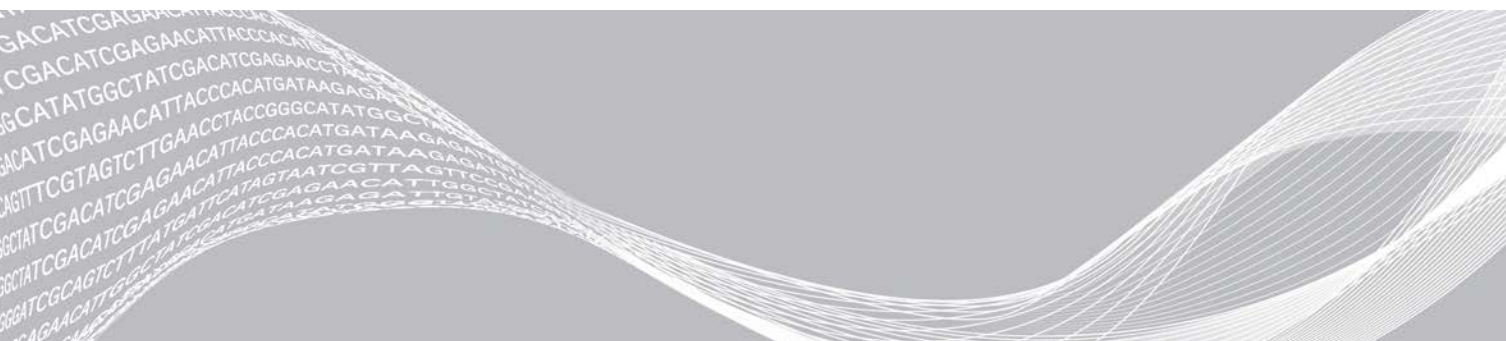


„Local Run Manager“ „Somatic Variant“ analizės modulis

Darbo eigos vadovas, skirtas „NextSeq 550Dx“

NAUDOTI IN VITRO DIAGNOSTIKAI

Apžvalga	3
Serijos informacijos įvedimas	4
Analizės metodai	6
Serijos ir mėginio duomenų peržiūra	7
Analizės ataskaita	8
Analizės išvesties failai	9
Bazių priskyrimas ir indeksų įvairovė	16
Keitimų istorija	17
Techninė pagalba	18



Šis dokumentas ir jo turinys priklauso „Illumina, Inc.“ ir jos filialams („Illumina“), jis skirtas tik klientui naudoti pagal sutartį, kiek tai susiję su čia aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimu, ir jokių kitų tikslų. Šis dokumentas ir jo turinys negali būti naudojami ar platinami jokių kitų tikslų ir (arba) kitaip negali būti pateikiami, atskleidžiami ar atkuriami koku nors būdu be išankstinio rašytinio „Illumina“ sutikimo. „Illumina“ šiuo dokumentu neperduoda jokios trečiosios šalies licencijos pagal jos patentą, prekės ženklą, autorių teises, bendras teises nei panašių teisių.

Kvalifikuotas ir tinkamai išmokytas personalas turi griežtai ir aiškiai vadovautis šiame dokumente pateiktomis instrukcijomis, kad būtų užtikrintas tinkamas ir saugus šiame dokumente aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimas. Prieš naudojant tokį (-ius) produktą (-us), visas šio dokumento turinys turi būti išsamiai perskaitytas ir suprastas.

JEI NEBUS PERSKAITYTOS VISOS ČIA PATEIKTOS INSTRUKCIJOS IR JOMIS NEBUS AIŠKIAI VADOVAUJAMASI, GALIMAS PRODUKTO (-Ų) PAŽEIDIMAS, NAUDOTOJO BEI KITŲ ASMENŲ SUŽEIDIMAS IR ŽALA KITAI NUOSAVYBEI, BE TO, TAI PANAIKINA PRODUKTUI (-AMS) TAIKOMOS GARANTIJOS GALIOJIMĄ.

„ILLUMINA“ NEPRISIIMA JOKIOS ATSAKOMYBĖS, JEI ČIA APRAŠOMAS (-I) PRODUKTAS (-AI) (ISKAITANT DALIS IR PROGRAMINĘ ĮRANGĄ) NAUDOJAMAS (-I) NETINKAMAI.

© 2021 m. „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

Visi prekių ženklai priklauso „Illumina, Inc.“ ar kitiems savininkams. Informacijos apie konkrečius prekių ženklus ieškokite adresu www.illumina.com/company/legal.html.

Apžvalga

„Local Run Manager“ „Somatic Variant“ modulis skirtas „Illumina TruSeq Custom Amplicon Kit Dx“ tyrimui atlikti naudojant „NextSeq 550Dx“. Naudojant su „Somatic Variant“ moduliu, tyrimo paskirtis yra paruošti bibliotekas, naudojamas DNR sekoms nustatyti iš formalinu fiksuotų, į parafiną įlietų (angl. „formalin-fixed, paraffin-embedded“, FFPE) audinių. Tyrimas padeda aptikti somatines mutacijas esant mažam variantų dažniui.

Analizės modulis įvertina trumpus amplifikuotos DNR regionus, arba amplikonus, ieškodamas variantų. Kryptinga amplikonų sekoskaita užtikrina didelę konkrečių regionų aprėptį esant dideliame mėginių skaičiui. Analizės modulis atlieka antrinę analizę ir ataskaitų kūrimą pagal sekoskaitos serijas taikydamas dvigubos grandinės metodą, apimančią tiesioginius ir atvirkštinius oligonukleotidų telkinius. Žr. „TruSeq Custom Amplicon Kit Dx“ (dokumento Nr. 1000000029772) pakuotės lapelį.

„Somatic Variant“ analizės moduliui reikia 300 ciklų sekoskaitos eksploatacinių medžiagų. Daugiau informacijos žr. „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinio (2 versija) arba „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinio (2.5 versija) pakuotės lapelyje.

