

### Përpunimi i mostrave

- ☐ 1 Përfundoni hapat e mëposhtëm për secilën pjesë:
  - ☐ a Centrifugoni në  $1600 \times g$  për 10 minuta në  $4^{\circ}\text{C}$ .
  - ☐ b Filloni izolimin plazmatik brenda 15 minutave.
- ☐ 2 Inspektoni për të konfirmuar se çdo tub përmban të paktën 1.5 ml plazma mbi shtresën e bardhë.
- ☐ 3 Zhblokoni tubat dhe futini në mbajtëset e tubave.

### Izoloni plazmën

- ☐ 1 Futni ID e grupit dhe emrin e përdoruesit.
- ☐ 2 Vendosni një fletë mostër ose klikoni **No Sample Sheet** (Pa fletë të mostrës).
- ☐ 3 Zgjidhni madhësinë e grupit.
- ☐ 4 Zgjidhni numrin e kontrolleve pa shabllon (NTC).
- ☐ 5 Load (Ngarkoni) mostrat, majat dhe pllakat (barkodi i kthyer djathtas) në mbajtës.
- ☐ 6 Vëzhgoni hapat e automatizuara.
- ☐ 7 Kur të mbaroni, klikoni **Unload** (Shkarkoni) për të shkarkuar kuvertën.
- ☐ 8 Hiqni pllakën me pus të thellë të Plazmës së ndërmjetme.
  - ☐ a Inspektoni pllakën për vëllime të qëndrueshme.
  - ☐ b Vini re çdo mospërputhje.
  - ☐ c Vulosni pllakën, ngarkoni me ekuilibër dhe centrifugoni në  $5600 \times g$  për 10 minuta.
- ☐ 9 Klikoni **Yes** (Po).
- ☐ 10 Hiqni vulën e pllakës dhe rivendosni pllakën në mbajtës.
- ☐ 11 Vëzhgoni hapat e automatizuara.
- ☐ 12 Kur të mbaroni, klikoni **Unload** (Shkarkoni) për të shkarkuar kuvertën.
- ☐ 13 Kur kërkohet nga Menaxheri i rrjedhës së punës, zbrazni mbajtësit dhe kuvertën.
- ☐ 14 Hiqni pllakën e pusit të thellë të Plazmës përfundimtare.
- ☐ 15 Inspektoni pllakën për vëllime të qëndrueshme, toptha të dukshëm të qelizave dhe hemolizë të tepërt.
- ☐ 16 Zhvlerësoni mostrat me një topth qelizor të dukshëm ose hemolizë të tepërt.
- ☐ 17 Futni komente për pusët e prekur.

### PIKË E SIGURT NDALIMI

Nëse po ndaloni, vulosni pllakën Plazma përfundimtare dhe ruajeni në  $2^{\circ}\text{C}$  deri në  $8^{\circ}\text{C}$  për deri në 7 ditë.

## Solution v2

### Nxirrni cfDNA

- ☐ 1 Ngarkoni majat.
- ☐ 2 Futni vendndodhjen e majave të para dhe të fundit për çdo raft maje.
- ☐ 3 Skanoni barkodet të Kutisë së nxjerrjes.
- ☐ 4 Futni emrin e përdoruesit ose inicialet e përgatitësit të reagentit.
- ☐ 5 Skanoni barkodet të Kutisë së aksesorëve.
- ☐ 6 Futni emrin e përdoruesit ose inicialet e përgatitësit të reagentit.
- ☐ 7 Zhvulosni pllakën me pus të thellë të Plazmës përfundimtare dhe vendosni pllakat (barkod i kthyer djathtas) në mbajtësin.
- ☐ 8 Për grupet e pjesshëm të pllakave, përdorni një vulë të pllakës së prerë mbi puset e papërdorura (kolonat 4-12 për 24 grupe mostrash dhe kolonat 7-12 për 48 grupe mostrash).
- ☐ 9 Vendosni pllakën lidhëse të ADN-së në kolektorin e vakumit.
- ☐ 10 Zgjidhni kutinë e zgjedhjes të **Are DNA Bindin Plate Columns Sealed?** (A janë kolonat pllakave lidhëse të mbyllura të ADN-së) dhe më pas klikoni **OK**.
- ☐ 11 Hidhni reagentët në vaska dhe ngarkoni.
- ☐ 12 Transferoni reagentët në rezervuarët e puseve të thella dhe ngarkoni.
- ☐ 13 Prisni që kontrolli i vëllimit të reagentit të përfundojë.
- ☐ 14 Konfirmimi që mbetjet e vakumit nuk janë më shumë se gjysma e mbushur (rekomandohet bosh).
- ☐ 15 Vëzhgoni hapave të automatizuar.
- ☐ 16 Centrifugoni Pllakën lidhëse të ADN-së në 5600 × g për 10 minuta.

