

Pakningsvedlegg

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK
KUN FOR EKSPORT

Tiltenkt bruk

NovaSeq 6000Dx-instrument er beregnet på sekvensering av DNA-biblioteker når det brukes sammen med *in vitro*-diagnostiske (IVD) analyser. NovaSeq 6000Dx-instrument er beregnet for bruk med spesifikke registrerte, sertifiserte eller godkjente IVD-reagenser og analytisk programvare.

Prosedyreprinsipper

Illumina® NovaSeq 6000Dx-instrument er beregnet for sekvensering av DNA-biblioteker med *in vitro* diagnostiske analyser. For inndata bruker NovaSeq 6000Dx biblioteker generert fra DNA der prøveindekser og innfangingssekvenser blir lagt til forsterkede mål. Prøvebiblioteker blir innfanget på en strømningscelle og sekvensert på instrumentet ved hjelp av sekvensering ved syntesekjemi (SBS). SBS-kjemi bruker en reversibel terminator metode for å påvise fluorescensmerkede, enkle nukleotidbaser idet de blir inkorporert i voksende DNA-strenger. Programvaren for sanntidsanalyse (Real-Time Analysis – RTA) utfører bildeanalyser og basebetegnelse, og den tildeler en kvalitetsscore til hver base for hver sekvenseringssyklus. Når primæranalysen er ferdig, kan sekundæranalyse utføres på de inkluderte og nødvendige Illumina DRAGEN Server for NovaSeq 6000Dx for å behandle basebetegnelser. NovaSeq 6000Dx bruker forskjellige moduler for sekundæranalyse avhengig av arbeidsprosessen. For DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen inkluderer behandlingen demultipleksing, FASTQ-filgenerering, justering, variantbetegnelse og generering av variantanropsformatfiler (VCF og gVCF). VCF- og gVCF-filene inneholder informasjon om enten kimlinje- eller somatiske varianter (avhengig av valgt arbeidsflyt) funnet på spesifikke posisjoner i et referansegenom.

Dobbel driftsmodus

NovaSeq 6000Dx inkluderer en enkelt oppstartsharddisk med separate *in vitro*-diagnostiske (IVD) og kun forskningsbruk (RUO) moduser. Modusen velges ved hjelp av en bryter på Sequencing (sekvenserings)skjermen. Den valgte modusen er tydelig merket i grensesnittet på alle skjermer. IVD-sekvenseringsanalyser, inkludert DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen i enten kimlinje- og eller somatiske arbeidsflyter, utføres i IVD-modus. Bare IVD-sekvenseringsreagenser kan brukes i IVD-modus. Ytelseskaraktistikker og prosedyrebegrensninger for NovaSeq 6000Dxer etablert ved bruk av DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen i IVD-modus.

Prosedyremessige begrensninger

1. Kun til *in vitro*-diagnostisk bruk.
2. DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen, når den brukes med NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser) og NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser), er i stand til å levere:
 - Utdata for sekvensering:
 - $\geq 1,0$ terabaser (TB) med S2-settet
 - $\geq 3,0$ TB med S4-settet
 - Avlesningslengde (i paired-end-kjøring) 2 x 150 basepar (bp).
 - Baser høyere enn Q30 ≥ 85 % ved avlesningslengde på 2 x 150 bp. Tilsvarende eller mer enn 85 % av basebetegnelse har Phred-kvalitetsscore høyere enn 30, noe som indikerer en basisbetegnelseøyaktighet større enn 99,9 %.
3. Innsetninger med lengde > 18 bp og delesjoner med lengde > 21 bp er ikke validert.
4. Store varianter, deriblant multinukleotidvarianter (MNV-er) og store indeler, kan rapporteres som separate mindre varianter i utdata-VCF-filen.
5. Små MNV-er rapporteres som separate varianter i VCF-utdatafilen.
6. Delesjoner rapporteres i VCF-filen ved koordinaten til den foregående basen etter VCF-format. Derfor bør det vurderes tilstøtende varianter før rapportering om at en individuell basebetegnelse er en homozygot referanse.
7. Kimbanespesifikke begrensninger:
 - NovaSeq 6000Dx som bruker Germline FASTQ- og VCF-generasjonsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen er designet for å levere kvalitative resultater for kimlinjevarianter (f.eks. homozygot, heterozygot, villtype).
 - Variasjon i kopinummer kan påvirke om en variant identifiseres som homozygot eller heterozygot.
 - Systemet vil ikke rapportere mer enn to varianter på et enkelt lokus, selv i nærvær av kopinummervariasjoner.
8. Somatisk spesifikke begrensninger:
 - NovaSeq 6000Dx som bruker Somatic FASTQ- og VCF-generasjonsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen er designet for å levere kvalitative resultater for somatisk variantbetegnelse (dvs. tilstedeværelse av en somatisk variant).
 - Arbeidsflyten for generasjonsanalyse for Somatic FASTQ og VCF kan ikke skille mellom kimlinje- og somatiske varianter. Arbeidsflyten er utformet for å påvise varianter over en rekke variantfrekvenser, men variantfrekvens kan ikke brukes til å skille mellom somatiske varianter og kimlinjevarianter.
 - Normalt vev i prøven påvirker påvisningen av varianter. Den rapporterte påvisningsgrensen er basert på en variantfrekvens i forhold til det totale DNA-et som ekstraheres fra både tumor og normalt vev.

- Hvis mer enn ett variantallel kalles på samme locus, vil ingen av allelene bli rapportert som passerende varianter. I stedet vil hele settet med alleler rapporteres, men filtreres via den multialleliske taggen.

Kvalitetskontrollprosedyrer

NovaSeq 6000Dx-programvaren evaluerer hver kjøring, prøve og basebetegnelse mot kvalitetskontrollmetrikk. Positive og negative kontroller anbefales i bibliotekets forberedelse og bør evalueres. Evaluer kontroller som følger:

- Negativ kontroll (kontroll uten mal) eller annen negativ kontroll— må generere forventet resultat. Hvis den negative kontrollen genererer et annet resultat enn forventet, kan det ha oppstått en feil i prøvesporing, feil registrering av indekseringsprimere eller kontaminering.
- Positiv kontrollprøve— må generere forventet resultat. Hvis den positive kontrollen genererer et annet resultat enn forventet, kan det ha oppstått en feil i prøvesporing eller feil registrering av indekseringsprimere.

Produktkomponenter

Illumina NovaSeq 6000Dx består av følgende:

1. NovaSeq 6000Dx-instrument (Katalognr. 20068232)
2. Programvarekomponenter for NovaSeq 6000Dx-instrument inkluderer følgende:

Programvareapplikasjon	Installasjonssted	Funksjon	Beskrivelse
NovaSeq Operating Software	NovaSeq 6000Dx	Kontroller for betjening av instrumentet	NovaSeq Operating Software (NVOS) styrer driften av instrumentet under sekvensering og generer bilder som brukes av Real-Time Analysis-programvaren (RTA).

Programvareapplikasjon	Installasjonssted	Funksjon	Beskrivelse
Sanntidsanalyseprogramvare (RTA)	NovaSeq 6000Dx	Utfører primæranalyse	RTA-programvaren konverterer bildene generert av NVOS for hver flis per syklus av sekvenseringskjøringen til basisanropsfiler. Basisanropsfilene er innganger for applikasjonsmodulene på Illumina DRAGEN Server for NovaSeq 6000Dx. RTA-programvaren inkluderer ikke et brukergrensesnitt.
Illumina Run Manager	Illumina DRAGEN Server	Kontroller kjøringssoppsett og administrasjon	Illumina Run Manager sørger for bruker- og instrumentadministrasjon, er vert for applikasjonsprogramvaren og muliggjør bruk av DRAGEN maskinvareakselererte genomikk- sekundære analysemoduler.

Driftsbetingelser

For mer informasjon om driftsforhold, se avsnittet om miljøhensyn i *NovaSeq 6000Dx-instrument Produktdokumentasjon*.

Element	Spesifikasjon
Temperatur	Oppretthold en laborietemperatur på 19 °C til 25 °C (22 °C ± 3 °C). Denne temperaturen er driftstemperaturområdet til instrumentet. Omgivelsestemperaturen må ikke få variere mer enn ± 2 °C under en kjøring.
Luftfuktighet	Oppretthold en ikke-kondenserende relativ luftfuktighet på 20–80 %. Systemet skal brukes i en driftshøyde på 2000 meter eller lavere.

Forbruksmateriell og utstyr

Denne delen viser alt som trengs for en NovaSeq 6000Dx-sekvenseringskjøring. Dette inkluderer Illumina-leverte forbruksmateriell og tilhørende forbruksmateriell og utstyr som du må kjøpe fra andre leverandører. Disse elementene er nødvendige for å fullføre protokollen og for å utføre vedlikehold og feilsøkningsprosedyrer.

For informasjon om symbolene på forbruksvarer eller forbruksmateriell, se [Illumina IVD-symbolnøkkel \(dokumentnr. 1000000039141\)](#).

Forbruksmaterieell for sekvensering

En NovaSeq 6000Dx-kjøring krever følgende komponenter:

- Bufferkassett
- Klyngekassett
- Strømningscelle
- Bibliotekrør
- SBS-kassett

NovaSeq 6000Dx-forbruksmaterieell er pakket i følgende konfigurasjoner. Hver komponent bruker radiofrekvensidentifikasjon (RFID) for nøyaktig sporing av forbruksmaterieell og kompatibilitet.

Tabell 1 Forbruksmaterieell skaffet av Illumina

Settnavn	Innhold	Illumina Katalognummer
NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser)	S2 klyngekassett S2-strømningscelle S2 SBS-kassett	20046931
NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser)	S4 klyngekassett S4-strømningscelle S4 SBS-kassett	20046933
NovaSeq 6000Dx S2 bufferkassett	S2 bufferkassett	20062292
NovaSeq 6000Dx S4 bufferkassett	S4 bufferkassett	20062293
NovaSeq 6000Dx bibliotekrør	Enkelt bibliotekrør	20062290
NovaSeq 6000Dx bibliotekrør, 24 stk	24 bibliotekrør	20062291

Når du mottar forbruksmaterieell, oppbevar komponentene umiddelbart ved den angitte temperaturen for å sikre riktig ytelse.



Tabell 2 NovaSeq 6000Dx settlagring

Forbruksmaterieell	Antall	Oppbevaringstemperatur	Lengde	Bredde	Høyde
Strømningscelle	1	2 °C til 8 °C	27,7 cm	17 cm	3,8 cm
Klyngekassett	1	-25 °C til -15 °C	29,5 cm	13 cm	9,4 cm
SBS-kassett	1	-25 °C til -15 °C	30 cm	12,4 cm	11,2 cm
Bufferkassett	1	15 °C til 30 °C	42,2 cm	20,6 cm	21,1 cm
Bibliotekrør	1	15 °C til 30 °C	4,1 cm	2,3 cm	12,4 cm

Detaljer om forbruksmaterieil

For å identifisere kompatible settkomponenter, er strømningsceller og kassetter merket med symboler som viser settmodus.

Tabell 3 Kompatibilitetsmerking

Sett-modus	Merking på etikett	Beskrivelse
S2-settkomponenter		S2-strømningscelle genererer opptil 4,1 milliarder enkeltavlesninger som passerer filter med utgang på opptil 1000 Gb ved 2 x 150 bp. S2-strømningscellen gir rask sekvensering for de fleste applikasjoner med høy gjennomstrømning.
S4-settkomponenter		S4-strømningscelle genererer opptil 10 milliarder enkeltavlesninger som passerer filter med utgang på opptil 3000 Gb ved 2 x 150 bp. S4-strømningscellen er en firefelts versjon av strømningscellen, designet for maksimal effekt.

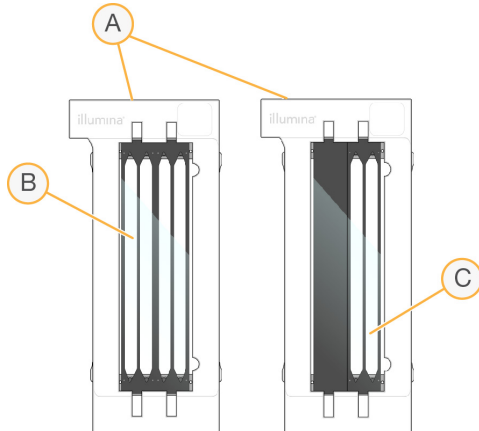
Strømningscelle

NovaSeq 6000Dx-strømningscellen er en mønstret strømningscelle innkapslet i en kassett. Strømningscellen er et glassbasert substrat som inneholder milliarder av nanobrønner i et ordnet arrangement. Klynger genereres i nanobrønnene hvorfra sekvensering deretter utføres.

Hver strømningscelle har flere baner for sekvensering av sammenslåtte biblioteker. S2-strømningscellen har to baner og S4-strømningscellen har fire. Hver bane er avbildet i flere skår, og programvaren deler deretter bildet av hvert skår i mindre deler kalt fliser.

Noen riper og andre mindre kosmetiske defekter på strømningscellen er normale og forventes ikke å kompromittere datakvaliteten og -ytelsen. Illumina anbefaler å bruke disse strømningscellene som normalt.

Figur 1 Strømningsceller



- A. Strømningscellekassett
- B. Firefelts strømningscelle (S4)
- C. To-felts strømningscelle (S2)

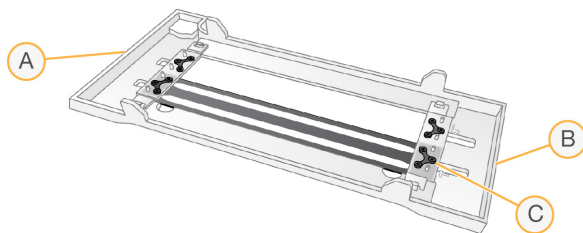
Undersiden av hver strømningscelle har flere pakninger. Biblioteker og reagenser kommer inn i strømningscellebanene gjennom pakningene på innløpsenden av strømningscellen. Brukte reagenser drives ut av banene gjennom pakningene i utløpsenden.



FORSIKTIGHET

Unngå å berøre pakningene når du håndterer strømningscellen.

Figur 2 Invertert strømningscelle



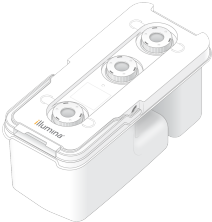


- A. Utløpsende
- B. Innløpsende
- C. Pakning (en av fire)

Buffer-, klynge- og SBS-kassettdetaljer

NovaSeq 6000Dx-buffere, klyngen og SBS-kassetten har folieforseglingsreservoarer forhåndsfylt med reagenser, buffere og vaskeløsning. Klynge- og SBS-kassetter er inkludert med NovaSeq 6000Dx-reagenssett. Bufferkassetten selges separat.

Kassetten lastes direkte på instrumentet og er fargekodet og merket for å redusere lastefeil. Førere i reagenskjøleren og bufferskuffene sikrer riktig orientering.