Apie šį vadovą

Šiame vadove pateiktos instrukcijos, kaip nustatyti „Somatic Variant“ analizės modulio sekoskaitos ir analizės serijos parametrus. Daugiau informacijos apie „Local Run Manager“ skydelį ir sistemos nuostatas žr. „NextSeq 550Dx“ prietaiso informaciniame vadove (dokumento Nr. 1000000009513).

„Local Run Manager“ peržiūra

„Local Run Manager“ sąsają galima peržiūrėti naudojant „NextSeq 550Dx“ operacinę programinę įrangą (NOS) arba žiniatinklio naršyklę. Palaikoma žiniatinklio naršyklė yra „Chromium“.



PASTABA

Jei naudojate nepalaikomą naršyklę, sulaukę raginimo pranešimo „Confirm Unsupported Browser“ (patvirtinti nepalaikomą naršyklę) atsisiųskite palaikomą naršyklę. Norėdami atsisiųsti palaikomą „Chromium“ versiją, pasirinkite **čia**.

Peržiūra naudojant prietaiso monitorių

- 1 Jei „Local Run Manager“ sąsają norite peržiūrėti naudodami prietaiso monitorių, atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų.
 - ▶ Pagrindiniame NOS ekrane pasirinkite **Local Run Manager**. Viršutiniame dešiniajame kampe spustelėkite X, kad grįžtumėte į NOS, kai baigsite.
 - ▶ Pasirinkite NOS lango suskleidimo piktogramą, atidarykite prietaise įdiegtą žiniatinklio naršyklę „Chromium“, tada adreso juostoje įveskite **http://localhost**. NOS langą gali suskleisti tik naudotojai, turintys administratoriaus teises.

Peržiūra naudojant prie tinklo prijungtą kompiuterį

- 1 Žiniatinklio naršyklę „Chromium“ atidarykite kompiuteryje, kuris turi prieigą prie to paties tinklo kaip prietaisas, tada prisijunkite įvedę prietaiso IP adresą arba pavadinimą. Pavyzdžiui, **http://myinstrument**.

Serijos informacijos įvedimas

Parametrų nustatymas

- 1 Prisijunkite prie „Local Run Manager“.
- 2 Pasirinkite **Create Run** (kurti seriją) ir pasirinkite **Somatic Variant**.
- 3 Įveskite serijos pavadinimą, pagal kurį serija bus identifiukuojama nuo sekoskaitos iki analizės. Naudokite raides, skaitmenis, tarpus, pabraukimo brūkšnį ar brūkšnį.
- 4 **[Pasirinktinai]** Įveskite serijos aprašą, padedantį identifiukuoti seriją. Naudokite raides, skaitmenis, tarpus, pabraukimo brūkšnį ar brūkšnį.
- 5 Išskleidžiamajame sąrašė pasirinkite mėginių skaičių ir indeksų rinkinį. Rinkdamiesi atsižvelkite į toliau pateiktą informaciją.
 - ▶ Išskleidžiamajame sąrašė nurodytas mėginių skaičius indeksų rinkinyje. Pavyzdžiui, „24-Set 1“ nurodo, kad turi būti tiriami 24 mėginiai, taikant indeksus iš 1 indeksų rinkinio.
 - ▶ Indeksų rinkinio skaičiai nurodo skirtingus „i5“ indeksų rinkinius. Tiek „Set 1“ (1 rinkinys), tiek „Set 2“ (2 rinkinys) užtikrina indeksų įvairovę. Du indeksų rinkiniai siūlomi siekiant išvengti vieno rinkinio išsekimo.
 - ▶ Pasirinkite mėginių skaičių, kuo panašesnį į tiriamų mėginių skaičių. Jei tikslaus mėginių skaičiaus sąrašė nėra, pasirinkite panašiausią, bet mažesnį už tiriamų mėginių skaičių. Pavyzdžiui, jei ketinate tirti 18 mėginių, pasirinkite 16.
 - ▶ Mėginių šulinėliai ir indeksų deriniai, atitinkantys indeksų įvairovės reikalavimus, paryškinti žalia spalva. Jei pasirinksite kitus šulinėlius ir indeksų derinius, bandant išsaugoti seriją, bus pateikiamas pranešimas, jei nesilaikoma indeksų įvairovės reikalavimų.

Serijos deklaracijos failų importavimas

- 1 Patikrinkite, ar deklaracijos, kurias norite importuoti, prieinamos pasiekiamoje tinklo vietoje arba USB atmintuke.
- 2 Pasirinkite **Import Manifests** (importuoti deklaracijas).
- 3 Raskite deklaracijos failą ir pasirinkite deklaracijas, kurias norite įtraukti.



PASTABA

Kad deklaracijų failai būtų prieinami visoms serijoms, kurios vykdomos naudojant „Somatic Variant“ analizės modulį, deklaracijos failus įtraukite naudodami funkciją „Module Settings“ (modulio nuostatos). Norint naudotis šia funkcija, reikia turėti administratoriaus lygio teises. Daugiau informacijos žr. „NextSeq 550Dx“ prietaiso informaciniame vadove (dokumento Nr. 1000000009513).


Mėginių priskyrimas serijai

Norėdami priskirti mėginius serijai, pasirinkite vieną iš parinkčių ir vykdykite tolesnius nurodymus.

- ▶ **Enter samples manually** (įvesti mėginius neautomatiškai) – naudokite tuščią lentelę ekrane „Create Run“ (kurti seriją).
- ▶ **Import samples** (importuoti mėginius) – suraskite išorinį kableliais atskirtų verčių (*.csv) formato failą. Ekrane „Create Run“ (kurti seriją) galima atsisiųsti šabloną.


Užpildę mėginių lentelę, mėginių informaciją galite eksportuoti į išorinį failą. Šiuo failu remkitės ruošdami bibliotekas arba importuokite failą kitai serijai.

