشغيل غير متتالية لكل نوع من أنواع العينات، وذلك لإجمالي 36 عملية تشغيل عبر المواقع الثلاثة. نتج عن هذا الاختبار 18 عملية تشغيل لكل من عمليات سير عمل الخط الجنسي وسير عمل التحليل الجسدي.

## الخط الجنسي

يتم الإبلاغ عن متغيّرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغيّر  $\leq 0.2$  بوصفها (متغيّرات) إيجابية. وبالنسبة لمتغيّرات الخط الجنسي الإيجابية المتوقعة، خضعت البيانات للتقييم لمعرفة معدل عدم الاستدعاء ومعدل الاستدعاء الإيجابي الصحيح داخل كل نوع من أنواع المتغيّرات (متغير النيوكليوتيد المفرد، والإدخال، والحذوفات). يلخّص الجدول: 21 المعدلات التي تمت ملاحظتها، إلى جانب مستويات الثقة الأقل والأعلى من 95% (LCL/UCL) التي تم حسابها باستخدام طريقة نقاط ويلسون لكل نوع متغيّر.

الجدول: 21 ملاحظات استدعاء الخط الجنسي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغيّر

نوع المتغيّر	عدم الاستدعاء			الاستدعاء الإيجابي الصحيح		
	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	16	110,376	0.014	110,349	110,360	99.99
الإدخالات	1026	37,044	2.77	36,018	36,018	99.99
الحذوفات	648	34,776	1.86	34,128	34,128	99.99

يتم الإبلاغ عن متغيّرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغيّر  $< 0.2$  (VAF) بوصفها سلبية (النوع البري). وبالنسبة لمواقع الخط الجنسي السلبية المتوقعة، خضعت البيانات للتقييم فيما يتعلق بمعدلات عدم الاستدعاء ومعدلات الاستدعاء الصحيح من النوع البري. يلخّص الجدول: 22 المعدلات التي تمت ملاحظتها، إلى جانب مستويات الثقة الأقل والأعلى من 95% (LCL/UCL) المحسوبة باستخدام طريقة نقاط ويلسون.

الجدول: 22 ملاحظات استدعاء الخط الجنسي للنتائج السلبية المتوقعة

نوع المتغيّر	عدم الاستدعاء			الاستدعاء السليبي الصحيح		
	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية
النوع البري	4883	19,600,182	0.025	19,595,299	19,595,299	100

يُطلق على متغيّرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغيّر  $(VAF) \geq 0.2$  و  $> 0.7$  متغايّر الزيجوت للمتغيّر، والمتغيّرات ذات مستوى تردد أليل المتغيّر  $(VAF) \geq 0.7$  متماثل الزيجوت الإيجابي للمتغيّر. تم استخدام عينات الخط الجنسي ذات المتغيّرات متغايّة الزيجوت لتحديد ما إذا كان التغيّر المتأصل للفحص سيؤثر على استدعاء النمط الجيني أم لا. تم تحديد Cx لكلا الحدين الثابتين (0.2) للنمط الجيني متغايّر الزيجوت و 0.7 للنمط الجيني متماثل الزيجوت)، حيث يُمثل x نسبة الاختبارات المُكررة التي تتجاوز الحدّ الثابت. وبالنسبة للحدّ الثابت الأدنى ذي تردد أليل المتغيّر (0.2) (VAF)، كانت نسبة  $\geq 99.999\%$  Cx، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على  $\leq 99.999\%$  من المتغيّرات متغايّة الزيجوت اسم متغايّة الزيجوت. وفيما يتعلق بالحدّ الثابت الأعلى ذي تردد أليل المتغيّر (0.2) (VAF)، كانت نسبة  $\geq 0.001\%$  Cx، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على  $\leq 0.001\%$  من المتغيّرات متغايّة الزيجوت اسم متماثلة الزيجوت. يُلخّص الجدول: 23 النتائج حسب نوع المتغيّر.