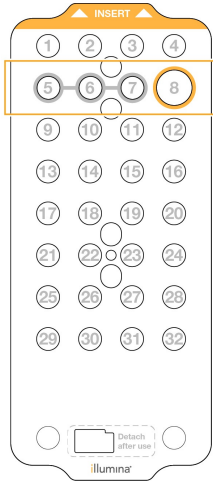
Tabell 4 NovaSeq 6000Dx Kasset

Forbruksmateriell	Beskrivelse
 <p>Bufferkassetten</p>	<p>Forhåndsfylt med sekvenseringsbuffere og veier opptil 6,8 kg (15 lb). Et plasthåndtak gjør det lettere å bære, laste og losse.</p> <p>Bufferkassetten inneholder reagenser som er følsomme for lys. Oppbevar bufferbeholderen pakket frem til bruk.</p>
 <p>Klyngekassetten</p>	<p>Forhåndsfylt med klynger, indeksering og parede reagenser og vaskeløsning. Inkluderer en angitt posisjon for bibliotekrøret. Oransje merking skiller klyngekassetten fra SBS-kassetten.</p> <p>Et denatureringsreagens i posisjon nr.30 inneholder formamid, som er et organisk amid og reproduktivt toksin. For å forenkle sikker avhending av ubrukt reagens etter sekvenseringskjøringen, kan dette reservoaret tas ut.</p>
 <p>SBS-kassetten</p>	<p>Forhåndsfylt med sekvenseringsreagenser i volumer spesifikt for antall sykluser settet støtter. Hver av de tre reagensposisjonene har en tilstøtende posisjon reservert for den automatiske etterkjøringsvasken. Grå merking skiller SBS-kassetten fra klyngekassetten.</p> <p>SBS-kassetten inneholder reagenser som er følsomme for lys. Oppbevar SBS-beholderen pakket frem til bruk.</p>

Reserverte klyngekassettreservoarer

Tre reservoarer er reservert for tilpassede primere og en tom posisjon er reservert for bibliotekrøret. For prøvesporbarhet lastes biblioteksrøret inn i klyngekassetten under kjøringssoppsett og forblir med kassetten gjennom slutten av kjøringen.

Figur 3 Nummererte brønner



Tabell 5 Klyngekassettereservoarer

Posisjon	Reservert For
5, 6, og 7	Valgfrie tilpassede primere
8	Bibliotekrør

Brukerlevert forbruksmaterieell og utstyr

Tabell 6 Forbruksmaterieell

Forbruksmaterieell	Leverandør	Formål
Sentrifugeflaske, 500 ml	Generell laboratorieleverandør	Fortynning av Tween 20 for en vedlikeholdsvask.
Sentrifugerør, 30 ml	Generell laboratorieleverandør	Fortynning av NaOCl for vedlikeholdsvask.
Engangshansker, puddefrie	Generell laboratorieleverandør	Generelt formål.
Servietter med isopropylalkohol, 70 % eller Etanol alkoholservietter, 70 %	VWR, katalognr. 95041-714, eller tilsvarende Generell laboratorieleverandør	Rengjøring av komponenter før en kjøring og generell bruk.
Laboratorieklut, lavt loinnhold	VWR, katalognr. 21905-026, eller tilsvarende	Tørking av strømningscellestadiet og generell bruk.
Reagenskvalitet NaOCl, 5 %	Sigma-Aldrich, katalognr. 239305	Utføre en vedlikeholdsvask.

Forbruksmateriell	Leverandør	Formål
Dråpetellerspisser, 2 µl	Generell laboratorieleverandør	Pipettering for fortytning og lasting av biblioteker.
Dråpetellerspisser, 20 µl	Generell laboratorieleverandør	Pipettering for fortytning og lasting av biblioteker.
Dråpetellerspisser, 200 µl	Generell laboratorieleverandør	Pipettering for fortytning og lasting av biblioteker.
Dråpetellerspisser, 1000 µl	Generell laboratorieleverandør	Pipettering for fortytning og lasting av biblioteker.
Reagens eller spektrofotometrisk isopropylalkohol (99 %), 100 ml flaske	Generell laboratorieleverandør	Rengjør optikkkomponenter med jevne mellomrom og støtt den objektive rengjøringskassetten.
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalognr. P7949	Utføre en vedlikeholdsvask.
Vann, laboratoriekvalitet	Generell laboratorieleverandør	Fortynning av Tween 20 og natriumhypokloritt for vedlikeholdsvask.

Tabell 7 Utstyr

Artikkel	Kilde
Fryser, -25 °C til -15 °C	Generell laboratorieleverandør
Gradert sylinder, 500 ml, steril	Generell laboratorieleverandør
Isbøtte	Generell laboratorieleverandør
Dråpeteller, 20 µl	Generell laboratorieleverandør
Dråpeteller, 200 µl	Generell laboratorieleverandør
Dråpeteller, 1000 µl	Generell laboratorieleverandør
Kjøleskap, 2 °C til 8 °C	Generell laboratorieleverandør
Kar, vannbad*	Generell laboratorieleverandør

* Bruk et badekar som har plass til to reagenskassetter og riktig vannstand. For eksempel (61 cm × 91,4 cm × 25,4 cm)

Retningslinjer for vann av laboratoriekvalitet

Det må alltid brukes vann av laboratoriekvalitet eller deionisert vann for å utføre instrumentprosedyrer. Aldri bruk vann fra springen. Bruk kun vann av følgende kvalitet eller tilsvarende:

- Deionisert vann
- Illumina PW1
- 18 Megohms (MΩ) vann
- Milli-Q-vann
- Super-Q-vann
- Vann til molekylærbiologi

Bruksanvisning

Følgende instruksjoner er for å kjøre NovaSeq 6000Dx-instrument i IVD-modus med bruk av enten S2- eller S4-settkonfigurasjonene.

Lag en sekvenseringskjøring

Bruk følgende trinn for å lage en kjøring ved å bruke Illumina Run Manager i enten IVD- eller RUO-modus. Alternativt kan du velge **Import Run** (Importer kjøring) på fanen Planned (Planlagt) på Runs (Kjøringer)-siden og importere et eksempelark. Opprett nye kjøringene enten på instrumentet eller ved å få tilgang til Illumina Run Manager ved hjelp av en nettleser på en nettverkstilkoblet datamaskin.

MERK Den nøyaktige informasjonen som kreves av hver analyseapplikasjon er forskjellig, men prosessen for å lage en kjøring inkluderer følgende trinn.

1. Fra Planned (Planlagt)-fanen på Runs (Kjøringer)-skjermen velger du **Create Run** (Opprett kjøring).
2. Velg et program, og velg deretter **Next** (Neste).
3. Fortsett gjennom innstillings skjermene. Avhengig av applikasjonen din kan skjerm bildene som vises inneholde følgende:
 - **Run Settings** (Kjøreinstillinger)—Angi kjøreparametere.
 - **Sample Data** (Prøvedata)—Angi prøvedata manuelt eller ved å importere en CSV-fil som inneholder prøveinformasjon. Prøvenavn må være unike.
 - **Analysis settings** (Analyseinnstillinger)—Angi innstillinger for analyse.
4. Gå gjennom kjøring sin informasjon på Review (gjennomgangs) skjermen og velg **Save** (Lagre). Løpet legges til øverst i kjøring slisten på fanen Planned (Planlagt).

Forbered forbruksmaterieill

Tine SBS- og klyngekassetter

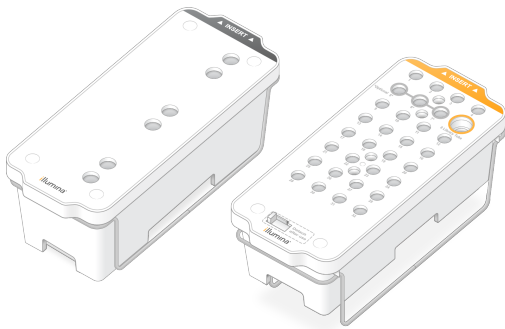


FORSIKTIGHET

Bruk av varmt vann til å tine reagenser kan føre til redusert datakvalitet eller kjøringsfeil.

1. Hvis en sekvenseringskjøring pågår, sørg for at begge sider av instrumentet er tilgjengelige når tiningen er fullført.
2. Fjern SBS- og klyngekassetene fra -25 °C til -15 °C lagring.
3. Plasser hver kassett i en tinstativtrist.
Stativene er utstyrt med instrumentet og forhindrer kantring i vannbadet.

Figur 4 Kassetter i tinstativrister



4. Bruk følgende tabell for å bestemme tinevarigheten.
Tin SBS- og klyngekassetter i et romtemperatur (19 °C til 25 °C) vannbad som følger. Senk kassetene ned omtrent halvveis.

Kassett	Varighet av opptining
S2 SBS-kassett	4 timer
S2 klyngekassett	Opptil 2 timer
S4 SBS-kassett	4 timer
S4 klyngekassett	Opptil 4 timer



FORSIKTIGHET

Unnlattelse av å starte sekvensering innen fire timer etter tining av reagenskassetter kan føre til redusert datakvalitet.

5. Tørk kassettbunnene grundig med papirhåndklær. Tørk mellom brønnene slik at alt vann fjernes.
6. Inspiser folieforseglingen for vann. Hvis vann er tilstede, tørk med en lofri serviett.

7. Inspiser undersiden av hver kassett for å sikre at reservoarene er fri for is, noe som indikerer at reagensene er tint.
8. Snu hver kassett 10 ganger for å blande reagenser.

**FORSIKTIGHET**

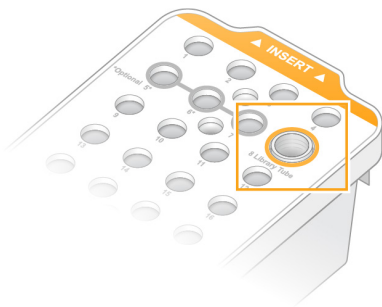
Unnlatelse av å snu kassetten grundig kan føre til redusert datakvalitet.

9. Dunk forsiktig bunnen av hver kassett på benken for å redusere luftbobler.

Last inn biblioteksrøret

1. Uten å forstyrre biblioteket i bunnen, sett inn biblioteksrøret uten lokk som inneholder det denaturerte og fortynnede bibliotekbassenget i **bibliotekrør**posisjonen (nr.8) på klyngekassetten.
2. Sett inn biblioteksrøret i posisjon nr.8 på klyngekassetten.

Figur 5 Ulukket bibliotekrør lastet inn i posisjon nr.8

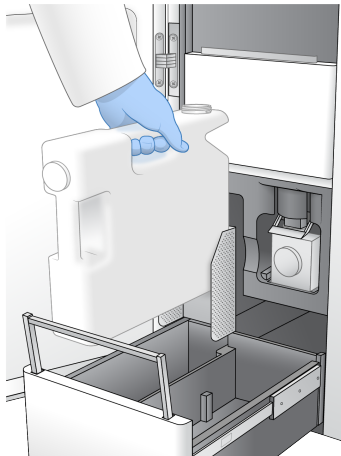
**Tømme brukte reagensflasker**

Bruk følgende instruksjoner for å tømme de brukte reagensflaskene ved *hver* sekvensering. Hvis systemet ditt er konfigurert til å rute brukte reagenser eksternt, samler den lille flasken opp brukte reagenser og må tømmes for hver sekvenseringskjøring. Den store flasken må på plass.

1. Fjern og tøm den lille brukte reagensflasken som følger.
 - a. Løft spaken og fjern den lille brukte reagensflasken fra alkoven. Ta tak i flasken i sidene.
 - b. Fjern den gjengede korken fra hetteholderen foran på flasken.
 - c. Forsegl flaskeåpningen med korken for å unngå søl.
 - d. Hold innholdet atskilt fra innholdet i den andre flasken, kast i samsvar med gjeldende standarder for din region.
 - e. Sett flasken uten lokk tilbake i alkoven, og senk deretter spaken. Oppbevar hetten på hetteholderen.
2. Fjern og tøm den store brukte reagensflasken som følger.

- a. Bruk det øverste håndtaket til å fjerne den store brukte reagensflasken fra venstre side av bufferskuffen.
- b. Fjern den gjengede korken fra hetteholderen foran på flasken.
- c. Forsegl flaskeåpningen med korken for å unngå søl.
- d. Kast innholdet i samsvar med gjeldende standarder for din region. Ta tak i begge håndtakene ved tømming.
- e. Sett den uten lokk tilbake i bufferskuffen. Oppbevar hetten på hetteholderen.

Figur 6 Returnerer den tomme flasken



3. Ta på et nytt par puddefrie hansker.

**FORSIKTIGHET**

Ta alltid på et par nye hansker etter å ha håndtert den brukte reagensflasken.

4. Lukk bufferskuffen, og lukk deretter dørene til væskerommet.

**FORSIKTIGHET**

Unnlatelse av å tømme de brukte reagensflaskene kan resultere i en avsluttet kjøring og overløp, noe som skader instrumentet og utgjør en sikkerhetsrisiko.

Klargjøre strømningscelle

1. Fjern en ny innpakket strømningscellepakke fra 2 °C til 8 °C lagring.
2. Sett den forseglede strømningscellepakken til side ved omgivelsestemperatur (19 °C til 25 °C) i 10–15 minutter.
Bruk strømningscellen innen 12 timer etter at den er tatt ut av pakken.

Last inn forbruksmaterieil

Bruk følgende instruksjoner for å starte oppsett og laste inn forbruksmaterieil.

1. Fra hovedmenyen, velg **Sequence** (Sekvens), og velg deretter en enkelt eller dobbel strømningscellekjøring som følger.

- **A+B**—Sett opp en dobbel strømningscellekjøring.
- **A**—Sett opp en enkelt strømningscellekjøring på side A.
- **B**—Sett opp en enkelt strømningscellekjøring på side B.

Systemet starter kjøringssoppsett, og starter med å laste inn strømningscellen.

2. Velg **OK** for å bekrefte advarselen og åpne flytcelledøren.



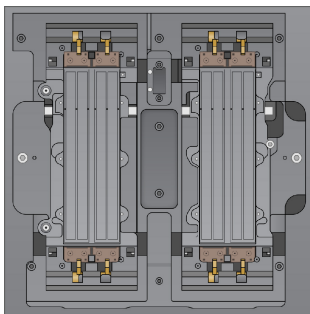
FORSIKTIGHET

Hold overflaten ren under sekvenseringskjøringen og unngå å lene deg på instrumentet. Trykk mot strømningscelledøren kan føre til at den åpner seg, noe som stopper kjøringen. Stoppet kjøring kan ikke gjenopptas.

Laste inn strømningscellen

1. Hvis tilstede, fjern strømningscellen fra forrige kjøring.
2. Hvis partikler er synlige på strømningscelletrinnet, rengjør hele trinnet, inkludert væskegrensesnittet og glassoverflaten til det optiske innrettingsmålet, med en alkoholserviett. Tørk med en lofri serviett.