Įveskite mėginius rankiniu būdu

- 1 Įveskite unikalų mėginio pavadinimą lauke „Sample Name“ (mėginio pavadinimas). Naudokite raides, skaitmenis, tarpus, brūkšnius ar pabraukimo brūkšnius. Mėginio pavadinimas automatiškai įvedamas atitinkamame šulinėlyje kitame telkinyje.
- 2 **[Pasirinktinai]** Kai naudojate teigiamos ar neigiamos kontrolinės medžiagos mėginius, spustelėkite dešiniuoju pelės klavišu ir pasirinkite kontrolinės medžiagos tipą. Vieno mėginio šulinėlio kontrolinė medžiaga automatiškai užpildo atitinkamą šulinėlį kitame telkinyje ta pačia kontroline medžiaga.
- 3 **[Pasirinktinai]** Įveskite mėginio aprašą lauke „Sample Description“ (mėginio aprašas). Naudokite raides, skaitmenis, tarpus, brūkšnius ar pabraukimo brūkšnius. Mėginio aprašas automatiškai įvedamas atitinkamame šulinėlyje kitame telkinyje. Mėginio aprašai yra susieti su mėginio ID. Mėginio aprašai perrašomi, jei tas pats mėginio ID dar kartą naudojamas vykdant tolesnę seriją.
- 4 Pasirinkite adapterį „Index 1“ (1 indeksas) išskleidžiamajame sąrašė „Index 1“ (i7) (1 indeksas (i7)). Jei naudojate siūlomus mėginių šulinėlius, programinė įranga automatiškai parenka „i7“ ir „i5“ indeksų adapterius, atitinkančius indeksų įvairovės reikalavimus. Jei tikslaus tiriamų mėginių skaičiaus sąrašė nėra, būtinai pasirinkite papildomiems šulinėliams skirtus indeksų adapterius. Jei reikia pasirinkti papildomiems šulinėliams skirtus indeksus arba nenaudojate rekomenduojamų indeksų adapterių derinių, prieš pasirinkdami indeksus būtinai perskaitykite skyrių *Bazių priskyrimas ir indeksų įvairovė 16 psl.*
- 5 Pasirinkite adapterį „Index 2“ (2 indeksas) išskleidžiamajame sąrašė „Index 2“ (i5) (2 indeksas (i5)).
- 6 Išskleidžiamajame sąrašė „Manifest“ (deklaracija) pasirinkite deklaracijos failą. „Pool A“ (A telkinys) esantiems mėginiams reikalingas kitas deklaracijos failas, nei naudojamas „Pool B“ (B telkinys) mėginiams.
- 7 Pasirinkite atitinkamą parinktį, jei norite peržiūrėti, išspausdinti ar išsaugoti plokštelės išdėstymą, kad juo būtų galima remtis ruošiant bibliotekas.
 - ▶ Norėdami pamatyti plokštelės išdėstymą, pasirinkite piktogramą  **Print** (spausdinti). Pasirinkite **Print** (spausdinti), kad išspausdintumėte plokštelės išdėstymą.
 - ▶ Pasirinkite **Export** (eksportuoti), kad eksportuotumėte mėginio informaciją į išorinį failą. Patikrinkite, ar deklaracijos ir mėginio informacija yra tinkama. Netinkama informacija gali turėti įtakos rezultatams.
- 8 Pasirinkite **Save Run** (išsaugoti seriją).

Mėginių importavimas

- 1 Pasirinkite **Import Samples** (importuoti mėginius) ir eikite į mėginio informacijos failo vietą. Galima importuoti dviejų rūšių failus.
 - ▶ Ekrane „Create Run“ (kurti seriją) pasirinkite **Template** (šablonas), kad sukurtumėte naują plokštelės šabloną. Šablono faile pateikiamos tinkamos importuotinos stulpelių antraštės. Kiekviename stulpelyje įveskite serijos mėginių informaciją. Ištrinkite informaciją nenaudojamuose langeliuose ir išsaugokite failą.

- ▶ Naudokite mėginio informacijos failą, kuris buvo eksportuotas iš „Somatic Variant“ modulio, naudodami funkciją „Export“ (eksportuoti).
- 2 Norėdami pamatyti plokštelės išdėstymą, pasirinkite piktogramą  **Print** (spausdinti).
- 3 Pasirinkite **Print** (spausdinti), kad išspausdintumėte plokštelės išdėstymą, kuris bus naudojamas ruošiant bibliotekas.
- 4 **[Pasirinktinai]** Pasirinkite **Export** (eksportuoti), kad eksportuotumėte mėginio informaciją į išorinį failą. Patikrinkite, ar deklaracijos ir mėginio informacija yra tinkama. Netinkama informacija gali turėti įtakos rezultatams.
- 5 Pasirinkite **Save Run** (išsaugoti seriją).

Serijos redagavimas

Jei reikia instrukcijų, kaip redaguoti serijos informaciją prieš nustatant sekas, žr. „NextSeq 550Dx“ *prietaiso informacinį vadovą (dokumento Nr. 1000000009513)*.

Analizės metodai

„Somatic Variant“ analizės modulis atlieka toliau nurodytus analizės veiksmus, tada analizės išvesties failus įrašo į aplanką „Alignment“ (prilygiavimas).

- ▶ Išskirsto indekso nuskaitymus.
- ▶ Generuoja FASTQ failus.
- ▶ Sulygiuoja su referentiniais duomenimis.
- ▶ Identifikuoja variantus.

Išskirstymas

Išskirstymo funkcija kiekvieną indeksų nuskaitymo seką palygina su serijai priskirtomis indeksų sekomis. Atliekant šį veiksma neatsižvelgiama į jokias kokybės vertes.

Indeksų nuskaitymai identifikuojami atliekant toliau nurodytus veiksmus.

