Vinnsla sýna

- ☐ 1 Ljúktu eftirfarandi skrefum fyrir hvern skammt:
  - ☐ a Skiljið við 1.600 × g fyrir 10 mínútur við 4°C.
  - ☐ b Byrjaðu einangrun plasma innan 15 mínútna.
- ☐ 2 Skoðaðu til að staðfesta að hvert rör innihaldi að minnsta kosti 1,5 ml af plasma fyrir ofan stærra hjúpinn.
- ☐ 3 Taktu lokið af rörunum og settu þau í rörhaldarana.

Einangra plasma

- ☐ 1 Sláðu inn auðkenni rununnar og notandanafn.
- ☐ 2 Hladdu inn sýnablaði eða smelltu á **No Sampel Sheet** (Ekkert sýnablað).
- ☐ 3 Veldu stærð runu.
- ☐ 4 Veldu fjölda sýna án samanburðarsniðmáts (NTC, no template control).
- ☐ 5 Setja sýnin, oddana og plöturnar (með strikamerkin til hægri) á haldarann.
- ☐ 6 Fylgstu meðsjálfvirku aðgerðirnar.
- ☐ 7 Þegar því er lokið skaltu smella á **Unload** (Afferma) til að afferma dekkið.
- ☐ 8 Fjarlægðu djúpbrunnsplötuna fyrir millistigsplasma.
  - ☐ a Skoðaðu plötuna til að tryggja að sama rúmmál.
  - ☐ b Taktu eftir öllu ósamræmi.
  - ☐ c Innsiglaðu plötuna, settu jafnvægisþyngd á hana og keyrðu skilvinduna við 5.600 × g í 10 mínútur.
- ☐ 9 Smelltu á **Yes**.
- ☐ 10 Fjarlægðu innsiglið af plötunni og settu plötuna aftur á haldarann.
- ☐ 11 Fylgstu með sjálfvirku aðgerðirnar.
- ☐ 12 Þegar því er lokið skaltu smella á **Unload** (Afferma) til að afferma dekkið.
- ☐ 13 Þegar verkflæðisstjórinn óskar eftir því skaltu tæma haldarana og dekkið.
- ☐ 14 Fjarlægðu djúpbrunnsplötuna fyrir lokaplasma.
- ☐ 15 Skoðaðu plötuna samræmis í rúmmáli, sýnilegra frumukorna og of mikils rauðkornarofs.
- ☐ 16 Ógiltu sýni með sýnilegum frumukornum eða of miklu rauðkornarofi.
- ☐ 17 Sláðu inn athugasemdir við viðkomandi brunna.

ÖRUGGUR STAÐUR TIL AÐ HÆTTA

Ef þú ætlar að hætta skaltu innsigla plötuna fyrir lokaplasma og geyma hana við 2°C til 8 °C í allt að 7 daga.