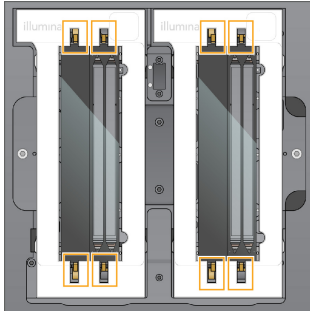
Figur 7 Strømningscellestadium



3. Fjern strømningscellen fra emballasjen som følger.
 - a. Ta på et nytt par pudderfrie hansker for å unngå å forurense glassoverflaten til strømningscellen.
 - b. Med pakken over en flat overflate, åpne opp folien fra hjørnetappen.
 - c. Fjern den gjennomsiktige plastholderen som dekker strømningscellen.
 - d. Fjern strømningscellen fra pakningen. Ta tak i strømningscellen ved sidene for å unngå å berøre glasset eller pakningene på undersiden.
 - e. Hvis partikler er synlige på en av glassoverflatene, rengjør den aktuelle overflaten med en lofri alkoholserviett og tørk med en laboratorieserviett med lite lo.

- f. Kast pakken på riktig måte.
4. Juster strømningscellen over de fire hevede klemmene og plasser den på strømningscellestadiet.

Figur 8 Belastede strømningsceller justert over klemmer



5. Velg **Close Flow Cell Door** (Lukk strømningscelledør).
Strømningscelledøren lukkes, sensorene og RFID kontrolleres, og strømningscelle-ID-en vises på skjermen.

Sett inn SBS- og klyngekassetene

1. Åpne dørene til væskerommet, og åpne deretter døren til reagenskjøleren.
2. Fjern de brukte SBS- og klyngekassetene, hvis de finnes fra en tidligere kjøring.
De brukte kassetene har gjennomhullede folieforseglinger.
3. Kast ubrukt innhold i henhold til gjeldende standarder.
For sikker avhending av posisjon nr. 30 på klyngekassetten, se [Løsne posisjon nr.30 på side 20](#).
4. Sett de klargjorte patronene i reagenskjøleskuffen som følger, slik at Insert (Innsett)-etikettenevender mot baksiden av instrumentet.
 - Plasser SBS-kassetten (grå etikett) i venstre posisjon.
 - Plasser klyngekassetten (oransje etikett) som inneholder biblioteksrøret uten lokk i riktig posisjon.

Figur 9 Lastede reagenskassetter

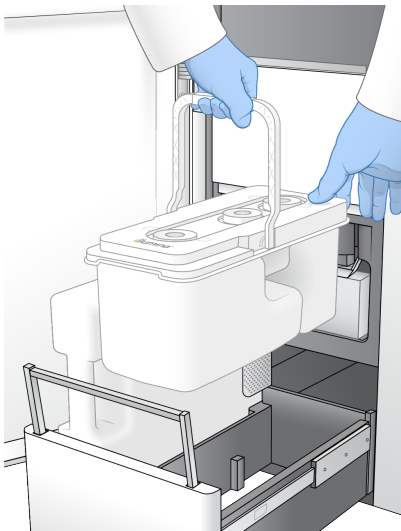


5. Skyv skuffen inn i kjøleren, og lukk deretter døren til reagenskjøleren.
Sensorene og RFID-ene kontrolleres. ID-ene for biblioteksrøret og de to kassetene vises på skjermen.

Laste inn bufferkassetten

1. Trekk i metallhåndtaket for å åpne bufferskuffen.
2. Fjern den brukte bufferkassetten fra høyre side av bufferskuffen.
Den brukte bufferkassetten har gjennomhullede folieforseglinger.
3. Plasser en ny bufferkassetten i bufferskuffen slik at Illumina-etiketten vender mot fronten av skuffen. Juster kassetten med de hevede føringene på skuffebunnen og sidene.
Når den er riktig lastet, er bufferkassetten jevnt plassert og skuffen kan lukkes.

Figur 10 Laste inn bufferkassetten



4. Hvis begge de brukte reagensflaskene er tømte, velg avmerkingsboksen for å bekrefte at begge de brukte reagensflaskene er tomme.

MERK Unnlatelse av å tømme de brukte reagensflaskene kan resultere i en avsluttet kjøring og overløp, noe som skader instrumentet og utgjør en sikkerhetsrisiko.

5. Når forbruksmateriell er lagt til, velg **Run Selection** (Kjør valg) for å fortsette.

Velg og start kjøring

Instrumentet skanner bibliotekrørets ID og søker etter en matchende planlagt kjøring.

1. Hvis en planlagt kjøring som samsvarer med bibliotekrør-ID-en for hver side som brukes, hoppes kjølingsvalg over. Velg **Review** (Gjennomgå) for å fortsette.
2. Hvis det ikke er noen matchende kjøring for en eller noen av sidene, velg **Run Selection** (Kjør valg), og velg deretter en eller flere planlagte kjøring.
Den samme planlagte kjøringen kan ikke velges på begge sider.
3. Når en eller flere kjøring er valgt, velger du **Pre-Run Checks** (Forhåndskontroller).

4. Vent ca. 5 minutter til førkjøringskontrollen er fullført.
Kjøringen starter automatisk etter fullføring.

MERK For å unngå overfylling av harddisken, ikke kopier noen data til C:\ etter at kjøringen starter.

Feil under før kjøring-kontroller

1. Hvis forhåndskontroller mislykkes på grunn av en sensorfeil, for eksempel strømningscelle som ikke oppdages, må du avslutte og starte arbeidsflyten på nytt.
2. For andre feil på forhåndskontroll, velg **Retry** (Prøv på nytt) for å starte den mislykkede kontrollen på nytt eller **Retry All** (Prøv alle på nytt) for å starte alle kontroller på nytt.
Feil må løses før kjøringen kan starte.
3. Velg **Error** (Feil)-ikonet for å se feildetaljer.
4. Hvis justeringen mislykkes, løser du feilen som følger.
 - a. Velg **Reload** (Last på nytt), og velg deretter **OK** for å gå tilbake til Load (Last)-skjermen.
 - b. Fjern eventuelle elementer fra toppen av instrumentet, og velg deretter **OK**. Døren til strømningscellen åpnes.
 - c. Last inn strømningscellen på nytt, og velg deretter **Run Setup** (Kjør oppsett).
 - d. Fortsett gjennom hvert skjermbilde for å lese hver RFID på nytt og gå tilbake til skjermbildet Pre-Run Checks (Forhåndskontroller).
 - e. Gjør kontrollen på nytt.

Overvåke kjøringens fremdrift

Følgende detaljer vises på Sequencing (sekvenserings)skjermen mens løpet pågår. Sequencing (Sekvenserings)skjermen er tilgjengelig via hovedmenyen.






- **Status for individuelle løpstrinn**
- **Time to completion** (Tid til fullføring)—dato og klokkeslett for kjøringens fullføring (åååå-mm-dd tt:mm).
- **Run progress** (Kjørefremgang)—gjeldende kjøringstrinn. Størrelsen på fremdriftslinjen er ikke proporsjonal med kjørehastigheten for hvert trinn.
- **Q-scores** (Q-scorer)—Fordelingen av kvalitetsscore (Q-scorer).
- **Intensity** (Intensitet)—Verdien på klyngeintensiteter i den 90^{te} prosentilen for hver flis. Plottfarger indikerer de røde og grønne kanalene.
- **Clusters passing filter (%)** (Klynger som passerer filter [%])—prosentandelen av klynger som passerer filter.
- **Projected Total Yield (GB)** (Prosjektert totalutbytte [GB])—Projisert utbytte for strømningscellekjøringen. Hvis beregningene per kjørefelt er valgt (H), er tallene som vises gjeldende utbytte per kjørefelt og oppdatering per syklus gjennom løpet.

- **Q30**—Prosentandelen av basebetegnelser for løpet som har en Q-score på ≥ 30 .

Statusikoner

Et statusikon på NVOS-grensesnittet indikerer kjørestatus. Et tall på ikonet indikerer antall tilstander for en status.

Når en kjørestatus endres, blinker ikonet. Velg ikonet for å vise en beskrivelse av tilstanden. Velg **Acknowledge** (Godta) for å fjerne meldingen og deretter **Close** (Lukk) for å lukke dialogboksen.

Statusikon	Statusnavn	Beskrivelse
	Status i orden	Systemet er normalt.
	Behandler	Systemet behandler.
	Advarsel	En advarsel har oppstått og oppmerksomhet er påkrevd. Advarsler stopper ikke en kjøring eller krever tiltak før du fortsetter.
	Feil	Det har oppstått en feil. Feil krever tiltak før du fortsetter med kjøringen.
	Informasjon	En ikke-kritisk melding er tilgjengelig.

Kjøringsmetrikk

Programvaren viser beregninger generert under løpeturen. Metrikk vises i form av plott, grafer og tabeller basert på data generert av RTA3 og skrevet til InterOp-filer.

Klynger tar ca. 2 timer, deretter begynner sekvenseringen med syklus 1. Metrikk oppdateres etter hvert som sekvenseringen skrider frem. Klynger som passerer filter-, utbytte- og kvalitetspoeng er tilgjengelige etter syklus 26. Før syklus 26 er ingen verdier fylt ut og er angitt som ikke aktuelt.

Etter sekvensering

De følgende delene gir instruksjoner om trinn som skjer etter at sekvenseringen er fullført.

Automatisk etter kjøring-vask

Når sekvenseringen er fullført, starter programvaren en automatisk etterkjøringsvask som tar omtrent 80 minutter. Systemet pumper 0,24 % natriumhypokloritt (NaOCl) fra posisjon nr.17 og fortynner det til 0,12 %. 0,12 % NaOCl pumpes til ExAmp-reagens- og bibliotekposisjonene, gjennom strømningscellen og deretter til de brukte reagensflaskene. Vaskemaskinen skyller malen fra systemet for å forhindre krysskontaminering.

Når vasken er fullført, settes systemet i sikker tilstand og Home (Hjem)-knappen blir aktiv. La forbruksmateriell være på plass til neste kjøring. Etter vasking forblir sugeenhetene i SBS- og klyngekassetten for å forhindre at luft kommer inn i systemet. Sugeenhetene i bufferkassetten er hevet slik at de brukte reagensflaskene kan tømmes. Vaskebuffer pumpes deretter gjennom alle linjer for å fjerne NaOCl og reagenser fra systemet.

MERK Hvis det oppstår en feil under en automatisk ettervask, og ettervasken er ufullstendig, er det nødvendig med en vedlikeholdsvask.

Løsne posisjon nr.30

Reservoaret i posisjon nr.30 på klyngekassetten inneholder formamid. Den fjernes fra den brukte klyngekassetten og kastes separat.



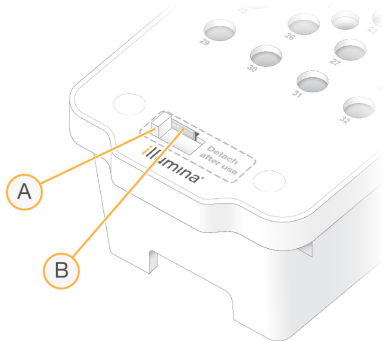
FORSIKTIGHET

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert øyevern, hansker og laboratoriefrakk som er egnet for risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Du finner mer informasjon knyttet til helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

1. Mens du bruker hansker, skyv den hvite plastfliken merket **Detach after use** (Løsne etter bruk) til høyre.
2. Plasser en hånd eller en solid overflate under reservoaret og trykk den klare plastfliken mot Illumina-etiketten for å frigjøre reservoaret fra under klyngekassetten.

MERK Unngå stabling av klyngepatroner ved oppbevaring. Stabling kan forårsake utilsiktet løsrivelse av reservoaret.

Figur 11 Fjernbar posisjon nr.30



- A. Hvit plastflik for å løsne
- B. Klar plastflik for å frigjøre

3. Kast brønnen i henhold til gjeldende standarder.

Utdata for sekvensering

Under sekvensering overføres data automatisk fra NovaSeq 6000Dx-instrument til Illumina DRAGEN Server. Når primæranalysen er ferdig, og overføringen av data er fullført, kan sekundæranalysen på Illumina DRAGEN Server starte automatisk ved å bruke analysealternativene definert av applikasjonen valgt i Illumina Run Manager. Resultatene som produseres avhenger av alternativene som er valgt under kjøringssoppsettet. For å se resultater fra en kjøring, velg ønsket kjøringssnavn i Completed (Fullført)-fanen på Runs (Kjøringer)-skjermen. Du kan også finne utdatafiler på stedet som er spesifisert på skjermbildet Instrument Settings (Instrumentinnstillinger).

Sanntidsanalyse

NovaSeq 6000Dx-instrument kjører RTA3, en implementering av Sanntidsanalyse-programvare, på instrumentet Compute Engine (CE). RTA3 trekker ut intensiteter fra bilder mottatt fra kameraet, utfører basebetegnelse, tildeler en kvalitetspoeng til basebetegnelse, justerer til PhiX og rapporterer data i InterOp-filer.

RTA3 lagrer informasjon i minnet for å optimalisere behandlingstid. Hvis RTA3 avsluttes, gjenopptas ikke behandlingen, og alle kjørte data som behandles i minnet, går tapt.

RTA3 innganger

RTA3 krever flisbilder i lokalt systemminne for behandling. RTA3 mottar kjøreinformasjon og kommandoer fra NVOS.

RTA3 Utdata

Bilder for hver fargekanal sendes i minne til RTA3 som fliser. Fra disse bildene mater RTA3 ut et sett med kvalitetscorebaserte basebetegnelsesfiler og filterfiler. Alle andre utdata er støttende utdatafiler.

Filtype	Beskrivelse
Basebetegnelsesfiler	Hver flis som blir analysert, inkluderes i en sammenkoblet basebetegnelsesfil (*.cbcl). Fliser fra samme bane og overflate samles til én CBCL-fil for hver bane og overflate.
Filterfiler	Hver flis gir en filterfil (*.filter) som angir om en klynge passerer filtre.

RTA3 gir sanntidsberegninger av kjøre kvalitet lagret som InterOp-filer, som er en binær utgang som inneholder fliser, syklus og lesenivåberegninger.

Feilhåndtering

RTA3 oppretter loggfiler og skriver dem til mappen Logs (Logger). Feil registreres i en tekstfil i *.log-filformat.

Følgende loggfiler overføres til det endelige utdatamålet etter endt behandling:

- `info_00000.log` oppsummerer viktige kjøringshendelser.
- `error_00000.log` oppgir feil som oppsto under en kjøring.
- `warning_00000.log` oppgir advarsler som oppsto under en kjøring.

Strømningscellefliser

Fliser er små avbildningsområder på strømningscellen. Kameraet tar ett bilde av hvert skår, som programvaren deler inn i fliser for RTA3 behandling. Totalt antall fliser avhenger av hvor mange baner, skår og overflater som er avbildet på flytcellen.

- S2-strømningsceller har totalt 1408 fliser.
- S4-strømningsceller har totalt 3744 fliser.