- ▶ Mėginiai sunumeruojami pradėdant nuo 1 tokia tvarka, kokia jie išdėstyti serijai skirtame sąrašė.
- ▶ Mėginys, kurio numeris yra 0, rezervuojamas spiečiams, kurie nebuvo priskirti mėginiui.
- ▶ Spiečiai mėginiui priskiriami, kai indeksų seka tiksliai atitinka arba kai yra ne daugiau nei viena indeksų nuskaitymo neatitiktis.

FASTQ failo generavimas

Atlikus išskirstymą programinė įranga sugeneruoja tarpinės analizės failus FASTQ formatu (tekstiniu formatu, naudojamu sekoms apibūdinti). FASTQ failai apima kiekvieno mėginio nuskaitymus ir susijusius kokybės įverčius. Spiečiai, neperėję filtro, neįtraukiami.

Viename FASTQ faile yra tik vieno mėginio nuskaitymai. To mėginio pavadinimas yra įtrauktas į FASTQ failo vardą. FASTQ failai yra pagrindiniai įvesties duomenys, reikalingi prilygiavimo funkcijai. Sugeneruojami aštuoni vieno oligonukleotidų telkinio vieno mėginio FASTQ failai: keturi iš „Read 1“ (1 nuskaitymas) ir keturi iš „Read 2“ (2 nuskaitymas). Taigi iš viso sugeneruojama 16 mėginiui skirtų FASTQ failų.

Prilygiavimas

Prilygiavimo metu juostinis Smitho-Watermano algoritmas sulygiuoja kiekvieno mėginio sankepas pagal amplikonų sekas, nurodytas deklaracijos faile.

Juostinis Smitho-Watermano algoritmas atlieka pusiau visuotinį sekos prilygiavimą, kad aptiktų panašius regionus tarp dviejų sekų. Užuoat lyginęs visą seką, Smitho-Watermano algoritmas lygina visų galimų ilgių segmentus.

Kiekvienas pagal galą suporuotas nuskaitymas įvertinamas pagal jo prilygiavimą su atitinkamomis to nuskaitymo zondo sekomis.

- ▶ „Read 1“ (1 nuskaitymas) įvertinamas pagal pasrovinį konkretios srities oligonukleotidų (angl. „Downstream Locus-Specific Oligos“, DLSO) atvirkštinį komplementą.
- ▶ „Read 2“ (2 nuskaitymas) įvertinamas pagal priešrovinį konkretios srities oligonukleotidus (angl. „Upstream Locus-Specific Oligos“, ULSO).
- ▶ Jei nuskaitymo pradžia sutampa su zondo seka (ne daugiau kaip trys skirtumai, t. y. nesutapimai arba poslinkiai dėl svarbiausių intarpų / iškritų (angl. „indel“), visas nuskaitymo ilgis lygiuojamas pagal tos sekos tikslinį amplikoną.
- ▶ Dėl tyrimo cheminių savybių DLSO ir ULSO esantys intarpai / iškritos nestebimi.

Prilygiavimai išfiltruojami iš prilygiavimo rezultatų, remiantis neatitikties rodikliais arba dominančiame regione, arba visame amplikone, priklausomai nuo amplikono ilgio. Prilygiavimo failuose filtruoti prilygiavimai įrašomi kaip nesulygiuoti ir jie nenaudojami priskiriant variantus.

Variantų priskyrimas


„Illumina“ sukurta priskyrimo priemonė „Pisces Variant Caller“ identifikuoja mažo dažnio variantus DNR mėginyje.


„Pisces Variant Caller“ variantų priskyrimo priemonė identifikuoja SNV, MNV ir mažus intarpus / iškritas atlikdama tris toliau nurodytus veiksmus:

- ▶ Atskirai atsižvelgia į kiekvieną padėtį referentiniame genome.
- ▶ Suskaičiuoja bazes konkrečioje sulygiuotų nuskaitymų, kurie persidengia su ta padėtimi, padėtyje.
- ▶ Apskaičiuoja variantų įvertį, kuris išmatuoja priskyrimo kokybę, taikant Puasono modelį. Variantai, kurių kokybės įvertis nesiekia Q30, neįtraukiami.

Pirmiausia variantai atskirai priskiriami kiekvienam telkiniui. Tada variantai iš kiekvieno telkinio yra palyginami ir sujungiami į vieną išvesties failą. Jei variantas yra abiejuose telkiniuose ir pereina visus filtrus, nurodytus skyriuje *VCF failų anotacijos 12 psl.*, variantas pažymimas kaip PASS (perėjo) variantų priskyrimo faile (VCF).

Serijos ir mėginio duomenų peržiūra

- 1 „Local Run Manager“ skydelyje spustelėkite serijos pavadinimą.
- 2 Skirtuke „Run Overview“ (serijos apžvalga) peržiūrėkite sekoskaitos serijos metriką.
- 3 **[Pasirinktinai]** Spustelėkite piktogramą **Copy to Clipboard**  (kopijuoti į iškarpinę), kad nukopijuotumėte išvesties serijos aplanko kelią.
- 4 Norėdami peržiūrėti serijos parametrus ir informaciją apie eksploatacines medžiagas, spustelėkite skirtuką „Sequencing Information“ (sekoskaitos informacija).

- Spustelėkite skirtuką „Samples and Results“ (mėginiai ir rezultatai), kad sužinotumėte, kur yra analizės ataskaita.
 - ▶ Jei analizė buvo pakartota, išplėskite išskleidžiamąjį sąrašą „Select Analysis“ (pasirinkti analizę) ir pasirinkite atitinkamą analizę.
- Spustelėkite piktogramą **Copy to Clipboard**  (kopijuoti į iškarpinę), kad nukopijuotumėte analizės aplanko kelią.