Draga út cfDNA

- ☐ 1 Settu oddana.
- ☐ 2 Sláðu inn staðsetningu fyrsta og síðasta oddsins fyrir hvern oddarekka.
- ☐ 3 Skannaðu strikamerkin á útdráttarkassanum.
- ☐ 4 Sláðu inn notandanafn eða upphafsstafi undirbúningsaðila prófefnanna.
- ☐ 5 Skannaðu strikamerkin á fylgihlutakassanum.
- ☐ 6 Sláðu inn notandanafn eða upphafsstafi undirbúningsaðila prófefnanna.
- ☐ 7 Opnaðu innsiglið á djúpbrunnsplötunni fyrir lokaplasma settu plöturnar (með strikamerkið til hægri) á.
- ☐ 8 Þegar aðeins hluti af plötunni er nýttur í runu skaltu láta tilklippt plötuinnsigli yfir ónotaða brunna (dálkar 4-12 fyrir runur með 24 sýni og dálkar 7-12 fyrir runur með 48 sýni).
- ☐ 9 Settu DNA-bindiplötuna á lofttæmisgreinina.
- ☐ 10 Hakaðu við gátreitinn **Are DNA Binding Plate Columns Sealed?** (Eru dálkar DNA-bindiplötu innsiglaðir?) og smelltu síðan á **OK** (Í lagi).
- ☐ 11 Helltu prófefnunum í ílát og láttu þau í.
- ☐ 12 Færðu prófefnin í djúpbrunnageyma og láttu þá í.
- ☐ 13 Bíddu eftir að athugun á rúmmáli prófena ljúki.
- ☐ 14 Staðfestu að úrgangsflaska fyrir lofttæmi sé ekki meira en hálffull (mælt er með að hún sé tóm).
- ☐ 15 Fylgstu sjálfvirku aðgerðirnar eru framkvæmdar.
- ☐ 16 Settu DNA-bindiplötuna í skilvindu við 5.600 × g í 10 mínútur.
- ☐ 17 Hreinsaðu lofttæmið með 70% EtOH meðan skilvindan vinnur.
- ☐ 18 Eftir skilvindan er búin skaltu opna brunnana sem innihalda sýni á DNA-bindiplötunni og setja hana ofan á cfDNA-skolunarplötuna.
- ☐ 19 Fylgstu sjálfvirku aðgerðirnar eru framkvæmdar.
- ☐ 20 Eftir kvíun skaltu haka við gátreitinn **Plates are assembled as indicated**.
- ☐ 21 Settu DNA-bindiplötuna í skilvindu við 5.600 x g í 2 mínútur.
- ☐ 22 Athugaðu hvort sama rúmmál sé á cfDNA-skolunarplötunni.
- ☐ 23 Innsiglaðu og geymdu cfDNA-skolunarplötuna fyrir undirbúning safnsins.
- ☐ 24 Þegar því er lokið skaltu smella á **Unload** (Afferma) til að afferma dekkið.
- ☐ 25 Affermdu alla haldara og hreinsaðu dekkið á ML STAR .
- ☐ 26 Sláðu inn athugasemdir við viðkomandi brunna.
- ☐ 27 Framkvæmdu eitt af eftirfarandi skrefum:
  - Smelltu á **Yes** (Já) til að halda áfram að undirbúa söfn.
  - Smelltu á **Exit** (Hætta) til að hætta.

ÖRUGGUR STAÐUR TIL AÐ HÆTTA

Ef þú ætlar að hætta skaltu innsigla cfDNA-skolunarplötuna og geyma hana við -25°C til -15°C í allt að 7 daga.

Undirbúa söfn

- ☐ 1 Skannaðu strikamerkin í safnundirbúningskassanum.
- ☐ 2 Sláðu inn notandanafn eða upphafsstafi undirbúningsaðila prófefnanna.
- ☐ 3 Skannaðu strikamerkin á fylgihlutakassanum.
- ☐ 4 Sláðu inn notandanafn eða upphafsstafi undirbúningsaðila prófefnanna.
- ☐ 5 Settu oddana.
- ☐ 6 Sláðu inn staðsetningu fyrsta oddsins fyrir hvern oddarekka.
- ☐ 7 Settu síðan plöturnar.
- ☐ 8 Helltu prófefnum í djúpbrunnageymana og láttu í.
- ☐ 9 Helltu prófefnunum í ílát og láttu þau í.
- ☐ 10 Bíddu eftir að athugun á rúmmáli prófena ljúki.
- ☐ 11 Fylgstu með sjálfvirku aðgerðirnar eru framkvæmdar.
- ☐ 12 Þegar því er lokið skaltu smella á **Unload** (Afferma) til að afferma dekkið.
- ☐ 13 Athugaðu hvort sama rúmmál sé á safnplötunni.
- ☐ 14 Ef þú ætlar að geyma safnplötuna skaltu innsigla hana og halda henni til haga.
- ☐ 15 Affermdu alla haldaraog hreinsaðu dekkið.
- ☐ 16 Sláðu inn athugasemdir við viðkomandi brunna.
- ☐ 17 Framkvæmdu eitt af eftirfarandi skrefum:
  - Smelltu á **Yes** (Já) til að halda áfram að magngreina söfn.
  - Smelltu á **Exit** (Hætta) til að hætta.
- ☐ 18 Haltu strax áfram með magngreiningu nema þú ætlir að hætta.