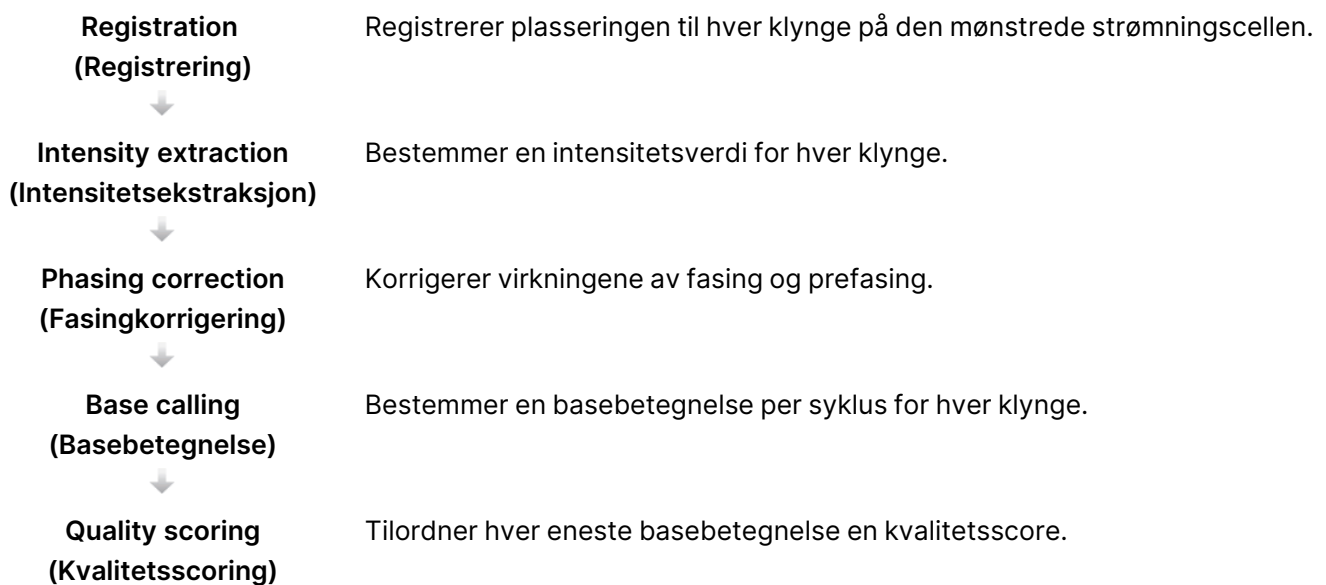
Strømningscellekomponent	S2	S4	Beskrivelse
Baner	2	4	En bane er en fysisk kanal med innløps- og utløpsporter.
Overflater	2	2	S2- og S4-strømningscellene avbildes på to overflater: oversiden og undersiden. Oversiden av en flis avbildes først.
Runder per bane	4	6	Et skår er en kolonne i en strømningscellebane som kameraet fanger opp som ett skannet bilde.

Strømningscellekomponent	S2	S4	Beskrivelse
Fliser per runde	88	78	En flis er en del av en runde, og viser et avbildet område på strømningscellen.
Genererte fliser totalt	1408	3744	Baner × overflater × runder × fliser per runde er lik totalt antall fliser.

Flisnavnet er et femsifret tall som viser til flisens posisjon på strømningscellen. For eksempel angir flisnavn 1_1205 bane 1, oversiden, runde 2, flis 5.

- Det første sifferet er banenummeret:
 - 1 eller 2 for en S2-strømningscelle.
 - 1, 2, 3 eller 4 for en S4-strømningscelle.
- Det andre sifferet viser til overflaten: 1 for oversiden eller 2 for undersiden.
- Det tredje sifferet representerer skårnummeret:
 - 1, 2, 3 eller 4 for en S2-strømningscelle.
 - 1, 2, 3, 4, 5 eller 6 for en S4-strømningscelle.
- De to siste sifrene viser til flisnummeret. Nummereringen starter med 01 ved utløpsenden av strømningscellen gjennom 88 eller 78 ved innløpsenden.
 - 01 til 88 for en S2-strømningscelle.
 - 01 til 78 for en S4 strømningscelle.

Arbeidsprosess for sanntidsanalyse



Registration (Registrering)

Registrering innretter et bilde til det roterte kvadratarrayet for nanobrønner på den mønstrede strømningscellen. På grunn av nanobrønners ordnede fordeling er X- og Y-koordinatene for hver klynge i en fil, forutbestemte. Klyngeposisjoner skrives til en klyngeplasseringsfil (s.locs) for hver kjøring.

Hvis registrering mislykkes for bilder i en syklus, genereres ingen basebetegnelse for denne flisen i denne syklusen.

Intensitetsekstraksjon

Etter registrering beregner intensitetsekstraksjon en intensitetsverdi for hver nanobrønn i et gitt bilde. Hvis registrering mislyktes, kan ikke intensiteten for denne flisen ekstraheres.

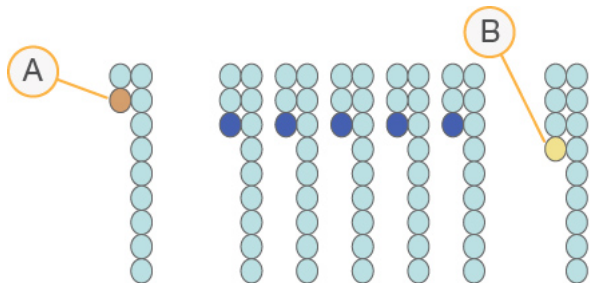
Fasingkorrigering

Under sekvenseringsreaksjonen utvides hver DNA-tråd i en klynge med én base per syklus. Fasing og prefasing forekommer når en streng havner utenfor fase med den aktuelle inkorporasjonssyklusen.

Fasing skjer når en basisinkorporering faller bak.

Prefasing skjer når en basisinkorporering hopper foran..

Figur 12 Fasing og prefasing



- A. Avles med en base som er fasing
- B. Avles med en base som er prefasing.

RTA3 korrigerer virkningene av fasing og prefasing, noe som maksimerer datakvaliteten i hver syklus gjennom hele kjøringen.

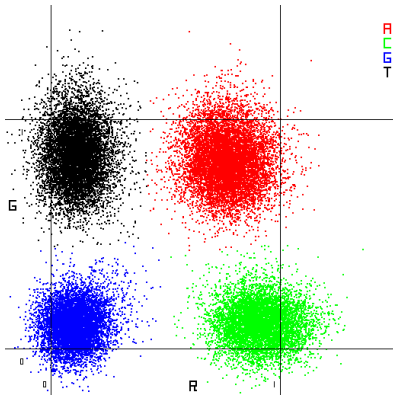
Basebetegnelse

Basebetegnelse bestemmer en base (A, C, G eller T) for hver klynge for en gitt flis ved en spesifikk syklus. NovaSeq 6000Dx-instrument bruker tokanalssekvensering, som krever to bilder for å kode dataene for fire DNA-baser, ett fra den røde kanalen og ett fra den grønne kanalen.

En ingen betegnelse identifiseres som N. Ingen betegnelser oppstår når en klynge ikke passerer filter, registrering mislykkes eller en klynge flyttes av bildet.

Intensiteter for hver klynge hentes fra de røde og grønne bildene og sammenlignes mot hverandre, noe som gir fire distinkte populasjoner. Hver populasjon svarer til en base. Basebetegnelsesprosessen bestemmer hvilken populasjon hver klynge tilhører.

Figur 13 Visualisering av klyngeintensiteter



Tabell 8 Basebetegnelser i 2-kanalssekvensering

Base	Rød kanal	Grønn kanal	Resultat
A	1 (på)	1 (på)	Klynger som viser intensitet i både de røde og grønne kanalene.
C	1 (på)	0 (av)	Klynger som viser intensitet i kun den røde kanalen.
G	0 (av)	0 (av)	Klynger som ikke viser noen intensitet på en kjent klyngeplassering.
T	0 (av)	1 (på)	Klynger som viser intensitet i kun den grønne kanalen.

Klyngepasserende filter

Under kjøringen filtrerer RTA3 rådata for å fjerne avlesninger som ikke oppfyller datakvalitetsterskelen. Overlappende klynger og klynger av lav kvalitet, fjernes.

Når det gjelder tokanalsanalyse, bruker RTA3et utfyllingsbasert system for å bestemme renheten (intensitetsrenhetsmåling) for en basebetegnelse. Klynger passerer filter (PF) når ikke mer enn én basebetegnelse i de første 25 syklusene har en renhet under en fast terskel. Når det er inkludert, utføres PhiX-innretting ved syklus 26 på et delsett med fliser for klynger som passerte filter. Klynger som ikke passerer filter basebetegnes ikke, og justeres ikke.

Kvalitetsscorer

En kvalitetsscore (Q-score) er en prediksjon av sannsynligheten for en feil basebetegnelse. En høyere Q-score innebærer at en basebetegnelse har høyere kvalitet og mer sannsynlig å være korrekt. Etter at Q-score er bestemt, registreres resultatene i CBCL-filer.

Q-scoren kommuniserer kortfattet sannsynligheter for små feil. Kvalitetsscore representeres som $Q(X)$, der X er scoren. Følgende tabell viser forholdet mellom en kvalitetsscore og sannsynlighet for feil.

Q-score $Q(X)$	Sannsynlighet for feil
Q40	0,0001 (1 av 10 000)
Q30	0,001 (1 av 1000)
Q20	0,01 (1 av 100)
Q10	0,1 (1 av 10)

Kvalitetsscoring og rapportering

Kvalitetsscoring beregner et sett med prediktorer for hver basebetegnelse, og bruker deretter prediktorverdiene for å slå opp Q-scoren i en kvalitetstabell. Kvalitetstabeller opprettes for å gi optimalt nøyaktige kvalitetsprediksjoner for kjøring som er generert av en spesifikk konfigurasjon av sekvenseringsplattform og kjemiversjon.

Kvalitetsscoring er basert på en endret versjon av Phred-algoritmen.

For å generere Q-tabellen for NovaSeq 6000Dx-instrument, ble tre grupper med basebetegnelser bestemt, basert på grupperingen av disse spesifikke prediktive funksjonene. Etter gruppering av basebetegnelsene ble gjennomsnittlig feilrate beregnet empirisk for hver av de tre gruppene, og de tilsvarende Q-scorene ble registrert i Q-tabellen sammen med de prediktive funksjonene som korrelerte med denne gruppen. Som sådan er kun tre Q-scoringer mulig med RTA3, og disse Q-scorene representerer den gjennomsnittlige feilraten i gruppen. Samlet sett gir dette en forenklet, men høyst nøyaktig kvalitetsscoring. De tre gruppene i kvalitetstabellen tilsvarende marginale ($<Q15$), middels ($\sim Q20$) og høykvalitets ($> Q30$) basebetegnelser, og tildeles de spesifikke skårene på henholdsvis 12, 26 og 34. Dessuten tilordnes en nullscore på 2 til eventuelle ingen betegnelser. Denne Q-scoringerapporteringsmodellen reduserer krav til lagringsplass og båndbredde uten at det påvirker nøyaktighet eller ytelse.

Figur 14 Forenklet Q-scoring med RTA3




Sekvenseringsutdatafiler


Filtype	Filtype, -plassering og -navn
Basebetegnelsesfiler	Hver klynge som analyseres er inkludert i en basebetegnelsesfil, samlet i én fil per syklus, bane og overflate. Den aggregerte filen inneholder basebetegnelsen og kodet kvalitetsscore for hver klynge. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, for eksempel L001_1.cbcl
Klyngeplasseringsfiler	For hver strømningscelle inneholder en binær klyngeplasseringsfil XY-koordinatene for klynger i en flis. Et sekskantet oppsett som samsvarer med nanobrønnoppsettet til strømningscellen, forhåndsdefinerer koordinatene. Data\Intensiteter s_[lane].locs
Filterfiler	Filterfilen angir om en klynge passerte filtre. Filterfiler genereres i syklus 26 med 25 sykluser med data. Det genereres én filterfil for hver flis. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter
Kjøringsinformasjonsfil	Oppgir kjøringensnavnet, antall sykluser i hver avlesning, om avlesningen er en Index Read (Indeksavlesning) og antall runder og fliser på strømningscellen. Kjøringsinformasjonsfilen opprettes i begynnelsen av kjøringen. [Root folder],RunInfo.xml
Miniatyrbildefiler	Miniatyrbilder for den første syklusen av hver sekvenslesing. Thumbnail_Images\L001\C[X.1]—Filer lagres i en undermappe for hver syklus. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg—Miniatyrbildet inkluderer brikkenummeret.

Sekvenseringsutdatamappens struktur

NVOS genererer utdatamappens navn automatisk.


 **Config** (Konfigurasjon)—Konfigurasjonsinnstillinger for kjøringen.

 **Logs** (Logger)—Loggfiler som beskriver operasjonstrinn, instrumentanalyse og hendelser RTA3.

 SampleSheet.csv—Eksempelark eller annen vedlagt fil, hvis aktuelt.


 **Data**


 **Intensities** (Intensiteter)

 **BaseCalls** (Basebetegnelser)

 **L00[X]**—Basebetegnelsesfiler (*.cbcl) aggregert i én fil per kjørefelt, overflate og syklus.


 s.locs—Klyngeplasseringsfilen for kjøringen.

 **InterOp**—Binærfiler.

 **Recipe** (Oppskrift)—Kjør spesifikk oppskriftsfil.

 **Thumbnail Images** (Miniatyrbilder)—Miniatyrbilder for hver 10^o flis.

 **LIMS**—Kjør-oppsettfilen (*.json), hvis aktuelt.

 **Audit** (Revisjon)

 AuditInfo.xml

 RTA3.cfg

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

 RTAComplete.txt

 CopyComplete.txt

 SequenceComplete.txt

 IlluminaRunManagerCopyComplete.txt

 Manifest.tsv

Advarsler og forholdsregler



FORSIKTIGHET

Føderal lov begrenser denne enheten til salg av, eller på bestilling av, en lege eller annet fagpersonell, lovmessig lisensiert i delstaten vedkommende praktiserer, for å bruke eller pålegge bruk av enheten.

- **Noen komponenter for reagenser levert av Illumina for bruk med NovaSeq 6000Dx-instrument inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert øyevern, hansker og laboratoriefrakk som er egnet for risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter.** Hvis du ønsker ytterligere informasjon om helse, miljø og sikkerhet, kan du se sikkerhetsdatabladene (SDS) på support.illumina.com/sds.html.
- Hvis du unnlater å følge prosedyrene som beskrevet, kan det resultere i feil resultater eller betydelig reduksjon i prøve kvaliteten.
- Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i utpekte arbeidsområder. Bruk engangshansker og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og settreagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøvene og settreagensene.
- Riktig laboratoriepraksis og god laboratoriehygiene er nødvendig for å forhindre at PCR-produkter kontaminerer reagenser, instrumentering og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminering kan forårsake unøyaktige og upålitelige resultater.
- For å hindre kontaminasjon må du påse at preforsterknings- og postforsterkningsområdene har sitt eget utstyr og materiell (f.eks. dråpetellere, dråpetellerspisser, varmeblokker, vorteksmiksere og sentrifuger).
- Indeks til prøveparing krever at indeksplateoppsettet samsvarer nøyaktig. DNA-forberedelsen med anrikningsapplikasjonen fyller automatisk ut indeksprimerne knyttet til prøvenavnene når de legges inn under kjøringssoppsett. Brukeren anbefales å verifisere indeksprimerne som er tilknyttet prøvene, før sekvenseringskjøringen startes. Misforhold mellom prøven og plateoppsettet resulterer i tap av positiv prøveidentifikasjon og feil resultatrapportering.
- Installasjon av brukerlevert antivirusprogramvare anbefales sterkt for å beskytte datamaskinen mot virus.
- Ikke betjen NovaSeq 6000Dx hvis noen av panelene er fjernet. Bruk av instrumentet hvis ett eller flere paneler er fjernet, utgjør en potensiell risiko for eksponering overfor linjespenning og likestrømspenning.
- Ikke berør strømningscellestadiumet i strømningscellekammeret. Varmeenheten i dette kammeret fungerer mellom 22 °C og 95 °C og kan forårsake brannskader.
- Instrumentet veier omtrent 480 kg og kan forårsake alvorlig skade hvis det faller ned eller behandles på feil måte.