Daugiau informacijos apie skirtukus „Run Overview“ (serijos apžvalga) ir „Sequencing Information“ (sekoskaitos informacija) ir kaip analizę vėl įtraukti į eilę, žr. „NextSeq 550Dx“ prietaiso informaciniame vadove (dokumento Nr. 1000000009513).

Analizės ataskaita

Analizės rezultatų suvestinė pateikta skirtuke „Samples and Results“ (mėginiai ir rezultatai), o apibendrinta ataskaita pateikta aplanke „Alignment“ (prilygiavimas). Kiekvieno mėginio ataskaita taip pat pasiekama PDF formatu.

Skirtuko „Samples and Results“ (mėginiai ir rezultatai) informacija

- Norėdami pamatyti mėginio ataskaitą, spustelėkite mėginį sąrašė.

1 lent. Serijos ir mėginio informacija

Stulpelio antraštė	Aprašas
„Run Status“ (serijos būseną)	Nurodo, ar sekoskaitos serija sėkminga, ar nepavyko.
„Total Yield (GB)“ (bendrasis kiekis (GB))	Per sekoskaitos seriją priskirtų bazių skaičius. Nurodo fluorescencijos slenkstinę vertę ir būseną „pass“ (perėjo) arba „fail“ (neperėjo).
% \geq Q30	Per sekoskaitos seriją įvykusių nuskaitymų, kurių kokybės vertė yra 30 (Q30) arba didesnė, procentinis dydis. Nurodo perėjimo slenkstinę vertę ir būseną „pass“ (perėjo) arba „fail“ (neperėjo).
„Sample Name“ (mėginio pavadinimas)	Mėginio pavadinimas, nurodytas kuriant seriją.
„Total PF Reads“ (bendrasis filtrą perėjusių nuskaitymų skaičius)	Bendrasis nuskaitymų, perėjusių filtrą, skaičius.
„Read 1% \geq Q30“ (1 nuskaitymo % \geq Q30)	Per „Read 1“ (1 nuskaitymas) įvykusių nuskaitymų, kurių mėginio kokybės vertė yra 30 (Q30) arba didesnis, procentinis dydis.
„Read 2% \geq Q30“ (2 nuskaitymo % \geq Q30)	Per „Read 2“ (2 nuskaitymas) įvykusių nuskaitymų, kurių mėginio kokybės įvertis yra 30 (Q30) arba didesnis, procentinė vertė.
„Autosome Call Rate“ (autosomų priskyrimo koeficientas)	Genomo padėčių autosomose (1–22 chromosomose), kurios atitinka iš anksto nustatytą pasikliovimo slenkstinę vertę, skaičius, padalytas iš bendrojo analizuojamų genomo padėčių autosomose skaičiaus. Priskyrimo dažnis nustatomas kiekvienam mėginiui ir ataskaitoje pateikiamas kaip procentinė vertė, apskaičiuota kaip [genomo autosomų padėčių su nevisiškais priskyrimais skaičius, padalytas iš bendrojo sekventuojamų autosomų padėčių, skaičiaus], atimtas iš vieneto (1).

2 lent. Mėginio ataskaitos informacija

Stulpelio antraštė	Aprašas
„Sample“ (mėginys)	Mėginio pavadinimas, nurodytas kuriant seriją.
„Report Date“ (ataskaitos data)	Ataskaitos sukūrimo data.
„Sample Information“ (mėginio informacija)	Mėginio ID, pateiktas kuriant seriją, bendrasis mėginio nuskaitymų, perėjusių filtrą, skaičius, mėginio nuskaitymų, kurių kokybės įvertis yra 30 (Q30) ar didesnis, procentinė vertė ir autosomų priskyrimo dažnis.
„Amplicon Summary“ (amplikonų suvestinė)	Bendrasis amplikonų regionų, kurių sekos nustatytos, skaičius, taip pat bendrasis ilgis tikslių sričių amplikonų, kurių sekos nustatytos, bazių poromis, skirtas mėginiui iš „Pool A“ (A telkinys) ir „Pool B“ (B telkinys), ir kiekvienam telkiniui naudotas deklaracijos failas. Deklaracijos failas nurodo referentinį genomą ir tikslius referentinius regionus, naudojamus atliekant prilygiavimo veiksmą.
„Read Level Statistics“ (nuskaitymo lygio statistiniai duomenys)	Mėginio nuskaitymų skaičius ir procentas, apimant kiekvieną referentinę padėtį, skirti „Read 1“ (1 nuskaitymas) ir „Read 2“ (antras nuskaitymas), atliekamiems „Pool A“ (A telkinys) ir „Pool B“ (B telkinys).
„Variants Summary“ (variantų suvestinė)	Pavienių nukleotido variantų (SNV), tarpų ir iškryčių, aptiktų mėginyje, kurie atitinka siūlomas vertes, siekiant nustatyti, ar kokybės rezultatai patenka į priimtą intervalą, skaičius.
„Coverage Summary“ (aprėpties suvestinė)	Bendrasis sulgytųjų bazių skaičius, padalytas iš tikslio regiono dydžio, taip pat amplikonų regionų, kurių aprėpties vertės didesnės už mažos aprėpties slenkstinę vertę (0,2 * vidutinė amplikonų aprėptis), procentinė vertė, skirti mėginiui iš „Pool A“ (A telkinys) ir „Pool B“ (B telkinys).
„Coverage Plots“ (aprėpties diagramos)	Diagramoje „Coverage by Amplicon Region“ (aprėptis pagal amplikonų regionus) parodyta aprėptis mėginio amplikonų regionuose. Regionai, kurių aprėpties vertės mažesnės nei aprėpties slenkstinė vertė, paryškinti raudona spalva. Visų verčių vidurkį nurodo oranžinė linija. Diagrama parodo „Pool A“ (A telkinys) ir „Pool B“ (B telkinys) aprėptį.
„Software Versions“ (programinės įrangos versijos)	Programinės įrangos versijos mėginio sekoskaitos metu. Apima „NextSeq 550Dx“ operacinę programinę įrangą (NOS), „Local Run Manager“ programinę įrangą, RTA programinę įrangą ir „Somatic Variant“ modulio versijas.