يُطلق على متغيّرات الخط الجنسي ذات مستوى تردد أليل المتغيّر  $(VAF) \geq 0.2$  و  $> 0.7$  متغايّة الزيجوت الإيجابية للمتغيّر، ويُطلق على المتغيّرات ذات مستوى تردد أليل المتغيّر  $(VAF) \geq 0.7$  متماثلة الزيجوت الإيجابية للمتغيّر. تم استخدام عينات الخط الجنسي ذات المتغيّرات متغايّة الزيجوت لتحديد ما إذا كان التغيّر المتأصل للفحص سيؤثر على استدعاء النمط الجيني أم لا. تم تحديد Cx لكلا الحدين الثابتين (0.2) للنمط الجيني متغايّر الزيجوت و 0.7 للنمط الجيني متماثل الزيجوت)، حيث يُمثل x نسبة الاختبارات المُكررة التي تتجاوز الحدّ الثابت. وفيما يتعلق بالحدّ الثابت الأدنى ذي تردد أليل المتغيّر (0.2) (VAF)، كانت نسبة  $\geq 99.999\%$  Cx، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على  $\leq 99.999\%$  من المتغيّرات متغايّة الزيجوت اسم متغايّة الزيجوت. وبالنسبة للحدّ الثابت الأعلى ذي تردد أليل المتغيّر (0.2) (VAF)، كانت نسبة  $\geq 0.001\%$  Cx، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على  $\leq 0.001\%$  من المتغيّرات متغايّة الزيجوت اسم متماثلة الزيجوت. يُلخّص الجدول: 23 النتائج حسب نوع المتغيّر.

## الجدول: 23 قيم Cx للخط الجنسي الخاصة بالمتغيرات متغيرة الزيجوت

نوع المتغير	الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (VAF) 0.2	الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (VAF) 0.7
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	94/94	94/94
الإدخالات	24/24	24/24
الحدوفات	35/35	35/35
الإجمالي	153	153

## المتغير الجسدي

يتم الإبلاغ عن المتغيرات الجسدية ذات مستويات تردد أليل المتغير البالغة  $(VAF) \geq 0.026$  (بوصفها (متغيرات) إيجابية. وقد تم اعتبار الملاحظات ذات مستويات تردد أليل المتغير  $(VAF) \geq 0.01$  و  $> 0.026$  غير واضحة لأغراض هذا التحليل (ليست إيجابية أو سلبية، وتُسجّل كتردد منخفض للمتغير). لتقييم الأداء، تم حساب النتائج بثلاث طرق:

- ◀ الحالة الأفضل: تم اعتبار أي نتيجة غير واضحة بمثابة استدعاء إيجابي صحيح (تتفق مع النتائج المتوقعة)
- ◀ الحالة الأسوأ: تم اعتبار أي نتيجة غير واضحة بمثابة استدعاء غير صحيح (لا تتفق مع النتائج المتوقعة)
- ◀ الحالة الاستثنائية: تم استثناء جميع النتائج غير الواضحة من التحليل

تُلخّص الجداول الثلاثة، الجدول: 24، الجدول: 25، والجدول: 26، نتائج الاستدعاء للحالة الأفضل، والحالة الأسوأ والحالة الاستثنائية على التوالي، إلى جانب مستويات الثقة الأقل والأعلى من 95% (LCL/UCL) المحسوبة باستخدام طريقة نقاط ويلسون.

## الجدول: 24 ملاحظات استدعاء المتغير الجسدي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغير (الحالة الأفضل)

نوع المتغير	الاستدعاء الإيجابي الصحيح			
	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية	مستوى الثقة الأقل من 95%
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	54,346	54,346	100	99.99
الإدخالات	18,036	18,036	100	99.98
الحدوفات	18,381	18,381	100	99.98

## الجدول: 25 ملاحظات استدعاء المتغير الجسدي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغير (الحالة الأسوأ)

نوع المتغير	الاستدعاء الإيجابي الصحيح			
	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية	مستوى الثقة الأقل من 95%
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	54,346	54,346	100	99.99
الإدخالات	18,000	18,036	99.8	99.72
الحدوفات	18,381	18,381	100	99.98

## الجدول: 26 ملاحظات استدعاء المتغير الجسدي للنتائج الإيجابية المتوقعة حسب نوع المتغير (تم حذف الاستدعاءات غير الواضحة)

نوع المتغير	الاستدعاء الإيجابي الصحيح			
	ما تمت ملاحظته	الإجمالي	النسبة المئوية	مستوى الثقة الأقل من 95%
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	54,346	54,346	100	99.99
الإدخالات	18,000	18,000	100	99.98
الحدوفات	18,381	18,381	100	99.98