- ☐ 17 Gjatë centrifugimit, pastroni vakumin me EtOH 70%.
- ☐ 18 Pas centrifugimit, hapni puset që përmbajnë mostra në Pllakën e lidhjes së ADN-së dhe vendosini mbi pllakën e Elucionit të cfDNA-së.
- ☐ 19 Vëzhgoni hapave të automatizuar.
- ☐ 20 Pas inkubimit, zgjidhni kutinë e zgjedhjes **Plates are assembled as indicated** (Pllakat janë montuar siç tregohet).
- ☐ 21 Centrifugoni Pllakën lidhëse të ADN-së në 5600 xg për 2 minuta.
- ☐ 22 Inspektoni pllakën e Elucionit të cfDNA-së për vëllime të qëndrueshme.
- ☐ 23 Mbyllni dhe ruani pllakën e Elucionit të cfDNA-së për përgatitjen e bibliotekës.
- ☐ 24 Kur të mbaroni, klikoni **Unload** (Shkarkoni) për të shkarkuar kuvertën.
- ☐ 25 Shkarkoni të gjithë transportuesit dhe pastroni ML STAR kuvertë.
- ☐ 26 Futni komente për puset e prekur.
- ☐ 27 Kryeni një nga hapat e mëposhtëm:
  - ▶ Për të vazhduar te Përgatitja e bibliotekave, klikoni **Yes** (Po).
  - ▶ Për të ndaluar, klikoni **Exit** (Dilni).

### PIKË E SIGURT NDALIMI

Nëse ndaloni, vulosni pllakën e Elucionit të cfDNA-së dhe ruajeni në -25°C deri në -15°C për deri në 7 ditë.

### Përgatitni bibliotekat

- ☐ 1 Skanoni barkodet të Kutisë së përg. së bibliotekës.
- ☐ 2 Futni emrin e përdoruesit ose inicialet e përgatitësit të reagentit.
- ☐ 3 Skanoni barkodet të Kutisë së aksesorëve.
- ☐ 4 Futni emrin e përdoruesit ose inicialet e përgatitësit të reagentit.
- ☐ 5 Ngarkoni majat.
- ☐ 6 Futni vendndodhjen e majës së parë për çdo raft maje.
- ☐ 7 Load plates.
- ☐ 8 Hidhni reagentët në rezervuarët e thellë të pusit dhe vendosni.
- ☐ 9 Hidhni reagentët në vaska dhe ngarkoni.
- ☐ 10 Prisni që kontrolli i vëllimit të reagentit të përfundojë.
- ☐ 11 Vëzhgoni hapave të automatizuar.
- ☐ 12 Kur të mbaroni, klikoni **Unload** (Shkarkoni) për të shkarkuar kuvertën.
- ☐ 13 Inspektoni Pllakën e bibliotekave për vëllime të qëndrueshme.
- ☐ 14 Nëse e ruani, vulosni dhe ruani Pllakën e bibliotekave.
- ☐ 15 Shkarkoni transportuesit pastroni kuvertën dhe.
- ☐ 16 Futni komente për puset e prekur.
- ☐ 17 Kryeni një nga hapat e mëposhtëm:
  - ▶ Për të vazhduar me Kuantifikimin e bibliotekave, klikoni **Yes** (Po).
  - ▶ Për të ndaluar, klikoni **Exit** (Dilni).
- ☐ 18 Nëse nuk ndaloni, vazhdoni menjëherë me kuantifikimin.