Analizės išvesties failai

Sugeneruojami toliau išvardyti analizės išvesties failai, skirti „Somatic Variant“ analizės moduliui. Juose pateikiami prilygiavimo ir variantų priskyrimo analizės rezultatai. Analizės išvesties failai saugomi aplanke „Alignment“ (prilygiavimas).

Failo vardas	Aprašas
Išskirstymas (*.txt)	Tarpiniai failai, kuriuose pateikiami išskirstymo suvestinės rezultatai.
FASTQ (*.fastq.gz)	Tarpiniai failai, kuriuose pateikiami kokybės įverčių bazės priskyrimai. FASTQ failai yra pagrindiniai įvesties duomenys, reikalingi prilygiavimo veiksmui atlikti.
Prilygiavimo failai BAM formatu (*.bam)	Pateikiami nurodyto mėginio sulgyuoti nuskaitymai.
Kiekvieno telkinio varianto priskyrimo failai VCF formatu (*.vcf)	Pateikiami variantai, priskirti kiekvienoje padėtyje iš tiesioginio telkinio arba atvirkštinio telkinio.
Variantų priskyrimo failai genomo VCF formatu (*.genome.vcf.gz)	Apima kiekvienos padėties genotipą, priskirtą kaip variantas arba kaip referentinis.

Failo vardas	Aprašas
Suderintų variantų priskyrimo failai VCF formatu (*.vcf.gz)	Pateikiami variantai, priskirti kiekvienoje padėtyje iš abiejų telkinių.
AmpliconCoverage_M1.tsv	Pateikiama informacija apie kiekvienos pateiktos deklaracijos kiekvieno mėginio amplikonų aprėptį. M# nurodo deklaracijos numerį.

Demultiplekso failų formatas

Fragmentavimo procesas nuskaityto su kiekviena sankaupa susietą indeksavimo seką, kad nustatytų, iš kurio mėginio yra ši sankaupa. Sankaujų ir mėginio numerio susiejimo duomenys įrašomi į pratekamosios kiuvetės kiekvienos išklotinės išskirstymo (*.demux) failą.

Išskirstymo failo vardo formatas yra **s_1_X.demux** (X yra išklotinės numeris).

Išskirstymo failai prasideda antrašte:

- ▶ versija (4 baitų sveikasis skaičius), šiuo metu tai yra 1;
- ▶ sankaujų skaičius (4 baitų sveikasis skaičius).

Likusią failo dalį sudaro mėginių numeriai kiekvieno spiečiaus TILL.

Pasibaigus išskirstymo veiksmui, programinė įranga sugeneruoja išskirstymo failą vardu **DemultiplexSummaryF1L1.txt**.

- ▶ Failo varde **F1** atitinka pratekamosios kiuvetės numerį.
- ▶ Failo varde **L1** atitinka takelio numerį.
- ▶ Atlikus išskirstymą gaunama lentelė (po 1 eilutę išklotinei ir po 1 stulpelį mėginiui, įskaitant 0 mėginį).
- ▶ Dažniausiai pasitaikančios sekos indekso nuskaitymuose.

FASTQ failų formatas

FASTQ – tai tekstinių failų formatas. Šiuose failuose pateikiami nuskaitymo bazių priskyrimai ir kokybės vertės. Kiekviename įrašė yra 4 eilutės.

- ▶ Identifikatorius
- ▶ Seka
- ▶ Pluso ženklas (+)
- ▶ Phred kokybės įverčiai ASCII + 33 užkoduotu formatu

Identifikatorius formatuojamas kaip:

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

Pavyzdys:

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

BAM failų formatas

BAM failas (*.bam) – tai suglaudinto dvejetainio SAM failo versija, naudojama sulygiuotoms sekoms iki 128 Mb nurodyti. SAM ir BAM formatai išsamiai apibūdinti čia: samtools.github.io/hts-specs/SAMv1.pdf.

BAM failų vardo formatas yra **SampleName_S#.bam**, kur # yra mėginio numeris pagal eilės tvarką, kuria išvardyti serijos mėginiai.

BAM failuose yra antraštės dalis ir prilygiavimo dalis:

- ▶ **Header** (antraštė) – pateikiama informacija apie visą failą, pvz., mėginio pavadinimas, mėginio ilgis ir sulygiavimo būdas. Prilygiavimo dalyje pateikti prilygiavimo duomenys yra susiję su konkrečia informacija, pateikta antraštės dalyje.
- ▶ **Alignments** (prilygiavimai) – pateikiamas nuskaitymo pavadinimas, nuskaitymo seka ir kokybė, sulygiavimo informacija bei tinkintos žymės. Nuskaitymo pavadinimą sudaro chromosoma, pradžios koordinatė, prilygiavimo kokybė ir atitikties deskriptoriaus eilutė.

Prilygiavimo dalyje pateikiama toliau nurodyta informacija apie kiekvieną nuskaitymą ar jų porą.

- ▶ **AS:** suporuoto pagal galą prilygiavimo kokybė.
- ▶ **BC:** brūkšninio kodo žymė, nurodanti išskirstyto mėginio ID, susietą su nuskaitymu.
- ▶ **SM:** vieno galo prilygiavimo kokybė.
- ▶ **XC:** atitikties deskriptoriaus eilutė.
- ▶ **XN:** amplikono pavadinimo žymė, įrašanti su nuskaitymu susietą amplikono ID.

BAM indekso failuose (*.bam.bai) pateikiamas atitinkamo BAM failo indeksas.