يتم الإبلاغ عن المتغيرات الجسدية ذات مستوى تردد أليل المتغير  $(VAF) < 0.01$  بوصفها استدعاءات سلبية (النوع البري). وبالنسبة لمواقع المتغيرات الجسدية السلبية المتوقعة، خضعت البيانات للتقييم فيما يتعلق بمعدلات عدم الاستدعاء ومعدل الاستدعاء الصحيح من النوع البري. تم تحديد الاستدعاءات الصحيحة من النوع البري من خلال استثناء حالات عدم الاستدعاء وطرح الاستدعاءات التي تمت ملاحظتها الواقعة في المنطقة غير الواضحة (مستويات تردد أليل المتغير  $(VAF) \geq 0.01$  و  $> 0.026$ ) بالإضافة إلى الاستدعاءات غير الصحيحة التي تجاوزت الحدّ الثابت (مستويات تردد أليل المتغير  $(VAF) \geq 0.026$ ) من الإجمالي. يُلخّص الجدول: 27 النتائج التي تمت ملاحظتها، والنتائج الإجمالية ونتائج النسبة المئوية لمواقع المتغيرات الجسدية السلبية فيما يتعلق بمعدل حالات عدم الاستدعاء ومعدل الاستدعاء الصحيح من النوع البري، إلى جانب مستويات الثقة الأقل والأعلى من 95% (LCL/UCL) المحسوبة باستخدام طريقة نقاط ويلسون.

الجدول: 27 ملاحظات استبعاد المتغير الجسدي للنتائج السلبية المتوقعة

نوع المتغير	عدم الاستدعاء	الإجمالي	النسبة المئوية	النسبة المئوية	الصحيح	الإجمالي	النسبة المئوية	مستوى الثقة الأقل من 95%	مستوى الثقة الأعلى من 95%
النوع البري	36,326	8,909,676	0.408	2254	غير الصحيح	121	8,870,975	99.972	99.974

تم تقييم العينات الجسدية عند مستويات مختلفة لتردد أليل المتغير (VAF) للمتغير نفسه لتحديد تركيز C95 الخاص بالفحص (داخل كل نوع من أنواع المتغير). ولتقييم قابلية التغير بالقرب من الحدّ الثابت للفحص، تم استخدام العينات التي كانت لديها مستويات متوقعة لتردد أليل المتغير (VAF) بين 0.02 و 0.07. وقد تم تحديد تركيز C95 لكل متغير، مع الإبلاغ عن أعلى تركيز لـ C95 لكل نوع متغير في الجدول: 28.

الجدول: 28 ملخص تركيز C95 الجسدي

نوع المتغير	العدد	C95
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	74	0.0613
الإدخال	24	0.0573
الحذف	33	0.0575

## أداء مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة)

### نظرة عامة

يُعدّ جهاز NextSeq 550Dx مدعومًا بمجموعتين من الكواشف: مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). ولإثبات أن مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) يُمكنها تلبية متطلبات الأداء التحليلي التي تم التحقق منها وتأكيد صحتها من خلال مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة)، أجريت الدراسات باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). كما أُجري اثنان من إعدادات المكتبة باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx، حيث أُجري أحدهما عبر سير عمل متغير الخط الجنسي والآخر عبر سير عمل المتغير الجسدي. وخضعت المكتبات من كلا عمليتي سير العمل للاختبار من خلال ثلاث دفعات لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) باستخدام ثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx. بالإضافة إلى ذلك، فقد تضمن الاختبار لكل سير عمل، عملية تشغيل مفردة باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة).

### الحساسية التحليلية (حد الفراغ [LoB] وحد الكشف [LoD])

أُثبت التحقق باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) أن جهاز NextSeq 550Dx يُمكنه الكشف عن المتغيرات عند مستوى تردد أليل المتغير 0.05 مع خطأ من النوع الثاني  $\geq 0.05$  وأن الحد الثابت لتردد أليل المتغير 0.026 الذي تستخدمه وحدة المتغير الجسدي (حد الفراغ الفعّال) يدعم الخطأ من النوع الأول  $\geq 0.01$ . وبناءً على تلك المطالبات، من المتوقع أن يكون المتغير عند تردد أليل المتغير (VAF) 0.05 أكبر من تردد أليل المتغير (VAF) 0.026 أو يساويه في 95% من الوقت وأن الموقع من النوع البري أقل من تردد أليل المتغير (VAF) 0.026 في 99% من الوقت. وللتأكد من تلبية مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) لتلك المطالبات، تم أخذ قياسات متكررة على جهاز NextSeq 550Dx من خلال عينات من النوع البري (عينات حد الفراغ) وعينات تتضمن متغيرات عند تردد أليل المتغير 0.05 (عينات حد الكشف) باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). ومن ثمّ تمت مقارنة نسبة الاستدعاءات التي تتجاوز الحدّ الثابت 0.026 والتي تكون أدناه بالمطالبات الموضوعية باستخدام مجموعة الكواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة).