ÖRUGGUR STAÐUR TIL AÐ HÆTTA

Ef þú ert að hætta skaltu innsigla safnplötuna fyrir geymslu. Safnplatan helst stöðug í allt að 7 daga frá undirbúningsdegi við -25°C til -15°C.

Magngreina söfn

- ☐ 1 Skannaðu strikamerkin á fylgihlutakassanum.
- ☐ 2 Sláðu inn notandanafn eða upphafsstafi undirbúningsaðila prófefnanna.
- ☐ 3 Settu oddana í oddhaldarana.
- ☐ 4 Opna safnplötuna og settu plöturnar síðan í.
- ☐ 5 Settu prófefnarör án tappa.
- ☐ 6 Helltu prófefnunum í ílát fyrir prófefni og láttu þau í.
- ☐ 7 Bíddu eftir að athugun á rúmmáli prófena ljúki.
- ☐ 8 Fylgstu sjálfvirku aðgerðirnar eru framkvæmdar.
- ☐ 9 Þegar því er lokið skaltu smella á **Unload** (Afferma) til að afferma dekkið.
- ☐ 10 Affermdu safnplötuna út, athugaðu hvort sama rúmmál sé í öllum brunnum, innsiglaðu hana og geymdu við stofuhita.
- ☐ 11 Affermdu plötunum með 96 brunnum og athugaðu hvort sama rúmmál sé
- ☐ 12 Affermdu plötuna með 384 brunnum úr og athugaðu hvort vökvi sé í viðeigandi brunnum.
- ☐ 13 Innsiglaðu plötuna með þynnuinnsigli.
- ☐ 14 Settu hana í skilvindu við 1.000 × g í 20 sekúndur.
- ☐ 15 Ræktaðu við stofuhita í 10 mínútur og verðu fyrir ljósi.
- ☐ 16 Affermdu alla haldara og hreinsaðu dekkið á ML STAR .
- ☐ 17 Eftir kvíun skaltu fjarlægja þynnuinnsiglið og setja plötuna með 384 brunnum á örplötulesarann.
- ☐ 18 Tvísmelltu á VeriSeq NIPT sniðmátið til að opna það í SoftMax Pro.
- ☐ 19 Veldu **New Experiment** (Ný tilraun) í flipanum Home (Heima).
- ☐ 20 Veldu **Read** (Lesa).
- ☐ 21 Flyttu gögnin út á XML-sniði á eftirfarandi hátt.
  - ☐ a Hægrismelltu á **Plate** (Plata) og veldu síðan **Rename** (Nefna aftur).
  - ☐ b Skannaðu strikamerkið á magngreiningarplötunni og smelltu síðan á **OK** (Í lagi).
  - ☐ c Efst í vinstra horninu á skjánum skaltu smella á plötutáknið og velja síðan **Export** (Flytja út) af valmyndinni.
  - ☐ d Hakaðu við gátreitinn **Expt name** (Heiti útflutnings), stilltu valkostinn fyrir dagsetningu plötu á raw (hrátt), stilltu úttakssniðið á XML og smelltu síðan á **OK** (Í lagi).
  - ☐ e Stilltu slóð og heiti úttaksskrárinnar og smelltu síðan á **Save** (Vista).
- ☐ 22 Sláðu inn á ML STAR auðkenni flúrskímumælisins, skrifaðu athugasemdir um keyrsluna og hladdu upp XML-skránni.
- ☐ 23 Farðu yfir niðurstöður greiningar á þéttni sýnis.
- ☐ 24 Sláðu inn athugasemdir við viðkomandi brunna.