Ytelseskarakteristikk

Ytelseskarakteristikk for NovaSeq 6000Dx-instrumentet ble etablert ved å bruke Illumina DNA Prep with Enrichment Dx for bibliotekforberedelse, NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser) og NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser) for sekvensering, og DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen for sekundær analyse inkludert påvisning av kimlinje og somatisk variant. Studier inkluderte prøveindeksering, prøveoverføring, DNA-innmating, analytisk følsomhet (grense for

blank/deteksjonsgrense), nøyaktighet, presisjon, metodesammenligning og reproduserbarhet. Se *Pakningsvedlegg for Illumina DNA Prep With Enrichment Dx* for ytelseegenskaper knyttet til pre-analytiske faktorer, som ekstraksjonsmetoder eller forstyrrende stoffer.

Definisjoner av beregninger for ytelseskarakteristikker

1. Positivt prosentsamsvar (PPA) beregnes som andelen av loki klassifisert som varianter ved hjelp av en referansemetode som er korrekt rapportert av analysen.
 - $(\text{antall variantloki korrekt rapportert av analysen}) / (\text{totalt antall variantloki})$Variantloki rapportert av analysen som samsvarer med referansemetoden, er sant positive (TP). Variantloki rapportert som referansebetegnelser eller som forskjellige variantbetegnelser av analysen, er falskt negative (FN).
2. Negativt prosentsamsvar (NPA) beregnes som andelen av loki klassifisert som villtype ved hjelp av en referansemetode som er korrekt rapportert av analysen.
 - $(\text{antall villtypeloki korrekt rapportert av analysen}) / (\text{totalt antall villtypeloki})$Villtypeloki rapportert av analysen som samsvarer med referansemetoden, er sant negative (TN). Villtypeloki rapportert som varianter av analysen, er falskt positive (FP).
3. Samlet prosentsamsvar (OPA) beregnes som andelen loki som er korrekt rapportert av analysen i forhold til en referansemetode.
 - $((\text{antall variantloki korrekt rapportert av analysen}) + (\text{antall villtypeloki korrekt rapportert av analysen})) / ((\text{totalt antall variantloki}) + (\text{totalt antall villtypeloki}))$
4. Beregningene av PPA, NPA og OPA inkluderer ikke noen betegnelser (variant- eller referanseloki som ikke oppfyller ett eller flere kvalitetsfiltre).
5. Prosentandel positive betegnelser (PPC) er antall observasjoner med den oppdagede varianten delt på det totale antallet testede observasjoner unntatt eventuelle ugyldige observasjoner eller de filtrert som lav dybde.
6. Prosentandel negative betegnelser (PNC) beregnes som antall observasjoner med bestått referanse som utfallet ved en posisjon delt på det totale antallet testede observasjoner unntatt eventuelle ugyldige observasjoner eller de som er filtrert som lav dybde.
7. Prosent autosom betegnelse beregnes som prosenten av ikke-N referanseposisjoner i målrettede områder i autosomale kromosomer med et forbigående genotypekall.

Prøveindeksering

Prøveindeksprimere, lagt til under bibliotekklargjøring, tilordner en unik sekvens til hvert prøve-DNA. Disse unike sekvensene gjør det mulig å slå sammen flere prøver i en enkelt sekvenseringskjøring. Prøveindeksering brukes for arbeidsprosessen for både kimbane og somatisk. Formålet med denne studien var å etablere minimum (12) og maksimum (192) antall prøver som kan behandles i en enkelt sekvenseringskjøring med NovaSeq 6000Dx-instrument. Tolv unike platinagenom-DNA-prøver (NA12877–NA12888) ble testet med minst 12 forskjellige indekseringsprimerkombinasjoner per prøve. Prøvebiblioteker ble utarbeidet ved å bruke en

representativ analyse designet for å undersøke en rekke gener som dekker 1.970.505 baser på tvers av alle 23 humane kromosomer. Prøveresultater fra fire sekvenseringskjøringer ved bruk av Germline FASTQ og VCF generasjonsanalysearbeidsflyt for DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen ble sammenlignet med Platinum Genomes versjon 2016-1.0.

For det første settet med kjøringer ble 192 unikt indekserte prøvebiblioteker sekvensert i to sekvenseringskjøringer, en hver med S2- og S4-reagenser, for å verifisere både det maksimale antallet indekser som støttes og analysens evne til konsekvent å foreta en genotyping gitt prøve på tvers av forskjellige indekseringsprimerkombinasjoner. For det andre settet med kjøringer ble 12 unikt indekserte prøvebiblioteker sekvensert i to sekvenseringskjøringer, en hver med S2- og S4-reagenser, for å bekrefte det minste antallet indekser som støttes.

For 192-indekskjøringene varierte PPA for SNV-er fra 99,7 % til 100 %, PPA for innsetninger var 100 %, PPA for delesjoner varierte fra 96,7 % til 100 % og NPA var 100 %. For 12-indekskjøringene varierte PPA for SNV-er fra 99,7 % til 100 %, PPA for innsetninger varierte fra 89,6 % til 100 %, PPA for delesjoner varierte fra 94,6 % til 100 % og NPA var 100 %.

Carryover av prøver

NovaSeq 6000Dx-instrument gjør det mulig med sekvensering av flere prøver pluss kontroller i en enkelt sekvenseringskjøring. En studie ble utført for å evaluere graden av carryover av prøver innenfor en sekvenseringskjøring (innenfor kjøring) og mellom sekvenseringskjøringer (kjøring til kjøring). Tolv platinagenom-DNA-prøver, seks menn og seks kvinner, ble testet med en representativ analyse designet for å søke etter en rekke gener som dekker 1.970.505 baser på tvers av alle 23 menneskelige kromosomer, inkludert begge kjønnskromosomer. Biblioteker ble sekvensert på NovaSeq 6000Dx-instrument ved å bruke Germline FASTQ og VCF generasjonsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen. Carryover av mannlige prøver til kvinnelige prøver ble observert gjennom forekomst av Y-kromosommålavlesninger i kvinnelige prøver.

Overføring innen kjøring kan introduseres under klyngegenerering, indekssyklusbasebetegnelse og prøvedemultipleksing. For testing av prøveoverføring i en sekvenseringskjøring, ble en biblioteksammenslåingen bestående av minst tolv replikater av hver unike mannlige og kvinnelige prøve pluss to ingen malkontroller, for totalt 192 unikt indekserte biblioteker, sekvensert på NovaSeq 6000Dx-instrument i to sekvenseringskjøringer, en hver med S2- og S4-reagenser. Innenfor-kjørt prøveoverføring ble vurdert ved å sammenligne Y-kromosommåldekning for hvert kvinnelig replikat med gjennomsnittlig Y-kromosommåldekning for alle mannlige replikater i bassenget. Den 95. persentilen av observert overføring innen kjøring var 0,0090 % og 0,041 % for henholdsvis S2- og S4-reagenser.

For testing av kjøring til kjøring av prøveoverføring, ble to biblioteksamlinger forberedt og sekvensert fortløpende på én NovaSeq 6000Dx-instrument, med side A ved bruk av S4-reagenser og side B ved bruk av S2-reagenser. Den første sammenslåingen inneholdt minst tolv replikater av seks unike kvinnelige prøver pluss to ingen malkontroller, for totalt 96 unikt indekserte biblioteker. Den andre sammenslåingen inneholdt minst tolv replikater av seks unike mannlige prøver pluss to ingen malkontroller, for totalt 96 unikt indekserte biblioteker. Begge sammenslåingene brukte det samme settet med indeksadaptere. Den kvinnelige sammenslåingen ble sekvensert først, etterfulgt av en sekvenseringskjøring med den mannlige sammenslåingen, etterfulgt av en

annen gjentatt sekvenseringskjøring av den kvinnelige sammenslåingen. Kjøring-til-kjøring prøveoverføring ble vurdert per reagenstype, S2 og S4, ved å sammenligne Y-kromosommåldekning mellom tilsvarende replikater av den gjentatte kvinnelige sammenslåingkjøringen og mannlige sammenslåingkjøringen Den 95. persentilen av observert kjøring-til-kjøring var 0,0089 % og 0,012 % for henholdsvis S2- og S4-reagenser.

DNA-innmating

Blod (kimbane)

Blod-DNA-inndataområdet for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-settet med DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen ble etablert for NovaSeq 6000Dx. Dette ble evaluert ved å utføre en seriefortynningsstudie med åtte platinagenom-DNA-prøver (NA12877 – NA12884) med en representativ analyse designet for å spørre en rekke gener som dekker 1.970.505 baser på tvers av alle 23 humane kromosomer. Biblioteker ble sekvensert på én NovaSeq 6000Dx-instrument ved å bruke ett parti hver av NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser) og NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser).

Syv prøver ble testet i duplikat ved seks DNA-inngangsnivåer fra 1000 ng til 10 ng (1000 ng, 250 ng, 100 ng, 50 ng, 25 ng og 10 ng). En åttende prøve (NA12884) ble testet som en enkelt replikat ved 10 ng inngang og i duplikat for alle andre inngangsnivåer. For å bestemme nøyaktighet ble prøvegenotyper sammenlignet med Platinum Genomes-versjon 2016-1.0. Resultatene ble bestemt for hvert innmatingsnivå. PPA for hver varianttype (SNV-er, innssettinger og delesjoner) er presentert i [PPA-resultater for hver blod-DNA-inngang etter varianttype på side 32](#). NPA er presentert i [NPA for hver blod-DNA-inngang på side 33](#). Alle innmatingsnivåer hadde lignende nøyaktighet. Den anbefalte blod-DNA-inngangen for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx er 50–1000 ng med 1000 ng og 10 ng som gir en øvre og nedre grense for å møte ytelseskarakteristikker når de sekvenseres på NovaSeq 6000Dx.

Tabell 9 PPA-resultater for hver blod-DNA-inngang etter varianttype

DNA-innmating (ng)	Varianttype	Forventede varianter	TP	FN	Variant ingen betegnelser	PPA (%)
10	SNV	69612	69538	68	6	99,9
25		74192	74105	75	12	99,9
50		74105	74	13	99,9	
100		74116	72	4	99,9	
250		74113	72	7	99,9	
1000		74112	73	7	99,9	

DNA-innmating (ng)	Varianttype	Forventede varianter	TP	FN	Variant ingen betegnelser	PPA (%)
10	Innersjon	2732	2732	0	0	100
25		2928	2916	6	6	99,8
50			2914	8	6	99,7
100			2917	6	5	99,8
250			2928	0	0	100
1000			2921	5	2	99,8
10	Delesjon	2084	2049	4	31	99,8
25		2240	2200	9	31	99,6
50			2207	3	30	99,9
100			2199	1	40	>99,9
250			2201	0	39	100
1000			2195	2	43	99,9

Tabell 10 NPA for hver blod-DNA-inngang

DNA-innmating (ng)	TN	FP	Referanse ingen betegnelser	NPA (%)
10	115449045	384	285751	>99,9
25	123012157	415	438153	>99,9
50	122985299	369	465043	>99,9
100	122976660	321	473730	>99,9
250	122971099	331	479289	>99,9
1000	122978527	324	471882	>99,9

FFPE (somatisk)

Det formalinfikserte parafininnstøpte (FFPE) DNA-innmatingsområdet for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-settet ved bruk av DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen ble etablert for NovaSeq 6000Dx. Dette ble evaluert ved å utføre en seriell fortynningsstudie med to platinagenomprøver og en representativ analyse utformet for å utforske ulike gener som dekker 1.970.505 baser på 23 ulike kromosomer. Biblioteker ble sekvensert på én NovaSeq 6000Dx-instrument ved å bruke ett parti hver av NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser) og NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser).

Prøve GM12877 DNA ble fortynnet med prøve GM12878 DNA for å lage GM12877-13 med unike GM12877 heterozygote og homozygote varianter ved frekvenser nær henholdsvis 6,5 % og 13 %. Ufortynnet GM12877 ble også testet. GM12877-13 ble testet i duplikat ved fire DNA-inngangsnivåer fra 1000 ng til 25 ng (1000 ng, 250 ng, 50 ng og 25 ng). GM12877 ble testet som et enkelt replikat ved 250 ng og i duplikat for alle andre innmatingsnivåer. For å bestemme nøyaktigheten, ble prøvevarianter sammenlignet med Platinum Genomes-versjon 2016-1.0. Resultatene ble bestemt for hvert innmatingsnivå. PPA for hver varianttype (SNV-er,

innsetninger og slettinger) er presentert i [PPA-resultater for hver FFPE DNA-innmating etter varianttype og mål-VAF på side 34](#). NPA er presentert i [NPA for hver FFPE DNA-innmating på side 34](#). Alle innmatingsnivåer hadde lignende nøyaktighet. For FFPE-prøver med ΔCq -verdi på ≤ 5 , er den anbefalte DNA-inngangen 50–1000 ng for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-settet med 1000 ng og 25 ng, som gir en øvre og nedre grense for å møte ytelseskarakteristikkene når de sekvenseres på NovaSeq 6000Dx.

Tabell 11 PPA-resultater for hver FFPE DNA-innmating etter varianttype og mål-VAF

DNA-innmating (ng)	Varianttype	Forventede varianter	Målfortynning-VAF								
			0,065				0,13				
			TP	FN	Variant ingen betegnelser	PPA (%)	Forventede varianter	TP	FN	Variant ingen betegnelser	PPA (%)
25	SNV	3000	2931	8	61	99,7	624	624	0	0	100
50		3000	2930	8	62	99,7	624	622	0	2	100
250		3000	2927	8	65	99,7	624	624	0	0	100
1000		3000	2921	8	71	99,7	624	624	0	0	100
25	Innsjøsjon	96	96	0	0	100	48	48	0	0	100
50		96	96	0	0	100	48	48	0	0	100
250		96	96	0	0	100	48	48	0	0	100
1000		96	96	0	0	100	48	48	0	0	100
25	Delesjøsjon	88	88	0	0	100	32	32	0	0	100
50		88	88	0	0	100	32	31	0	1	100
250		88	88	0	0	100	32	32	0	0	100
1000		88	88	0	0	100	32	32	0	0	100

Tabell 12 NPA for hver FFPE DNA-innmating

DNA-innmating (ng)	Forventet villtype	TN	FP	Referanse ingen betegnelser	NPA (%)
25	25354119	25353706	413	5499498	>99,9
50	27538269	27538013	256	3315421	>99,9
250	21562303	21561983	320	1577958	>99,9
1000	29030903	29030596	307	1822781	>99,9

Analytisk sensitivitet (blindgrense [LoB] og deteksjonsgrense [LoD])

Denne studien ble utført for å evaluere blindgrensen (Limit of Blank, LoB) og deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LoD) for arbeidsflyten for Somatic FASTQ og VCF generasjonsanalyse for DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen på NovaSeq 6000Dx-instrument. Studien ble utført ved hjelp av en representativ analyse designet for å undersøke en rekke gener som dekker 1.970.505 baser på tvers av alle 23 humane kromosomer. Platinagenomcellelinje GM12878 og GM12877 var formalinfisert og innstøpt i parafin etterfulgt av DNA-ekstraksjon. Fortynninger av GM12877 i GM12878 ble fremstilt for å lage prøver bestående av

0%, 4%, 6,5% og 13% GM12877 etter volum, slik at variantfrekvensene til 489 unike GM12877-varianter (454 SNV-er, 17 innsetninger og 18-delesjoner) varierte 0 og 0,13. Prøvebiblioteker ble preparert ved å bruke to loter av Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-sett reagenser og sekvensert over seks påfølgende startdager med to NovaSeq 6000Dx-instrument-er og to loter hver av NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser) og NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser), for totalt tolv sekvenseringskjøringer. Dette resulterte i 288 observasjoner for hver variant i hver av prøvefortynningene. LoB og LoD ble beregnet ved hjelp av den klassiske tilnærmingen angitt i in CLSI EP17-A2. LoB og LoD ble beregnet for S2- og S4-reagenser separat ved å slå sammen variantfrekvensene for alle variantene i sekvenseringskjøringen for hver reagenstype. Type I-feilen ble definert som 0,01, og type II-feilen ble definert som 0,05.