وشمل الاختبار اثنين من عينات حد الكشف، وكل عينة مُزودة بمجموعة فريدة من المتغيرات التي تستهدف تردد أليل المتغير (VAF) 0.05 وعينات حد الفراغ المقابلة التي كانت من النوع البري للمتغيرات المستهدفة. وبالنسبة لإعداد المكتبة، تمت معالجة عينات حد الكشف (LoD) وحد الفراغ (LoB) في نسخ يبلغ عددها ثماني وسبع نسخ على التوالي باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. في البداية، أُجري تسلسل المكتبات باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) لتحديد المتغيرات/الإحداثيات الجينومية بغرض تقييم حد الفراغ/حد الكشف (LoB/LoD) باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). تم استخدام جميع المتغيرات ذات متوسط تردد أليل المتغير (VAF) الذي يتراوح بين 0.045 و 0.055 (متغيرات حد الكشف) وفق نتائج مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) بغرض تحليل حد الكشف (العدد = 51 متغيرًا). وبالنسبة لتحليل حد الفراغ، خضع 51 من الإحداثيات الجينومية المقابلة للتقييم.

ولتقييم مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة)، أُجري تسلسل المكتبات في ثلاث عمليات تشغيل على مدار ثلاثة أيام متتالية باستخدام الجهاز ودفعه مجموعة الكاشف نفسها. بلغ هذا الاختبار 24 نسخة لكل متغير من متغيرات حد الكشف التي يبلغ عددها 51 متغيرًا و 21 نسخة لكل موقع من المواقع ذات النوع البري المقابلة. كما تُرد نسبة الاستدعاءات من النوع البري ذات تردد أليل المتغير (VAF)  $< 0.026$  في الجدول: 29. وترد نسبة استدعاءات متغير حد الكشف ذات تردد أليل المتغير (VAF) الأكبر من 0.026 أو يساويه في الجدول: 30.

الجدول: 29 نسبة الاستدعاءات &gt; 0.026 للمواقع من النوع البري (تقييم مطابقة حد الفراغ)

نوع المتغير	المواقع الخاضعة للتقييم	إجمالي الملاحظات	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF) $\leq 2.6\%$	نسبة $> 2.6\%$	نسبة 95% لمجال الثقة
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	32	672	0	1	1 - 0.994
الإدخال	11	231	0	1	1 - 0.984
الحذوفات	8	168	0	1	1 - 0.978

الجدول: 30 نسبة الاستدعاءات  $\leq 0.026$  من تردد أليل المتغير (VAF) بالنسبة لمتغيرات حد الكشف (تقييم مطابقة حد الكشف)

نوع المتغير	المواقع الخاضعة للتقييم	إجمالي الملاحظات	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF) $> 2.6\%$	عدد قياسات تردد أليل المتغير (VAF) $\leq 2.6\%$	نسبة $\leq 2.6\%$	نسبة 95% لمجال الثقة
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	32	768	1	767	0.999	1 - 0.993
الإدخال	11	264	3	261	0.989	- 0.967 0.996
الحذوفات	8	192	2	190	0.99	- 0.963 0.997

## الدقة

## الخط الجنسي

أجريت الدراسة التالية لتقييم دقة استدعاء المتغير ذي الصلة بوحدة متغير الخط الجنسي باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). وخضعت اثنتا عشرة عينة فريدة من الجينوم البلاتيني للاختبار باستخدام أحد الفحوصات التمثيلية. وأجري إجمالي 11 عملية تشغيل باستخدام ثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx وثلاثة من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). وقد تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات من خلال مقارنة النتائج بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة للجينومات البلاتينية من الإصدار 1.0-2016. وتُقدّم نتائج الدقة من عملية تشغيل تسلسل واحدة باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx ذات الإخراج العالي من الإصدار 2 (300 دورة) للرجوع إليها. ويُقدّم ملخص النتائج في الجدول: 31.