VCF failų formatas

Variantų priskyrimo formatas (angl. „Variant Call Format“, VCF) yra įprastas failų formatas, sukurtas genų tyrimus atliekančių mokslininkų. Šio formato failuose pateikiama informacija apie variantus, aptiktus konkrečiose referentinio genomo padėtyse. VCF failai baigiasi .vcf.

VCF failų antraštė apima VCF failo formato versiją, variantų priskyrimo priemonės versiją ir pateikia likusioje failo dalyje naudojamas anotacijas. VCF antraštė taip pat apima atskaitos genomo failą ir BAM failą. Paskutinėje antraštės eilutėje yra duomenų eilučių stulpelių antraštės. Kiekvienoje VCF failo duomenų eilutėje pateikiama informacija apie vieną variantą.

VCF failų antraštės

Antraštė	Aprašas
CHROM (chromosoma)	Referentinio genomo chromosoma. Chromosomos rodomos ta pačia eilės tvarka kaip referentiniame FASTQ faile.
POS (padėtis)	Varianto vienos bazės padėtis referentinėje chromosomoje. SNP atveju ši padėtis yra referentinė bazė su variantu; tarpų ir iškritų arba iškritų atveju – referentinė bazė prieš pat variantą.
ID	Tai yra varianto rs numeris, gautas iš dbSNP.txt, jei taikytina. Jei šioje vietoje yra keli rs numeriai, sąrašo elementai atskiriami kabliataškiais. Jei šioje vietoje dbSNP įrašo nėra, naudojamas trūkstantos vertės žymiklis ('.').
REF (referentinis)	Referentinis genotipas. Pavyzdžiui, vieno T iškrita žymima referentiniame gene TT ir lyginamajame T. A–T pavienio nukleotido variantas žymimas kaip referentinis A ir lyginamasis T.
ALT (lyginamasis)	Aleliai, kurie skiriasi nuo referencinio nuskaitymo. Pavyzdžiui, vieno T tarpą atitinka referentinis A ir lyginamasis AT. A–T pavienio nukleotido variantą nurodo referentinisA ir lyginamasis T.
QUAL (kokybė)	Phred kokybės įvertis, kurį priskyrė variantų priskyrimo priemonė. Didesni įverčiai nurodo didesnį variantų pasiklyvimo lygį ir mažesnę klaidų tikimybę. Kokybės įvertis Q reiškia, kad numatoma klaidos tikimybė yra $10^{-(Q/10)}$. Pavyzdžiui, Q30 priskyrimų rinkinio klaidų koeficientas yra 0,1 %. Daugelis variantų priskyrimo priemonių kokybės įverčius priskiria pagal savo statistinius modelius, kurie glaudžiai susiję su stebimu klaidų koeficientu.

VCF failų anotacijos

Antraštė	Aprašas
FILTER (filtras)	<p>Jei pereiti visi filtrai, filtro stulpelyje įrašoma PASS (perėjo).</p> <ul style="list-style-type: none"> • LowDP (maža DP) – taikoma vietoms, kuriose aprėpties gylis nesiekia 450x bet kuriame telkinyje. Amplikonų padėtyse, kurias aprėpia tiek tiesioginis nuskaitymas, tiek atvirkštinis nuskaitymas, tai atitinka 900x vieno nuskaitymo aprėptį. • LowGQ (žema GQ) – genotipo kokybė (GQ) nesiekia ribinės vertės. • q30 – kokybės įvertis yra < 30. • LowVariantFreq (žemas variantų dažnis) – variantų dažnis yra mažesnis už nurodytą slenkstinę vertę. • PB – zondo telkinio tendencingumas. Variantas nerastas arba rastas retai pasikartojantis variantas viename arba dviejuose zondo telkiniuose. • R3x6 – gretimų pasikartojimų (1–3 bazių porų ilgio) skaičius variantų priskyrimams yra ≥6. • SB – fragmento tendencingumas didesnis už nurodytą slenkstinę vertę.
INFO (informacija)	<p>Toliau nurodyti galimi stulpelio INFO (informacija) duomenys.</p> <ul style="list-style-type: none"> • AC – alelių skaičius genotipuose (kiekvieno ALT alelio) taikant tą pačią eilės tvarką kaip sąrašė. • AF – alelių dažnis (kiekvieno ALT alelio), taikant tą pačią eilės tvarką kaip sąrašė. • AN – bendrasis alelių skaičius priskirtuose genotipuose. • CD – vėliavėlė, nurodanti, kad SNP yra bent vieno „RefGen“ (referentinis genomas) įrašo kodavimo regione. • DP – gylis (bazių priskyrimų, sulygiuotų su padėtimi ir naudojamų priskiriant variantus, skaičius). • Exon (egzonas) – kableliais atskirtas egzonų sričių, nuskaitytų iš „RefGene“ (referentinis genomas), sąrašas. • FC – funkcinė pasekmė. • GI – kableliais atskirtas genų ID, nuskaitytų iš „RefGene“ (referentinis genomas), sąrašas. • QD – variantų pasiklojimo lygis / kokybė pagal gylį. • TI – kableliais atskirtas transkriptonų ID, nuskaitytų iš „RefGene“ (referentinis genomas), sąrašas.
FORMAT (formatas)	<p>Formato stulpelyje pateikiamas dvitaškiais atskirtų laukų sąrašas. Pavyzdžiui, GT:GQ. Pateiktas laukų sąrašas skiriasi priklausomai nuo naudojamos variantų priskyrimo priemonės. Toliau išvardyti galimi laukai.</p> <ul style="list-style-type: none"> • AD – X, Y formos įvestis (X – referentinių priskyrimų skaičius, Y – alternatyvių priskyrimų skaičius). • DP – apytikslis nuskaitymo gylis; filtruojami nuskaitymai, kurių MQ = 255 arba kurie turi blogų atitikmenų. • GQ – genotipo kokybė. • GQX – genotipo kokybė. GQX yra mažiausia GQ vertė ir QUAL stulpelio mažiausia vertė. Apskritai šios vertės yra panašios; kadangi naudojama mažiausia vertė, GQX yra konservatyvesnis genotipo kokybės matas. • GT – genotipas. 0 atitinka referentinę bazę, 1 atitinka pirmąjį įrašą ALT stulpelyje ir t. t. Dešininis pasvirasis brūkšnylis (/) nurodo, kad haplotipų vertinimo informacija nepasiekiamą. • NL – triukšmo lygis; bazių priskyrimo triukšmo šioje padėtyje įvertinimas. • PB – zondo telkinio tendencingumas. Arčiau 0 esančios vertės nurodo didesnį tendencingumą viename zondo telkinyje ir mažesnį varianto priskyrimo pasiklojimo lygį. • SB – fragmento tendencingumas šioje padėtyje. Didesnės neigiamos vertės rodo mažesnį tendencingumą, o vertės, artimesnės 0, rodo didesnį tendencingumą. • VF – varianto dažnis; nuskaitymų, apimančių alternatyvų alelių, procentinė vertė.
SAMPLE (mėginys)	Mėginio stulpelyje pateikiamos vertės, nurodytos stulpelyje FORMAT (formatas).