LoB ble evaluert for 489 lokuser uavhengig på tvers av to sekvenseringspartier for hver reagenstype (S2 eller S4) og bibliotekspreparat. For S2-reagenser var 95. persentil LoB 2,9 %. For S4-reagenser var 95. persentil LoB 2,2 %.

LoD ble vellykket beregnet for 478 av 489 varianter for S2 og 485 av 489 varianter for S4. Variantene der ingen LoD ble bestemt for ett eller begge bibliotekspreparatene ble ekskludert fra endelig tildelt LoD for NovaSeq 6000Dx-systemet. LoD for NovaSeq 6000Dx-systemet med S2- og S4-reagenser ble bestemt ved å ta den 95. persentilen av de individuelle variantene LoDs. For S2-reagenser var den 95. persentilen over 478 varianter av LoDs 4,8 %. For S4-reagenser var 95. persentilen på tvers av 485 LOD-varianter 3,9 %.

Nøyaktighet

Kimbane

Følgende studie ble utført for å vurdere nøyaktigheten av anropsvarianten til kimbane FASTQ- og VCF-generasjonsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen på NovaSeq 6000Dx-instrument ved å bruke NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser). Fire unike platinagenom-DNA-prøver ble testet ved hjelp av en representativ analyse designet for å søke etter en rekke gener som dekker 1.970.505 baser (9 232 mål) på tvers av alle 23 humane kromosomer. Hver av prøvene ble testet i replikater på 12 bortsett fra NA12880, som ble testet i replikater på 11. Totalt 18 kjøring ble utført med tre sekvenseringsinstrumenter, tre loter med S2-reagenser og to operatører over seks startdager. Nøyaktigheten ble bestemt for SNV-er, innsetninger og delesjoner ved å sammenligne resultatene med Platinum Genomes versjon 2016-1.0.

Tabell 13 Kort beskrivelse av kimbanesamsvar

Kriterier	Totalt antall observasjoner ¹	Resultat fra observasjon ²	Resultat fra kjøring ³
PPA for SNV	846	99,8	99,9
PPA for innsetninger	846	97,9	>99,9
PPA for slettinger	846	96,9	99,9
NPA	846	>99,9	>99,9
OPA	846	>99,9	>99,9

¹Beregnet som antall prøver per kjøring (47) x antall kjøring (18) = 846.

²Lavest observerte verdi ved prøverepлика over alle 18 kjøring.

³Laveste verdi når data fra hver kjøring analyseres sammenlagt.

[Kimbanesamsvar per prøve på side 37](#) inneholder studiedata presentert med positivt og negativt presentsamsvar for hver prøve, der variantresultatene er sammenlignet med platinagenomer versjon 2016-1.0 for PPA-beregninger. De tre varianttypene (SNV-er, insersjoner og delesjoner) er kombinert. Siden referansemetoden kun gir resultater for de enkle nukleotidvariantene og insersjonene/delesjonene, sammenlignes baseresultater uten variant med referansesekvensen hg19 for humant genom for NPA-beregninger.

Tabell 14 Kimbanesamsvar per prøve

Prøve	Autosom betegnelseevne	Forventede varianter ¹	TP	FN	Variant ingen betegnelser	TN	FP	PPA	NPA	OPA
NA12877	99,4	273672	273452	220	0	414765131	931	99,9	>99,9	>99,9
NA12878	99,4	265680	265208	234	238	414803691	1193	99,9	>99,9	>99,9
NA12879	99,4	261792	261792	0	0	414746986	1429	100	>99,9	>99,9
NA12880	99,4	246114	245551	399	164	380157538	1458	99,8	>99,9	>99,9

¹ Totalt antall varianter i alle prøvereplikater over 18 kjøringar.

[Kimbanesamsvar per prøve etter varianttype på side 37](#) inneholder studiedataene presentert for hver prøve, der variantresultatene blir sammenlignet med den godt karakteriserte sammensatte referansemotoden. Deteksjon blir evaluert for hver varianttype – SNV-er, innsetninger og slettinger – separat. Referanseposisjoner er utelatt.

Tabell 15 Kimbanesamsvar per prøve etter varianttype

Prøve	SVN-er			Innersjoner			Delesjoner		
	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN
NA12877	255096	254877	219	10368	10367	1	8208	8208	0
NA12878	250344	250077	221	8424	8424	0	6912	6707	13
NA12879	246024	246024	0	8856	8856	0	6912	6912	0
NA12880	229482	229086	396	9306	9306	0	7326	7159	3

Prøvene ble ytterligere analysert for betegnelse av små innsetninger og slettinger (indeler). En samlet oppsummering er presentert i [Oppsummering for kimbaneindelpåvisning på side 37](#). Det var totalt 210 indeler i størrelse fra 1–18 bp for innsetninger og 1–21 bp for slettinger.

Tabell 16 Oppsummering for kimbaneindelpåvisning

Varianttype	Forventede varianter	TP	FN	Variant ingen betegnelser	PPA
Innersjon	36954	36953	1	0	>99,9
Delesjon	29358	28986	16	356	99,9

Den representative analysen besto av 9 232 mål som dekket en rekke genomisk innhold. GC-innholdet i målene varierte fra 0,20-0,86. Mål hadde også et utvalg av enkle nukleotid- (f.eks. PolyA, PolyT), dinukleotid- og trinukleotidrepetisjoner. Data kompilert på en per kromosom-basis for å bestemme effekten av genomisk innhold på prosentvis korrekte samtaler er presentert i [Nøyaktighet på kimelinje kromosomnivå på side 38](#). Prosent riktige betegnelser består av variant- og referansebetegnelser og er mindre enn 100 % hvis det finnes enten feil eller ingen betegnelser.

Tabell 17 Nøyaktighet på kimelinje kromosomnivå

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr1	47	728	138328	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (14), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Innsetting (18), Delesjon (4)	[0,22 - 0,8]; Median: 0,51	114888718	34	966860	>99,9	0,83
chr2	39	628	159588	Poly A (46), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Innsetting (5), Delesjon (2)	[0,24 - 0,81]; Median: 0,44	132293464	798	460345	>99,9	0,35

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr3	38	650	137627	Poly A (18), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (7), Dinukleotid (12), Trinukleotid (6), Innsetting (11), delesjon (1)	[0,25 - 0,86]; Median: 0,45	114625053	2	226461	>99,9	0,20
chr4	17	370	73766	Poly A (9), Poly C (7), Poly T (25), Poly G (6), Dinukleotid (5), Trinukleotid (5), Innsetting (2), delesjon (2)	[0,27 - 0,77]; Median: 0,45	61872303	0	66741	100	0,11
chr5	25	507	90008	Poly A (10), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (10), Trinukleotid (8), Innsetting (8), delesjon (18)	[0,29 - 0,79]; Median: 0,46	75314497	912	153061	>99,9	0,20

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr6	39	453	126721	Poly A (28), Poly C (7), Poly T (33), Poly G (7), Dinukleotid (18), Trinukleotid (11), Innsetting (4), delesjon (2)	[0,24 - 0,79]; Median: 0,48	103412695	1	182361	>99,9	0,18
chr7	21	450	161501	Poly A (27), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (31), Trinukleotid (5), Innsetting (1), delesjon (4)	[0,2 - 0,77]; Median: 0,46	132534074	19	246884	>99,9	0,19
chr8	18	381	67775	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (9), Innsetting (4), delesjon (1)	[0,26 - 0,78]; Median: 0,47	56247612	411	170925	>99,9	0,30

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr9	23	347	87100	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (27), Poly G (8), Dinukleotid (9), Trinukleotid (9), Innsetting (4), delesjon (1)	[0,27 - 0,83]; Median: 0,49	72650800	20	241991	>99,9	0,33
chr10	14	317	66723	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Dinukleotid (16), Trinukleotid (6), Innsetting (1), delesjon (1)	[0,23 - 0,78]; Median: 0,44	55539058	1	188216	>99,9	0,34
chr11	29	511	91786	Poly A (28), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (26), Trinukleotid (7), Innsetting (2), delesjon (2)	[0,28 - 0,8]; Median: 0,47	75744222	742	259258	>99,9	0,34

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr12	29	577	120365	Poly A (19), Poly C (8), Poly T (40), Poly G (7), Dinukleotid (7), Trinukleotid (7), Innsetting (1), delesjon (5)	[0,26 - 0,77]; Median: 0,49	99972530	1	542005	>99,9	0,54
chr13	13	283	58639	Poly A (24), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (6), Trinukleotid (8), Innsetting (14), delesjon (0)	[0,28 - 0,79]; Median: 0,42	48503179	1	45666	>99,9	0,09
chr14	11	147	26980	Poly A (21), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (11), Dinukleotid (6), Trinukleotid (6), Innsetting (4), delesjon (1)	[0,29 - 0,77]; Median: 0,47	22286153	198	147895	>99,9	0,66

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr15	15	266	52091	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (6), Trinukleotid (8), Innsetting (4), delesjon (6)	[0,29 - 0,76]; Median: 0,46	43600279	0	99041	100	0,23
chr16	21	366	80030	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (10), Innsetting (15), delesjon (21)	[0,3 - 0,76]; Median: 0,54	65490245	16	1438278	>99,9	2,15
chr17	36	645	118062	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (18), Poly G (8), Dinukleotid (13), Trinukleotid (6), Innsetting (18), delesjon (16)	[0,28 - 0,82]; Median: 0,49	97929929	417	335905	>99,9	0,34

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr18	9	99	19195	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Trinukleotid (10), Innsetting (4), delesjon (0)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,44	15967171	312	42077	>99,9	0,26
chr19	30	605	104004	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (31), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (7), Innsetting (2), delesjon (21)	[0,33 - 0,83]; Median: 0,59	85642066	3	678213	>99,9	0,79
chr20	12	179	33795	Poly A (6), Poly C (6), Poly T (7), Poly G (8), Trinucleotide (9), Insertion (5), delesjon (0)	[0,31 - 0,84]; Median: 0,53	28108712	0	38374	100	0,14

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr21	5	63	30642	Poly A (28), Poly C (6), Poly T (24), Poly G (7), Dinukleotid (5), Innsetting (2), delesjon (5)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,52	25319736	50	57434	>99,9	0,23
chr22	10	187	36727	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (19), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (6), Innsetting (6), delesjon (0)	[0,27 - 0,74]; Median: 0,51	30258131	0	42673	100	0,14
chrX	23	433	83576	Poly A (18), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (9), Dinukleotid (5), Trinukleotid (23), Innsetting (3), delesjon (0)	[0,2 - 0,72]; Median: 0,48	67318722	0	770544	100	1,13

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chrY	0	40	5476	Poly A (11), Poly C (8), Poly T (11), Poly G (5), Innsetting (0), delesjon (0)	[0,4 - 0,59]; Median: 0,45	0	0	0	N/A	N/A

Sekvenseringsresultatene for prøve NA12878 ble sammenlignet med en svært sikker genotype for NA12878, etablert av National Institutes of Standards and Technology (NIST) (v.2.19). Av de 9 232 målene var 8 009 mål fullstendig inneholdt i de svært sikre genomiske regionene, 776 mål hadde delvis overlapping, og 447 mål hadde ingen overlapping i NIST-sekvensen. Dette resulterte i 1 831 483 koordinater per replikat for sammenligning. Basebetegnelser uten variant ble sammenlignet med referansesekvensform hg19 for humant genom. Nøyaktighetsresultatene er vist i [Kimbanesamsvar for prøve NA12878 med NIST-database på side 46](#).

Tabell 18 Kimbanesamsvar for prøve NA12878 med NIST-database

Prøve	nr. Mål dekket	Autosom betegnelseevne	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
NA12878	8785	99,4	247709	218	394262149	4584	>99,9	>99,9	>99,9

Basert på dataene gitt av denne 18-løps kimbanestudien, kan NovaSeq 6000Dx-instrumentsekvensen konsekvent:

- GC-innhold ≥ 20 % (alle betegnede baser i 1692 sekvenserte amplikoner med 20 % GC-innhold betegnet riktig med en ingen betegnelse-frekvens på 0 %)
- GC-innhold ≤ 86 % (alle betegnede baser i 846 sekvenserte amplikoner med 86 % GC-innhold betegnet riktig med en ingen betegnelse-frekvens på 0 %)
- PolyA-lengder ≤ 46 (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 46 PolyA-repetisjoner kalt riktig med en ingen betegnelse-frekvens på 0,27 %)
- PolyT-lengder ≤ 40 (13384074 av 13384321 betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 40 PolyT-repetisjoner kalt korrekt med en ingen betegnelse-frekvens på 0,26 %)
- PolyG-lengder ≤ 11 (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 11 PolyG-repetisjoner kalt riktig med en ingen betegnelse-frekvens på 0 %)

- PolyC-lengder ≤ 8 (9815030 av 9815035 betegnede baser i 5922 sekvenserte målregioner med 8 PolyC-repetisjoner kalt riktig med en ingen betegnelse-frekvens på 0,53%)
- Dinukleotidrepetisjonslengder $\leq 31x$ (32233922 av 32233926 betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 31 dinukleotidrepetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 0,21 %)
- Trinukleotidrepetisjonslengder $\leq 23x$ (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 23 trinukleotidrepetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 0,21 %)
- Innsettingslengder ≤ 18 (alle betegnede baser i 1692 sekvenserte målregioner med 18 innsetting betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 7,71 %)
- Slettingslengder ≤ 21 (alle betegnede baser i 1692 sekvenserte målregioner med 21 delesjon betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 1,14 %)

Somatisk

Studien beskrevet her ble brukt til å vurdere variantanropsnøyaktigheten til Somatic FASTQ- og VCF-generasjonsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen på NovaSeq 6000Dx-instrument ved å bruke NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser).