الجدول: 31 ملخص توافقي الخط الجنسي

المعايير	إجمالي الملاحظات (الإصدار 2.5) <sup>1</sup>	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2.5) <sup>2</sup>	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2) <sup>3</sup>	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2.5) <sup>4</sup>	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 2) <sup>4</sup>
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة	1056	98.7	98.7	99.9<	99.9<
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للإدخالات	1056	100	100	100	98.9
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للحذوفات	1056	95.2	95.2	99.9<	100
توافق النسبة السلبية (NPA)	1056	100	100	100	100
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	1056	99.9<	99.9<	99.9<	99.9<

<sup>1</sup> تم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل x عدد عمليات التشغيل (96 عينة لكل عملية تشغيل x 11 عملية تشغيل = 1056 ملاحظة).

<sup>2</sup> أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر جميع عمليات التشغيل (بناءً على 11 عملية تشغيل لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx ذات الإخراج العالي من الإصدار 2.5).

<sup>3</sup> أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عملية تشغيل واحدة (إجمالي 96 ملاحظة).

<sup>4</sup> أقل قيمة عند تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصفة إجمالية.

## المتغير الجسدي

أجريت الدراسة التالية لتقييم دقة استدعاء المتغير لوحدة المتغير الجسدي على جهاز NextSeq 550Dx باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة). وأجري اختبار لعشر عينات مدمجة بالبارافين ومثبتة بالفورمالين FFPE خاصة بالجينوم البلاتيني (عينتان منها تم تخفيف المتغيرات بها إلى تردد أليل المتغير 0.05) باستخدام أحد الفحوصات التمثيلية. وأجري إجمالي 11 عملية تشغيل باستخدام ثلاث أجهزة NextSeq 550Dx وثلاث دفعات من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة).

وقد تم تحديد الدقة لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة، والإدخالات والحذوفات من خلال مقارنة النتائج بالطريقة المرجعية المركبة ذات السمات الواضحة للجينومات البلاطينية من الإصدار 1.0-2016. وتُقدّم نتائج الدقة من عملية تشغيل تسلسل واحدة باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx ذات الإخراج العالي من الإصدار 2 (300 دورة) للرجوع إليها. ويُقدّم ملخص النتائج في الجدول: 32.

الجدول: 32 ملخص التوافق الجسدي

المعايير	إجمالي الملاحظات (الإصدار 1 <sup>2.5</sup> )	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 2 <sup>2.5</sup> )	النتائج حسب الملاحظة (الإصدار 3 <sup>2</sup> )	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 4 <sup>2.5</sup> )	النتائج حسب عملية التشغيل (الإصدار 4 <sup>2</sup> )
توافق النسبة الإيجابية (PPA) لمتغيرات النيوكليوتيد المفردة	528	100	100	100	100
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للإدخالات	528	96.9	96.9	99.9 <	99.9 <
توافق النسبة الإيجابية (PPA) للحذوفات	528	100	100	100	100
توافق النسبة السلبية (NPA)	528	99.9 <	99.9 <	99.9 <	99.9 <
توافق النسبة الإجمالية (OPA)	528	99.9 <	99.9 <	99.9 <	99.9 <

أتم الحساب على أساس عدد العينات لكل عملية تشغيل x عدد عمليات التشغيل (48 عينة لكل عملية تشغيل 11 عملية تشغيل = 528 ملاحظة)  
<sup>2</sup> أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر جميع عمليات التشغيل (بناءً على 11 عملية تشغيل لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5)  
<sup>3</sup> أقل قيمة تمت ملاحظتها حسب نسخة العينة عبر عملية تشغيل واحدة (إجمالي 96 ملاحظة).  
<sup>4</sup> أقل قيمة عدد تحليل البيانات من كل عملية تشغيل بصفة إجمالية.

## الضبط

## الخط الجسدي

خضع ضبط مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) إلى جانب وحدة متغير الخط الجسدي للتقييم باستخدام عينات الجينوم البلاطيني والفحص التمثيلي. وشمل الاختبار إعداد مكتبة فردية باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx كما تضمنت 12 عينة خضعت للمعالجة من خلال ثماني نسخ لكل منها. وأجري تسلسل المكتبات باستخدام ثلاث دفعات من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) وثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx لإجمالي تسع عمليات تشغيل التسلسل.