- ☐ 25 Leggðu mat á niðurstöðurnar.
  - Ef niðurstöðurnar samræmast forskriftinni skaltu halda áfram í Samnýta söfn. Forskriftir má finna í töflu með mæligildum og mörkum fyrir gæðaeftirlit í Leiðarvísir fyrir hugbúnað VeriSeq NIPT Solution útgáfa 2 (skjal númer 1000000067940).
  - Ef niðurstöðurnar samræmast ekki forskriftinni hættir kerfið við aðferðina. Endurtaktu magngreiningarferlið frá og með *Undirbúningur* á blaðsíðu 1.
- ☐ 26 Framkvæmdu eitt af eftirfarandi skrefum:
  - Smelltu á **Yes** (Já) til að halda áfram í Samnýta söfn.
  - Smelltu á **Exit** (Hætta) til að hætta.

ÖRUGGUR STAÐUR TIL AÐ HÆTTA

Ef þú ætlar að hætta skaltu innsigla plötuna og geyma hana við -25°C til -15°C í allt að 7 daga.

Samnýta söfn

- ☐ 1 Settu safnplötuna á hitahringrásarvélina og keyrðu eðlisbreytingarforrit.
- ☐ 2 Settu safnplötuna í skilvindu við 1.000 × g í 20 sekúndur.
- ☐ 3 Veldu þéttni samsafnsins.
- ☐ 4 Hladdu inn sýnablaði eða notaðu sjálfgefin gildi.
- ☐ 5 Veldu **Start** (Byrja).
- ☐ 6 Settu talda oddana.
- ☐ 7 Settu eðlisbreyttu safnplötuna.
- ☐ 8 Settu safnrörin í rörhaldarana.
- ☐ 9 Helltu prófefnunum í ílát fyrir prófefni og láttu þau í.
- ☐ 10 Settu talda oddana.
- ☐ 11 Sláðu inn staðsetningu fyrsta og síðasta oddsins fyrir hvern oddarekka.
- ☐ 12 Fylgstu sjálfvirku aðgerðirnar eru framkvæmdar.
- ☐ 13 Sláðu inn athugasemdir við viðkomandi brunna.
- ☐ 14 Þegar því er lokið skaltu velja **Unload** (Afferma) til að afferma dekkið.
- ☐ 15 Affermdu rörhaldarann.
- ☐ 16 Lokaðu sérhverju safnröri, hvirfilblandaðu og settu síðan í skilvindu í stutta stund.
- ☐ 17 Smelltu á **OK** (Í lagi).
- ☐ 18 Raðgreindu söfn eins fljótt og auðið er eftir samnýtingu. Ef þróf krefur skaltu innsigla safnplötuna og geyma hana við -25°C til -15°C í allt að 7 daga samanlagt til að hægt sé að endurtaka samnýtingu.

ÖRUGGUR STAÐUR TIL AÐ HÆTTA

Ef þú ætlar að hætta skaltu setja lok á safnrörin og geyma þau við -25°C til -15°C í allt að 7 daga.

Undirbúa samsöfn fyrir raðgreiningu

- ☐ 1 Bætið eftirfarandi rekstrarvörum í prófefnishylkið og blandið síðan með pípettu.
  - 900 µl af blendingslausn
  - 450 µl af blöndu A
- ☐ 2 Haltu áfram með raðgreiningu á háhraðaraðgreiningarkerfi.
- ☐ 3 Ef nauðsyn krefur skaltu endurtaka þetta ferli fyrir samsafn B.
  - Til að ná markþéttleika klasa er hægt að samnýta safnplötuna aftur með því að nota mismunandi samnýtingarþéttni á Hamilton. Endurtekin samnýting ógildir upprunalegu samnýtinguna.
  - Einnig er hægt að breyta hlutfallinu milli safns og HT1 (450+900µl) til að ná markmiði um klasaþéttleika.