## PIKË E SIGURT NDALIMI

Nëse jeni duke ndaluar, vulosni Pllakën e bibliotekave përpara se ta ruani. Pllaka e bibliotekave është e qëndrueshme deri në 7 ditë nga data e përgatitjes në -25°C deri në -15°C.

## Bibliotekat e kuantifikimit

- ☐ 1 Skanoni barkodet të Kutisë së aksesorëve.
- ☐ 2 Futni emrin e përdoruesit ose inicialet e përgatitësit të reagentit.
- ☐ 3 Vendosni majat në mbajtësin e majave.
- ☐ 4 Zhvulosni pllakën e Bibliotekavedhe më pas vendosni pllakat.
- ☐ 5 Ngarkoni tubat e reagentit pa kapakë.
- ☐ 6 Hidhni reagentët në vaskat e reagentëve dhe ngarkojini.
- ☐ 7 Prisni që kontrolli i vëllimit të reagentit të përfundojë.
- ☐ 8 Vëzhgoni hapave të automatizuar.
- ☐ 9 Kur të mbaroni, klikoni **Unload** (Shkarkoni) për të shkarkuar kuvertën.
- ☐ 10 Shkarkoni pjatën e Bibliotekave, kontrolloni për vëllime të qëndrueshme, mbylleni dhe ruajeni në temperaturën e dhomës.
- ☐ 11 Shkarkoni pllakat me 96 puse dhe kontrolloni për vëllime të qëndrueshme
- ☐ 12 Shkarkoni pllakën me 384 puse dhe kontrolloni për lëngje në pusët e duhur.
- ☐ 13 Mbyllni pjatën me një vulë të fletës metalike.
- ☐ 14 Centrifugoni në 1000 × g për 20 sekonda.
- ☐ 15 Inkuboni në temperaturën e dhomës për 10 minuta, të mbrojtur nga drita.
- ☐ 16 Shkarkoni të gjithë transportuesit dhe pastroni ML STAR kuvertë.
- ☐ 17 Pas inkubimit, hiqni vulën e fletës metalike dhe vendosni pllakën me 384 puse në lexuesin e mikropllakës.
- ☐ 18 Klikoni dy herë shabllonin VeriSeq NIPT për ta hapur atë në SoftMax Pro.
- ☐ 19 Zgjidhni **New Experiment** (Experiment i Ri) në skedën Home.

- ☐ 20 Zgjidhni **Read** (Lexoni).
- ☐ 21 Eksportoni të dhënat si XML si më poshtë.
  - ☐ a Klikoni me të djathtën në **Plate** (Pllaka) dhe më pas zgjidhni **Rename** (Riemërtoni).
  - ☐ b Skanoni barkodin të pllakës së Kuantifikimit dhe më pas klikoni **OK**.
  - ☐ c Në këndin e sipërm majtas të ekranit, klikoni ikonën e pllakës dhe më pas zgjidhni **Export** (Eksportoni) nga menyja.
  - ☐ d Zgjidhni kutinë e kontrollit të **Expt name** (Emri Expt), vendosni opsionin e datës së pllakës në të papërpunuar, vendosni formatin e daljes në XML dhe më pas klikoni **OK**.
  - ☐ e Vendosni shtegun dhe emrin e skedarit të daljes dhe më pas klikoni **Save** (Ruaj).
- ☐ 22 Në ML STAR, futni ID e fluorometrit, futni komentet për ekzekutimin dhe vendosni dosjen XML.
- ☐ 23 Rishikoni.
- ☐ 24 Futni komente për pusët e prekur.
- ☐ 25 Vlerësoni rezultatet.
  - ▶ Nëse rezultatet kalojnë specifikimet, vazhdoni te Bibliotekat e bashkimit. Për specifikimet, shihni tabelat e metrikës dhe kufijve të QC të sasisë në Udhëzuesi i softuerit të VeriSeq NIPT Solution v2 (dokumenti # 1000000067940).
  - ▶ Nëse rezultatet dështojnë në specifikimin, sistemi anulon metodën. Përsëritni procedurat e kuantifikimit duke filluar me *Përgatitja në faqen 1*.
- ☐ 26 Kryeni një nga hapat e mëposhtëm:

- ▶ Për të vazhduar te Bibliotekat e bashkimit, klikoni **Yes** (Po).
- ▶ Për të ndaluar, klikoni **Exit** (Dilni).

### PIKË E SIGURT NDALIMI

Nëse jeni duke ndaluar, mbylleni pllakën dhe ruajeni në -25°C deri në -15°C për deri në 7 ditë.

### Bibliotekat e bashkimeve

- ☐ 1 Vendoseni Pllakën e bibliotekave në cikluesin termik dhe ekzekutoni programin e denatyrimit.
- ☐ 2 Centrifugoni pllakën e Bibliotekave në 1000 × g për 20 sekonda.
- ☐ 3 Zgjidhni përqendrimin e bashkimit.
- ☐ 4 Ngarkoni një fletë të mostrës ose përdorni standardin.
- ☐ 5 Zgjidhni **Start** (Filloni).
- ☐ 6 Ngarkoni majat.
- ☐ 7 Ngarkoni pllakën e Bibliotekës së denatyruar.
- ☐ 8 Ngarkoni tubat e bashkimit.
- ☐ 9 Hidhni reagentët në vaskat e reagentëve dhe ngarkojini.
- ☐ 10 Ngarkoni majat.
- ☐ 11 Futni vendndodhjen e majave të para dhe të fundit për çdo raft majash.
- ☐ 12 Vëzhgoni hapave të automatizuar.
- ☐ 13 Futni komente për puset e prekur.
- ☐ 14 Kur të përfundoni, zgjidhni **Unload** (Shkarkoni) për të shkarkuar kuvertën.
- ☐ 15 Shkarkoni mbajtësin e tubit.
- ☐ 16 Mbyllni çdo tub të bashkimit, vorbulloni dhe më pas centrifugoni shkurtimisht.
- ☐ 17 Klikoni **OK**.
- ☐ 18 Bëni sekuencë të bibliotekave sa më shpejt të jetë e mundur pas bashkimit. Nëse është e nevojshme, vulosni Pllakën e bibliotekave dhe ruajeni në -25°C deri në -15°C për deri në 7 ditë ruajtje kumulative për të lejuar ribashkimin.

### PIKË E SIGURT NDALIMI

Nëse jeni duke ndaluar, mbyllni tubat e bashkimit dhe ruajini në -25°C deri në -15°C për deri në 7 ditë.

## Përgatitni Bibliotekat e bashkuara për sekuencë

- 1 Shtoni materialet konsumuese të mëposhtme në fishekun e reagentit dhe më pas hidheni me pipetë për t'u përzier.
  - Ndarës hibridizimi 900 µl
  - Bashkimi A 450 µl
- 2 Vazhdoni me sekuencën në një sistem sekuence i gjeneratës tjetër.
- 3 Nëse është e nevojshme, përsërisni këtë procedurë për Bashkimin B.
  - Për të arritur diapazonin e densitetit të grupit të synuar, pllaka e bibliotekës mund të ribashkohet duke përdorur një përqendrim të ndryshëm bashkimi në Hamilton. Ribashkimi zhvlerëson grupin origjinal.
  - Përndryshe, raporti i bashkimit ndaj HT1 (450+900ul) mund të modifikohet për të arritur diapazonin e densitetit të grupit të synuar.