تم استخدام العينات ذات المتغيرات متغايرة الزيجوت لتحديد ما إذا كان التغير المتأصل للفحص سيؤثر على استدعاء النمط الجيني (العدد = 153 من المتغيرات متغايرة الزيجوت الفريدة). وتم تحديد Cx لكلا الحدين الثابتين ذوي الصلة بوحدة متغير الخط الجسدي (0.2) للنمط الجيني متغاير الزيجوت و0.7 للنمط الجيني متماثل الزيجوت)، حيث يُمثل x نسبة الاختبارات المُكررة التي تتجاوز الحدّ الثابت. وبالنسبة للحدّ الثابت الأدنى ذي تردد أليل المتغير (0.2 VAF)، كان المتغير ذو نسبة Cx الأدنى لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx من الإصدار 2.5 (300 دورة) < 99.9%، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على < 99.9% من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم متغايرة الزيجوت. وبالنسبة للحدّ الثابت الأعلى ذي تردد أليل المتغير (0.7 VAF)، كان المتغير ذو نسبة Cx الأقصى لمجموعة كواشف NextSeq 550Dx من الإصدار 2.5 (300 دورة) > 1.5%، ما يُشير إلى أنه سيُطلق على  $\geq 1.5\%$  من المتغيرات متغايرة الزيجوت اسم متماثلة الزيجوت. يُلخص الجدول: 33 النتائج حسب نوع المتغير. يتم توفير قيم Cx من عملية تشغيل التسلسل المفردة باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) للرجوع إليها.

الجدول: 33 قيم Cx للخط الجسدي الخاصة بالمتغيرات متغايرة الزيجوت

نوع المتغير	العدد	الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (0.2 VAF)		الحدّ الثابت عند تردد أليل المتغير (0.7 VAF)	
		الحدّ الأدنى لنسبة Cx (الإصدار 1 <sup>2.5</sup> )	الحدّ الأدنى لنسبة Cx (الإصدار 2 <sup>2</sup> )	الحدّ الأقصى لنسبة Cx (الإصدار 1 <sup>2.5</sup> )	الحدّ الأقصى لنسبة Cx (الإصدار 2 <sup>2</sup> )
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	94	< 99.9%	< 99.9%	1.5%	1.0%
الإدخالات	24	100%	100%	0%	> 0.1%
الحذوفات	35	100%	< 99.9%	> 0.1%	> 0.1%

<sup>1</sup> تستند قيم Cx إلى تقديرات إجمالي الانحراف المعياري من تحليل عنصر التباين.  
<sup>2</sup> تستند قيم Cx إلى الانحرافات المعيارية للعينة.

## المتغير الجسدي

خضع ضبط مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) إلى جانب وحدة المتغير الجسدي للتقييم باستخدام العينات المُمنجة بالبارافين والمثبتة بالفورمالين FFPE للجينوم البلاتيني والفحص التمثيلي. وشمل الاختبار إعداد مكتبة فردية باستخدام مجموعة TruSeq Custom Amplicon Kit Dx كما تضمن عينتين مع ثماني نسخ لكل منها. وأجري تسلسل المكتبات باستخدام ثلاث دفعات من مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) وثلاثة من أجهزة NextSeq 550Dx لإجمالي تسع عمليات تشغيل التسلسل.

تم استخدام المتغيرات الجسدية مع مستويات تردد أليل متغير (VAF) متوقعة  $0.026 \leq$  (العدد = 131 متغيراً فريداً) لتقييم مدى تغير الجهاز بالقرب من الحد الثابت لتردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة المتغير الجسدي (يُطلق على المتغيرات الجسدية ذات مستوى تردد أليل المتغير  $VAF \geq 0.026$  إيجابية للمتغير). تم تحديد قيم C95 لكل متغير من المتغيرات الجسدية. وتمثل قيم C95 تردد أليل المتغير (VAF) إذ أن احتمالية أن تكون أكبر من الحد الثابت لتردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة المتغير الجسدي هو 95%. وتردد قيم C95 الأعلى حسب نوع المتغير في الجدول: 34. يتم توفير نتائج C95 من عملية تشغيل تسلسل المفردة باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) للرجوع إليها.

## الجدول: 34 ملخص تركيز C95 الجسدي

نوع المتغير	عدد المتغيرات الخاضعة للتقييم	C95 (الإصدار 2.5) <sup>1</sup>	C95 (الإصدار 2) <sup>2</sup>
متغير النيوكليوتيد المفرد (SNV)	74	0.064	0.063
الإدخالات	24	0.062	0.061
الحذوفات	33	0.060	0.060

<sup>1</sup> تستند قيم C95 إلى تقديرات إجمالي الانحراف المعياري من تحليل عنصر التباين.