Denne studien brukte en representativ analyse designet for å spørre en rekke gener som dekker 1 970 505 baser (9 232 mål) på tvers av alle 23 humane kromosomer. Platinagenom-DNA ble ekstrahert fra FFPE-behandlede blokker for å generere fire unike prøver for evaluering i studien.

Prøve GM12877 DNA ble fortynnet med prøve GM12878 DNA for å lage GM12877-13 med unike GM12877 heterozygote og homozygote varianter ved frekvenser nær henholdsvis 6,5 % og 13 %. Prøve GM12878-DNA ble på lignende måte fortynnet med prøve GM12877-DNA for å lage GM12878-13 med unike GM12878 heterozygote og homozygote varianter ved frekvenser nær henholdsvis 6,5 % og 13 %. Ufortynnet GM12877 og GM12878 ble også testet. Hver av prøvene ble testet i replikater på 12 bortsett fra ufortynnet GM12878, som ble testet i replikater på elleve. Totalt atten kjøring ble utført med tre sekvenseringsinstrumenter, tre loter med S4-reagenser og to operatører over seks startdager. Nøyaktigheten ble bestemt for SNV-er, innsettinger og delesjoner ved å sammenligne resultatene med Platinum Genomes versjon 2016-1.0.

Tabell 19 Kort beskrivelse av somatisk samsvar

Kriterier	Antall observasjoner ¹	Resultat av observasjoner ²	Resultat etter kjøring ³
PPA for somatiske SNVer	846	99,8	98,9
PPA for somatiske innsetninger	846	100	100
PPA for somatiske delesjoner	846	100	100
NPA	846	>99,9	>99,9
OPA	846	>99,9	>99,9

¹ Beregnet som = antall prøver per kjøring (47) x antall kjøring (18) = 846.

² Lavest observerte verdi ved prøverepлика over alle 18 kjøring.

³ Laveste verdi når data fra hver kjøring analyseres sammenlagt.

Somatisk samsvar per prøve på side 48 inneholder studiedataene presentert med positivt og negativt prosentamsvar for hver prøve, der variantresultatene er sammenlignet med en godt karakterisert sammensatt referansem metode for PPA-beregninger. De tre varianttypene (SNV-er, insersjoner og delesjoner) er kombinert. Siden referansem metoden kun gir resultater for de enkle nukleotidvariantene og insersjonene/delesjonene, sammenlignes baseresultater uten variant med referansesekvensen hg19 for humant genom for NPA-beregninger.

Tabell 20 Somatisk samsvar per prøve

Prøve	Autosom betegnelseevne	Forventede varianter	TP	FN	Variant ingen betegnelser	TN	FP	PPA	NPA	OPA
GM12877	95,4	96228	95022	198	1008	365425810	1203	99,8	>99,9	>99,9
GM12878	94,5	96768	96278	0	490	395002023	1278	100	>99,9	>99,9
GM12877-13	94,7	104976	103029	216	1731	395989324	1286	99,8	>99,9	>99,9
GM12878-13	95,2	96768	96027	0	741	397900884	1218	100	>99,9	>99,9

Somatisk samsvar per prøve etter varianttype på side 49 inneholder studiedataene presentert for hver prøve, der variantresultatene blir sammenlignet med den godt karakteriserte sammensatte referansem metoden. Deteksjon blir evaluert for hver varianttype – SNV-er, innsetninger og slettinger – separat. Referanseposisjoner er utelatt.

Tabell 21 Somatisk samsvar per prøve etter varianttype

Prøve	SNV-er			Inersjoner			Delesjoner		
	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN	Forventet	TP	FN
GM12877	89694	88488	198	3564	3564	0	2970	2970	0
GM12878	92664	92390	0	2160	2160	0	1944	1728	0
GM12877-13	97848	95901	216	3888	3888	0	3240	3240	0
GM12878-13	92664	92139	0	2160	2160	0	1944	1728	0

De fire prøvene ble ytterligere analysert for betegnelse av små innsetninger og delesjoner (indeler). En samlet oppsummering er presentert i [Oppsummering for somatisk indelpåvisning på side 49](#). Det var totalt 210 indeler i størrelse fra 1–18 bp for innsetninger og 1–21 bp for slettinger.

Tabell 22 Oppsummering for somatisk indelpåvisning

Varianttype	Forventede varianter	TP	FN	Variant ingen betegnelser	PPA
Inersjon	11772	11772	0	0	100
Delesjon	10098	9666	0	432	100

Den representative analysen besto av 9 232 mål som dekket en rekke genomisk innhold. GC-innholdet i målene varierte fra 0,20–0,86. Mål hadde også et utvalg av enkle nukleotid- (f.eks. PolyA, PolyT), dinukleotid- og trinukleotidrepetisjoner. Data kompilert på en per kromosom-basis for å bestemme effekten av genomisk innhold på prosentvis korrekte samtaler er presentert i [Nøyaktighet på somatisk kromosomnivå. på side 50](#). Prosent riktige betegnelser består av variant- og referansebetegnelser og er mindre enn 100 % hvis det finnes enten feil eller ingen betegnelser.

Tabell 23 Nøyaktighet på somatisk kromosomnivå.

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr1	47	728	138328	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (14), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Innsetting (3), Delesjon (0)	[0,22 - 0,8]; Median: 0,51	110145939	52	5642613	>99,9	4,9
chr2	39	628	159588	Poly A (46), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (7), Dinukleotid (22), Trinukleotid (8), Innsetting (5), Delesjon (1)	[0,24 - 0,81]; Median: 0,44	126795713	842	5850393	>99,9	4,4
chr3	38	650	137627	Poly A (18), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (7), Dinukleotid (12), Trinukleotid (6), Innsetting (1), Delesjon (1)	[0,25 - 0,86]; Median: 0,45	109902527	593	4889226	>99,9	4,3

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr4	17	370	73766	Poly A (9), Poly C (7), Poly T (25), Poly G (6), Dinukleotid (5), Trinukleotid (5), Innsetting (0), Delesjon (1)	[0,27 - 0,77]; Median: 0,45	59373461	16	2517412	>99,9	4,1
chr5	25	507	90008	Poly A (10), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (10), Trinukleotid (8), Innsetting (8), delesjon (18)	[0,29 - 0,79]; Median: 0,46	72261191	723	3116981	>99,9	4,1
chr6	39	453	126721	Poly A (28), Poly C (7), Poly T (33), Poly G (7), Dinukleotid (18), Trinukleotid (11), Innsetting (0), Delesjon (1)	[0,24 - 0,79]; Median: 0,48	98593101	687	4890221	>99,9	4,7

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr7	21	450	161501	Poly A (27), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (31), Trinukleotid (5), Innsetting (1), delesjon (4)	[0,2 - 0,77]; Median: 0,46	126913574	104	5773856	>99,9	4,4
chr8	18	381	67775	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (9), Innsetting (4), Delesjon (0)	[0,26 - 0,78]; Median: 0,47	53430489	175	2958909	>99,9	5,2
chr9	23	347	87100	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (27), Poly G (8), Dinukleotid (9), Trinukleotid (9), Innsetting (0), Delesjon (1)	[0,27 - 0,83]; Median: 0,49	69594586	74	3260257	>99,9	4,5

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr10	14	317	66723	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Dinukleotid (16), Trinukleotid (6), Innsetting (0), Delesjon (0)	[0,23 - 0,78]; Median: 0,44	53209592	90	2469444	>99,9	4,4
chr11	29	511	91786	Poly A (28), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinukleotid (26), Trinukleotid (7), Innsetting (2), delesjon (2)	[0,28 - 0,8]; Median: 0,47	72291795	150	3665560	>99,9	4,8
chr12	29	577	120365	Poly A (19), Poly C (8), Poly T (40), Poly G (7), Dinukleotid (7), Trinukleotid (7), Innsetting (0), Delesjon (3)	[0,26 - 0,77]; Median: 0,49	96109352	101	4331932	>99,9	4,3

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr13	13	283	58639	Poly A (24), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinukleotid (6), Trinukleotid (8), Innsetting (14), delesjon (0)	[0,28 - 0,79]; Median: 0,42	46130028	44	2384839	>99,9	4,9
chr14	11	147	26980	Poly A (21), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (11), Dinukleotid (6), Trinukleotid (6), Innsetting (4), Delesjon (0)	[0,29 - 0,77]; Median: 0,47	21336891	0	1078329	100	4,8
chr15	15	266	52091	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (6), Trinukleotid (8), Innsetting (4), Delesjon (0)	[0,29 - 0,76]; Median: 0,46	41918631	184	1753300	>99,9	4,0

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr16	21	366	80030	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (10), Innsetting (15), delesjon (21)	[0,3 - 0,76]; Median: 0,54	62344351	18	4540539	>99,9	6,8
chr17	36	645	118062	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (18), Poly G (8), Dinukleotid (13), Trinukleotid (6), Innsetting (18), Delesjon (1)	[0,28 - 0,82]; Median: 0,49	93811318	414	4403622	>99,9	4,5
chr18	9	99	19195	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Trinukleotid (10), Innsetting (0), Delesjon (0)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,44	15007653	6	990633	>99,9	6,2

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr19	30	605	104004	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (31), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (7), Innsetting (2), Delesjon (3)	[0,33 - 0,83]; Median: 0,59	81416722	455	4860311	>99,9	5,6
chr20	12	179	33795	Poly A (6), Poly C (6), Poly T (7), Poly G (8), Trinucleotide (9), Insertion (5), delesjon (0)	[0,31 - 0,84]; Median: 0,53	26833936	7	1301905	>99,9	4,6
chr21	5	63	30642	Poly A (28), Poly C (6), Poly T (24), Poly G (7), Dinukleotid (5), Innsetting (1), Delesjon (0)	[0,22 - 0,78]; Median: 0,52	24169250	44	1172087	>99,9	4,6

Kromosom	# Gener	# Mål	# Baser	Genomisk innhold	GC rekkevidde	Riktige betegnelser	Feil betegnelser	Ingen betegnelser	% korrekte betegnelser	% ingen betegnelser
chr22	10	187	36727	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (19), Poly G (7), Dinukleotid (5), Trinukleotid (6), Innsetting (6), delesjon (0)	[0,27 - 0,74]; Median: 0,51	28887217	86	1392179	>99,9	4,6
chrX	23	433	83576	Poly A (18), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (9), Dinukleotid (5), Trinukleotid (23), Innsetting (3), delesjon (0)	[0,2 - 0,72]; Median: 0,48	64231080	241	3852253	>99,9	5,7
chrY	0	40	5476	Poly A (11), Poly C (8), Poly T (11), Poly G (5), Innsetting (0), delesjon (0)	[0,4 - 0,59]; Median: 0,45	0	0	0	N/A	N/A

Sekvenseringsresultatene for prøve GM12878 ble sammenlignet med en svært sikker genotype for NA12878, etablert av National Institute of Standards and Technology (NIST) (v.2.19). Av de 9 232 målene var 8 009 mål fullstendig inneholdt i de svært sikre genomiske regionene, 776 mål hadde delvis overlapping, og 447 mål hadde ingen overlapping i NIST-sekvensen. Dette resulterte i 1 831 483 koordinater per replikat for sammenligning. Basebetegnelser uten variant ble sammenlignet med referansesekvensform hg19 for humant genom. Nøyaktighetsresultatene er vist i [Somatisk samsvar for prøve GM12878 med NIST-database på side 58](#).

Tabell 24 Somatisk samsvar for prøve GM12878 med NIST-database

Prøve	nr. Mål dekket	Autosom betegnelseevne	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
GM12878	8785	94,5	247228	0	375073821	2043	100	>99,9	>99,9

Basert på dataene fra denne somatiske studien med 18 kjøringar, kan NovaSeq 6000Dx-instrument konsekvent sekvensere:

- GC-innhold ≥ 20 % (alle betegnede baser i 1692 sekvenserte målregioner med 20 % GC-innhold betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 0,34 %)
- GC-innhold ≤ 86 % (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 86 % GC-innhold betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 4,21 %)
- PolyA-lengder ≤ 46 (14550082 av 14550083 betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 46 PolyA-repetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 4,18 %)
- PolyT-lengder ≤ 40 (12833489 av 12833491 betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 40 PolyT-repetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 4,37 %)
- PolyG-lengder ≤ 11 (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 11 PolyG-repetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 7,59 %)
- PolyC-lengder ≤ 8 (9405604 av 9405615 betegnede baser i 5922 sekvenserte målregioner med 8 PolyC-repetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 4,68 %)
- Dinukleotidrepetisjonslengder $\leq 31x$ (30996684 av 30996712 betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 31 dinukleotidrepetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 4,04 %)
- Trinukleotidrepetisjonslengder $\leq 23x$ (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 23 trinukleotidrepetisjoner betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 5,39 %)
- Innsettingslengder ≤ 18 (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 18 innsetting betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 1,44 %)
- Slettingslengder ≤ 21 (alle betegnede baser i 846 sekvenserte målregioner med 21 Sletting betegnet riktig med ingen betegnelse-frekvens på 7,86 %)

Presisjon

Presisjonen til NovaSeq 6000Dx-instrument ble evaluert med platinagenomprøver med en representativ analyse beregnet på å undersøke en rekke gener som dekker 1.970.505 baser over 23 forskjellige kromosomer ved bruk av 9 232 måloligoer. Totalt 1723 målrettede små varianter (SNV-er, innsettinger og delesjoner) ble evaluert. Kimlinjetesting besto av elleve eller tolv replikater av fire unike platinagenomprøver. Somatisk testing besto av elleve eller tolv replikater av fire unike FFPE-behandlede platinagenomprøver på forskjellige VAF-nivåer. Prøvebiblioteker ble fremstilt ved å bruke Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-settreatagenser.

Testing ble utført på ett internt sted ved bruk av tre NovaSeq 6000Dx-instrument-er, tre lots hver av NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser) og NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser), og to operatører over seks startdager. For hver startdag ble kimlinjeprøvebibliotekene sekvensert på den ene instrumentsiden ved bruk av S2-reagenser og Germline FASTQ- og VCF-genereringsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen, og somatiske prøvebiblioteker ble sekvensert på den andre instrumentsiden ved bruk av S4-reagenser og Somatic FASTQ og VCF generasjonsanalysearbeidsflyt for DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen. Denne testingen resulterte i 18 strømningsceller for hver kimlinje og somatiske arbeidsflyter.

Kimbane

For germline-løp rapporteres genomiske steder der en målrettet germline-variant oppdages som positive (variant). For forventede positive kimlinjevarianter ble dataene evaluert for ingen betegnelse-frekvens og prosentandel positiv betegnelse (PPC) innenfor hver varianttype (SNV, innsetting, delesjon). [Innenfor laboratoriet presisjons-kimbanebetegnelserobservasjoner for forventede positive resultater etter varianttype på side 59](#) oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med nedre og øvre 95 % konfidensnivåer (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson-scoremetoden, for hver varianttype.