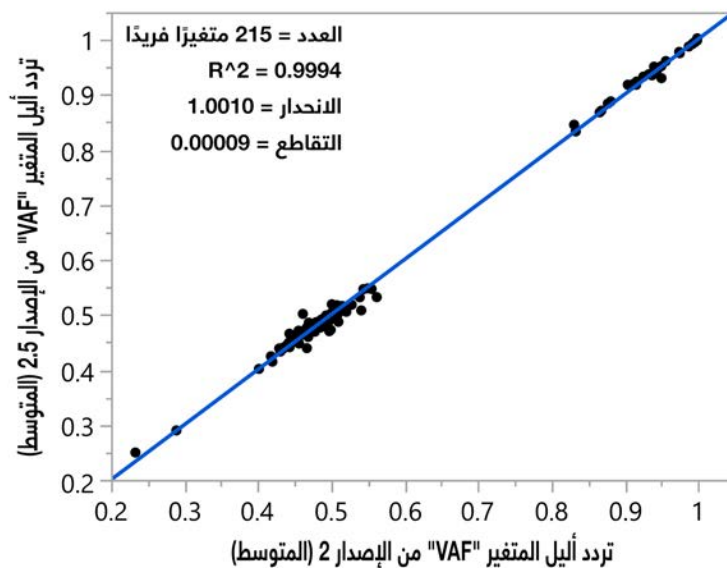
<sup>2</sup> تستند قيم C95 إلى الانحرافات المعيارية للبيانات.

## مقارنة الطريقة (مجموعة الكاشف)

## الخط الجسدي

خضع متوسط تردد أليل المتغير (VAF) المتحصل عليه من 215 متغيراً فريداً للتقييم عبر مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) باستخدام النتائج المُنشأة من وحدة متغير الخط الجسدي. كما تم حساب المعدلات المتوسطة لتردد أليل المتغير (VAF) من 11 عملية من عمليات تشغيل التسلسل (الإصدار 2.5) وعملية تشغيل تسلسل واحدة (الإصدار 2). واستخدمت ثماني نسخ على الأقل لحساب المعدل المتوسط لكل متغير. يُوضّح الشكل 3 من خلال الرسم التخطيطي علاقة تردد أليل المتغير (VAF) بين مجموعتي الكواشف. وبناءً على علاقة تردد أليل المتغير (VAF) الخطية القوية والتشابه في النتائج بين مجموعات الكاشف، تم تحديد خصائص الأداء، التي تم التحقق والتأكد من صحتها في البداية باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) من خلال وحدة متغير الخط الجسدي، لتكون قابلة للتطبيق على مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة).

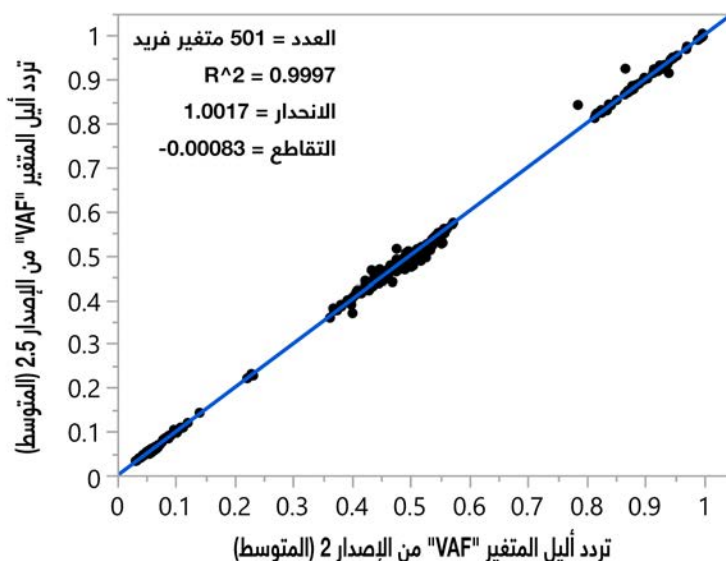
الشكل 3 علاقة تردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة متغير الخط الجنسي بين مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة).