Tabell 25 Innenfor laboratoriet presisjons-kimbanebetegnelserobservasjoner for forventede positive resultater etter varianttype

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Observerte positive betegnelser ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PPC	95 % LCL ³	95 % UCL
SNV	6	980316	<0,01	979854	980310	99,95	99,95	99,96
Innsersjon	0	36738	0	36738	36738	100	>99,99	100
Delesjon	18	34434	0,05	32160	34416	93,44	93,18	93,70

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Positive betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant er påvist.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Genomiske lokasjoner der en målrettet variant ikke er påvist rapporteres som negative (villtype). For forventede negative lokasjoner ble dataene evaluert for ingen anropshastighet og prosent negativ anrop (PNC). [Innenfor laboratoriet presisjons-Kimbanebetegnelsesobservasjoner for forventede negative resultater på side 60](#) oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med nedre og øvre 95 % konfidensnivåer (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson-scoremetoden.

Tabell 26 Innenfor laboratoriet presisjons-Kimbanebetegnelsesobservasjoner for forventede negative resultater

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Negative betegnelser observert ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PNC	95 % LCL ³	95 % UCL
Villtype	0	406170	0	406170	406170	100	>99,99	100

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Negativt betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant ikke oppdages.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Bidraget til hver parameter (instrument, reagenslot, dag, bibliotekreplik) til den totale variabiliteten ble bestemt ved varianskomponentanalyse ved å bruke variantfrekvens som responsvariabel. Det totale standardavviket hadde et gjennomsnitt på 0,0370. Den største bidragsyteren til variasjon i variantfrekvens var fra replikater av bibliotekprep, som bidro til 17,1 % av den totale variasjonen. Dag bidro til 1 %, mens instrument og reagenslot hver bidro til mindre enn 1 % av den totale variasjonen [Innenfor laboratoriepresisjonsvarienskomponenter for kimlinjeprøvevariantfrekvenser på side 60](#) (SD = standardavvik).

Tabell 27 Innenfor laboratoriepresisjonsvarienskomponenter for kimlinjeprøvevariantfrekvenser

Komponent	Gjennomsnittlig SD	Gjennomsnittlig % av totalt SD
Dag-	0,0020	1,028
Instrument-	0,0018	0,837
Forbruksmaterialelot	0,0016	0,712
Bibliotekreplik	0,0143	17,110
Totalt	0,0370	100

Somatisk

For somatiske kjøring rapporteres genomiske lokasjoner der en målrettet somatisk variant er påvist som positive (variant). For fortynnede prøver GM12877-13 og GM12878-13 med forventede positive somatiske varianter ved VAF mellom 6,5 % og 13 %, ble dataene evaluert for ingen betegnelse-frekvens og prosentandel positive betegnelser (PPC) innenfor hver varianttype (SNV, insetting, delesjon) [Somatiske presisjonsobservasjoner innenfor laboratoriet for forventede positive resultater etter varianttype \(gjennomsnittlig VAF er \$\geq 6,5\$ % og \$\leq 13\$ % på side 61\)](#) oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med de nedre og øvre 95 % konfidensnivåene (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson Poengmetode, for hver varianttype.

Tabell 28 Somatiske presisjonsobservasjoner innenfor laboratoriet for forventede positive resultater etter varianttype (gjennomsnittlig VAF er $\geq 6,5\%$ og $\leq 13\%$)

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Observerte positive betegnelser ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PPC	95 % LCL ³	95 % UCL
SNV	0	96939	0	96069	96939	99,10	99,04	99,16
Inserasjon	0	3004	0	3004	3004	100	99,87	100
Delesjon	0	2912	0	2907	2912	99,83	99,60	99,93

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Positive betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant er påvist.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Genomiske lokasjoner der en målrettet somatisk variant ikke er påvist rapporteres som negative (villtype). For forventede negative lokasjoner ble dataene evaluert for ingen betegnelse-frekvens og prosentandel negative betegnelser. [Somatiske presisjonsobservasjoner innen laboratoriet for forventede negative resultater på side 61](#) oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med nedre og øvre 95 % konfidensnivåer (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson-scoremetoden, for hver varianttype.

Tabell 29 Somatiske presisjonsobservasjoner innen laboratoriet for forventede negative resultater

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Negative betegnelser observert ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PNC	95 % LCL ³	95 % UCL
Villtype	0	194922	0	194919	194922	>99,99	>99,99	100

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Negativt betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant ikke oppdages.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Bidraget til hver parameter (instrument, reagenslot, dag, bibliotekreplik) til den totale variabiliteten ble bestemt ved varianskomponentanalyse ved å bruke variantfrekvens som responsvariabel. Det totale standardavviket hadde et gjennomsnitt på 0,0062. Bibliotekprep-replikater forble den viktigste kilden til variasjon, og sto for 50,7 % av totalen. Dag, instrument og forbruksparti bidro alle til mindre enn 1 % av den totale variasjonen [Innen laboratoriepresisjonsvarienskomponenter for somatiske prøvevariantfrekvenser på side 61](#) (SD = standardavvik).

Tabell 30 Innen laboratoriepresisjonsvarienskomponenter for somatiske prøvevariantfrekvenser

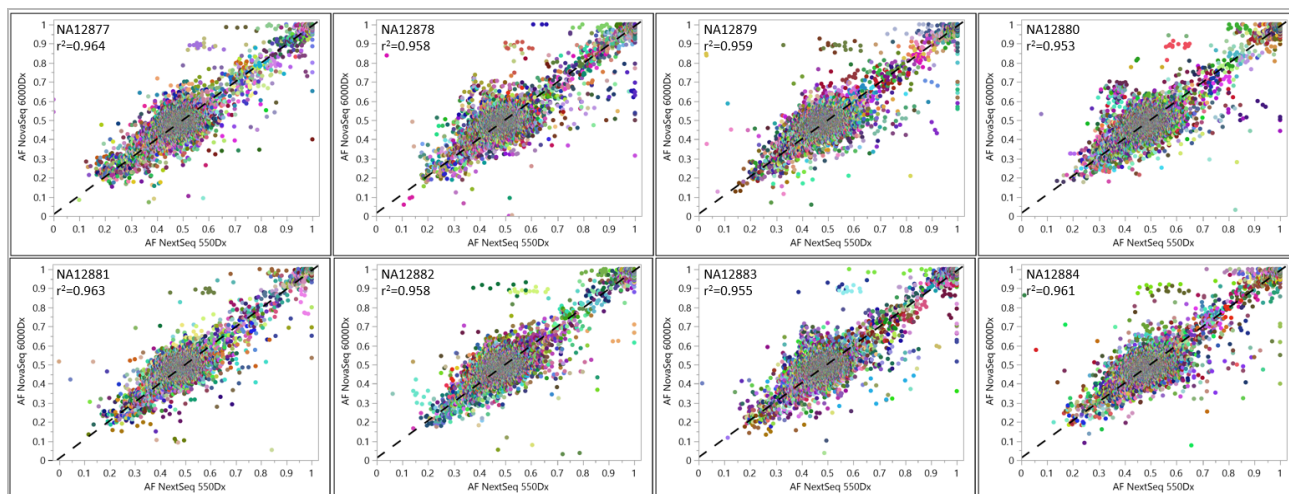
Komponent	Gjennomsnittlig SD	Gjennomsnittlig % av totalt SD
Dag-	0,0002	0,41
Instrument-	0,0002	0,40
Forbruksmaterialelot	0,0002	0,35
Bibliotekreplik	0,0044	50,7

Komponent	Gjennomsnittlig SD	Gjennomsnittlig % av totalt SD
Totalt	0,0062	100

Metode sammenligning

En studie ble utført for å sammenligne ytelsen mellom NovaSeq 6000Dx- og NextSeq 550Dx-instrumentene. Variant frekvensavtale for blodprøver ble evaluert ved å bruke en representativ analyse designet for å undersøke en rekke gener som dekker 1.970.505 baser på tvers av alle 23 humane kromosomer. Åtte platinagenom-DNA-prøver ble testet, syv i replikater av seks og en (NA12881) i replikater av fem. Biblioteker ble sekvensert på NovaSeq 6000Dx-instrument ved å bruke Germline FASTQ- og VCF-genereringsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen, og på NextSeq 550Dx-instrumentet ved å bruke DNA Generate FASTQ Dx Local Run Manager-modulen. *Variant Frequency Correlation Plots (Poengene er farget av unike varianter. Varianter kan farges forskjellig i hvert enkelt plot.)* på side 62 plottet VAF-korrelasjonen mellom de to instrumentene for hver prøve. Basert på den sterke korrelasjonen mellom NovaSeq 6000Dx-instrument og NextSeq 550Dx-instrumentet, er ytelsesegenskaper knyttet til pre-analytiske faktorer (f.eks. ekstraksjonsmetoder eller forstyrrende stoffer) bestemt til å være anvendelige for begge instrumentene. Se pakningsvedlegget Illumina DNA Prep with Enrichment Dx for ytterligere detaljer.

Figur 15 Variant Frequency Correlation Plots (Poengene er farget av unike varianter. Varianter kan farges forskjellig i hvert enkelt plot.)



Reproduserbarhet

Reproduserbarheten for NovaSeq 6000Dx-instrument ble evaluert med platinagenomprøver med en representativ analyse beregnet på å undersøke en rekke gener som dekker 1.970.505 baser på tvers av 23 forskjellige kromosomer ved bruk av 9 232 mållogoer. Totalt 1723 målrettede små varianter (SNV-er,

innsettinger og delesjoner) ble evaluert. Kimlinjetesting besto av tre eller fire replikater av tolv unike platinaprøver. Somatisk testing besto av fem eller seks replikater av åtte unike FFPE-behandlede platinagenomprøver på forskjellige VAF-nivåer. Prøvebiblioteker ble fremstilt ved å bruke x-settreagenser.

Testing ble utført på tre eksterne steder med ett parti hver av NovaSeq 6000Dx S2-reagenssett v1.5 (300 sykluser) og NovaSeq 6000Dx S4-reagenssett v1.5 (300 sykluser). Et enkelt NovaSeq 6000Dx-instrument ble brukt på hvert sted. To operatører utførte testingen på hvert sted. Hver operatør utførte testing på tre ikke-påfølgende startdager for hver prøvetype for totalt 36 strømningsceller på de tre stedene. For hver startdag ble kimlinjeprøvebibliotekene sekvensert på instrumentside A ved bruk av S2-reagenser og Germline FASTQ- og VCF-genereringsanalysearbeidsflyten til DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen, og somatiske prøvebiblioteker ble sekvensert på instrumentside B ved bruk av S4-reagenser og Somatic FASTQ og VCF arbeidsflyt for generasjonsanalyse av DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx-applikasjonen. Denne testingen resulterte i 18 strømningsceller for hver kimlinje og somatiske arbeidsflyter.

Kimbane

For germline-løp rapporteres genomiske steder der en målrettet germline-variant oppdages som positive (variant). For forventede positive kimlinjevarianter ble dataene evaluert for ingen betegnelse-frekvens og prosentandel positiv betegnelse (PPC) innenfor hver varianttype (SNV, innsetting, delesjon).

[Kimbanebetegnelsesobservasjoner for forventede positive resultater etter varianttype på side 63](#)

oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med nedre og øvre 95 % konfidensnivåer (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson-scoremetoden, for hver varianttype.

Tabell 31 Kimbanebetegnelsesobservasjoner for forventede positive resultater etter varianttype

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Observerte positive betegnelser ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PPC	95 % LCL ³	95 % UCL
SNV	0	991026	0	990276	991026	99,92	99,92	99,93
Innersjon	0	38358	0	38358	38358	100	99,99	100
Delesjon	0	34758	0	32228	34758	92,72	92,44	92,99

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Positive betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant er påvist.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Genomiske lokasjoner der en målrettet variant ikke er påvist rapporteres som negative (villtype). For forventede negative lokasjoner ble dataene evaluert for ingen anropshastighet og prosent negativ anrop (PNC).

[Kimbanebetegnelsesobservasjoner for forventede negative resultater på side 64](#) oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med nedre og øvre 95 % konfidensnivåer (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson-scoremetoden.

Tabell 32 Kimbanebetegnelsesobservasjoner for forventede negative resultater

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Negative betegnelser observert ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PNC	95 % LCL ³	95 % UCL
Villtype	0	393516	0	393516	393516	100	>99,99	100

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Negativt betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant ikke oppdages.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Somatisk

For somatiske kjøring rapporteres genomiske lokasjoner der en målrettet somatisk variant er påvist som positive (variant). For forventede positive somatiske varianter der gjennomsnittlig variantallelfrekvens (VAF) er større enn eller lik 14 % og mindre enn eller lik 28 %, ble dataene evaluert for ingen betegnelse-frekvens og prosent positiv anrop (PPC) innenfor hver varianttype (SNV, innsetting, delesjon). [Somatiske betegnelsesobservasjoner for forventede positive resultater etter varianttype \(Gjennomsnittlig VAF ≥ 14 % og ≤ 28 %\) på side 64](#) oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med nedre og øvre 95 % konfidensnivåer (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson-scoremetoden, for hver varianttype.

Tabell 33 Somatiske betegnelsesobservasjoner for forventede positive resultater etter varianttype (Gjennomsnittlig VAF ≥ 14 % og ≤ 28 %)

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Observerte positive betegnelser ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PPC	95 % LCL ³	95 % UCL
SNV	0	71028	0	70314	71028	98,99	98,92	99,07
Innsjjon	0	1962	0	1962	1962	100	99,80	100
Delesjon	0	2142	0	2098	2142	97,95	97,25	98,47

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Positive betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant er påvist.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Genomiske lokasjoner der en målrettet somatisk variant ikke er påvist rapporteres som negative (villtype). For forventede negative lokasjoner ble dataene evaluert for ingen betegnelse-frekvens og prosentandel negative betegnelser. [Somatiske betegnelsesobservasjoner for forventede negative resultater på side 65](#) oppsummerer de observerte frekvensene, sammen med nedre og øvre 95 % konfidensnivåer (LCL/UCL) beregnet ved hjelp av Wilson-scoremetoden, for hver varianttype.

Tabell 34 Somatiske betegnelsesobservasjoner for forventede negative resultater

Varianttype	Ingen betegnelser observert ¹	Totalt antall betegnelser	Prosent ingen betegnelser	Negative betegnelser observert ²	Totalt evaluerbare betegnelser	PNC	95 % LCL ³	95 % UCL
Villtype	0	92718	0	92714	92718	>99,99	99,99	100

¹ Ingen betegnelser definert som målrettet kromosomposisjon der en variant ikke kan bestemmes (på grunn av lav dekningsdybde).

² Negativt betegnelser definert som målrettede kromosomposisjoner der en variant ikke oppdages.

³ Tosidig 95 % konfidensintervall beregnet via Wilson-scoremetoden.

Revisjonshistorikk

Dokument	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 200025276 v01	September 2022	Oppdaterte presisjonsdata for observasjoner av kimlinjeanrop.
Dokumentnr. 200025276 v00	August 2022	Første versjon.

Patenter og varemerker

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

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

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

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

© 2022 Illumina, Inc. Med enerett.

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

Kontaktinformasjon



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



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

Australsk sponsor

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

Produktmerking

Ønsker du en fullstendig oversikt over symboler som finnes på produktemballasjen og -merkingen, kan du gå til support.illumina.com og lese under fanen *Dokumenatsjon* for settet.