#### المتغير الجسدي

خضع متوسط تردد أليل المتغير (VAF) لـ 501 متغير فريد للتقييم عبر مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة) باستخدام النتائج المنشأة من وحدة المتغير الجسدي. كما تم حساب المعدلات المتوسطة لتردد أليل المتغير (VAF) من 11 عملية من عمليات تشغيل التسلسل (الإصدار 2.5) وعملية تشغيل تسلسل واحدة (الإصدار 2). واستخدمت ثلاث نسخ على الأقل لحساب المعدل المتوسط لكل متغير فريد. يُوضّح الشكل 4 من خلال الرسم التخطيطي علاقة تردد أليل المتغير (VAF) بين مجموعتي الكواشف. وبناءً على علاقة تردد أليل المتغير (VAF) والتشابه في النتائج بين مجموعات الكاشف، تم تحديد خصائص الأداء، التي تم التحقق والتأكد من صحتها باستخدام مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) من خلال وحدة المتغير الجسدي، لتكون قابلة للتطبيق على مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة).

الشكل 4 علاقة تردد أليل المتغير (VAF) الخاص بوحدة المتغير الجسدي بين مجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة) ومجموعة كواشف NextSeq 550Dx عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (300 دورة).



## تاريخ المراجعة

المستند	التاريخ	وصف التغيير
المستند رقم 1000000030326 إصدار 06	مايو 2022	أجريت التعديلات لتصحيح المحتوى المضاف على نحو غير مُتعمد من البرنامج المصدر.
المستند رقم 1000000030326 إصدار 05	نوفمبر 2021	تمت إضافة بيان التحذيرات والاحتياطات بشأن الإبلاغ عن الحوادث الخطيرة. تمت إضافة بيان لآليات العمل الأساسية التي تحدد المستخدم المقصود. تمت إزالة المرجع الخاص بمجموعة الكاشف عالية الإخراج من الإصدار 2 (300 دورة). تمت إضافة المرجع الخاص بمجموعة الكاشف عالية الإخراج من الإصدار 2.5 (75 دورة).
المستند رقم 1000000030326 إصدار 04	أغسطس 2021	تمت إضافة جدول سجل المراجعة. تم تحديث عنوان الممثل المعتمد من الاتحاد الأوروبي.

## براءات الاختراع والعلامات التجارية

هذا المستند ومحتوياته مملوكة لشركة Illumina, Inc. والشركات التابعة لها ("Illumina")، وتهدف إلى الاستخدام التعاقدى لعملائها فقط فيما يتعلق باستخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا وليس لأي غرض آخر. يجب ألا يتم استخدام هذا المستند ومحتوياته أو توزيعه لأي غرض آخر و/أو إرساله، أو الكشف عنه، أو نسخه بأي شكل آخر دون موافقة خطية مسبقة من شركة Illumina. لا تقدم شركة Illumina أي تراخيص تتعلق ببراءات الاختراع، أو العلامات التجارية أو حقوق التأليف والنشر، أو حقوق القانون العام ولا الحقوق المماثلة لأي أطراف أخرى بموجب هذا المستند.

يجب على الموظفين المؤهلين والمدربين بشكل جيد اتباع التعليمات الواردة في هذا المستند بشكل صارم وصريح من أجل ضمان الاستخدام السليم والأمن للمنتج (المنتجات) الموضح به. تجب قراءة جميع محتويات هذا المستند وفهمها بشكل كامل قبل استخدام هذا المنتج (هذه المنتجات).

وقد يؤدي عدم قراءة التعليمات الواردة هنا بشكل كامل واتباعها بوضوح إلى حدوث تلف في المنتج (المنتجات)، أو إصابة للأشخاص، بما في ذلك المستخدم أو أشخاص آخرون، وإلحاق الضرر بممتلكات أخرى، وستفقد أي ضمان ينطبق على المنتج (المنتجات).

لا تتحمل شركة ILLUMINA أي مسؤولية ناجمة عن سوء استخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا (بما في ذلك البرامج أو أجزاء منها).

حقوق الطبع والنشر © لعام 2022 محفوظة لصالح شركة Illumina, Inc. جميع الحقوق محفوظة.

جميع العلامات التجارية مملوكة لشركة Illumina, Inc. أو أصحابها المعنيين. للحصول على معلومات محددة حول العلامات التجارية، راجع [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).



## معلومات الاتصال



Illumina  
Illumina Way 5200  
San Diego, California 92122 U.S.A  
(ILMN (4566+. 1.800.809  
(خارج أمريكا الشمالية) +1.858.202.4566  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

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

CE

IVD

EC REP

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

## ملصقات المنتج

للحصول على مرجع كامل للرموز التي قد تظهر على عبوة المنتج والملصقات، راجع مفتاح الرمز الخاص بمجموعة أدواتك على موقع [support.illumina.com](http://support.illumina.com).