Genomų VCF failai

Genomų VCF (gVCF) failai – tai VCF 4.1 versijos failai, kuriuose naudojant tam tikras taisykles visos vietos genome atvaizduojamos kompaktišku formatu. gVCF (*.genome.vcf.gz) failai apima visas vietas dominančioje srityje (atskiras failas kiekvienam mėginiui).

gVCF faile nurodomi nepriskyrimo atvejai vietose, kurios nepereina visų filtrų. Genotipo (GT) žymė ./ nurodo nepriskyrimą.

Daugiau informacijos žr. sites.google.com/site/gvcftools/home/about-gvcf.

Variantų iš tiesioginio arba atvirkštinio telkinio ir teisingų variantų VCF failai iš abiejų telkinių

„Somatic Variant“ darbo eiga sugeneruoja du variantų priskyrimo failų rinkinius.

- ▶ **VCF failai** – variantų iš tiesioginio arba iš atvirkštinio telkinio failai. Telkinio failai įrašomi aplanke „VariantCallingLogs“.
- ▶ **Suderinimo VCF failai** – teisingų variantų failai iš abiejų telkinių. Suderinimo failai įrašomi aplanke „Alignment“ (prilygiavimas).

Telkinio ir suderinimo VCF failuose yra ir VCF (*.vcf), ir gVCF (*.genome.vcf) failai. Naudojamas toliau nurodytas failų vardų formatas (S# nurodo eilės vietą, kurioje yra serijos mėginys).

- ▶ **Visų vietų ataskaitos** – SampleName_S#.genome.vcf
- ▶ **Tik variantų ataskaitos** – SampleName_S#.vcf

Programinė įranga palygina kiekvieno telkinio VCF failus ir sujungia kiekvienos padėties duomenis, kad sukurtų mėginio suderinimo VCF failą.

Kiekvieno telkinio variantų priskyrimai suliejami į suderinimo VCF failus naudojant toliau pateiktus kriterijus.

Kriterijai	Rezultatas
Referencijos priskyrimas kiekviename telkinyje	Referencijos priskyrimas
Referencijos priskyrimas 1 telkinyje ir varianto priskyrimas kitame telkinyje	Išfiltruoto varianto priskyrimas
Atitinkantys variantų priskyrimai, kurių dažnis panašus kiekviename telkinyje	Varianto priskyrimas
Atitinkantys variantų priskyrimai, kurių dažnis smarkiai skiriasi kiekviename telkinyje	Varianto priskyrimas išfiltruojamas
Neatitinkantys variantų priskyrimai kiekviename telkinyje	Išfiltruoto varianto priskyrimas

Kiekvieno telkinio metrika suliejama vadovaujantis toliau pateiktomis taisyklėmis.

Metrika	Vertė
Gylis	Gylio pridėjimas iš abiejų telkinių
Varianto dažnis	Bendras variantų skaičius, padalytas iš bendro aprėpties gylio
Q įvertis	Mažiausia abiejų telkinių vertė

Amplikonų aprėpties failas

Sugeneruojamas kiekvienam deklaracijos failui skirtas amplikonų aprėpties failas. Failo varde M# nurodo deklaracijos numerį.

Kiekviename faile yra antraštės eilutė, kurioje pateikiami mėginio ID, susieti su deklaracija. Faile pateikiama toliau nurodyta informacija.

- ▶ „Target ID“ (taikinio ID), kaip nurodyta sąrašė deklaracijoje.
- ▶ Filtrą perėjusių nuskaitymų aprėpties gylis.

Papildomi išvesties failai

Toliau nurodytuose išvesties failuose pateikiama papildomos informacijos arba serijos rezultatų ir analizės klaidų suvestinė. Nors šie failai nėra būtini norint įvertinti analizės rezultatus, jie gali būti naudojami šalinant triktis. Visi failai yra aplanke „Alignment“ (prilygiavimas), nebent nurodyta kitaip.

Failo vardas	Aprašas
AnalysisLog.txt	Apdorojimo žurnalas, apibūdinantis kiekvieną veiksmą, atliktą analizuojant dabartinės serijos aplanką. Šiame faile nepateikiami klaidos pranešimai. Jis saugomas aplanke „Alignment“ (prilygiavimas).
AnalysisError.txt	Apdorojimo žurnalas, kuriame pateikiamas visų analizės klaidų sąrašas. Jei klaidų nėra, šis failas bus tuščias. Jis saugomas aplanke „Alignment“ (prilygiavimas).
DemultiplexSummaryF1L1#.txt	Pateikiami išskirstymo rezultatai lentelėje: po 1 eilutę išsklotinei ir po 1 stulpelį mėginiui. Simbolis „#“ nurodo pratekamosios kiuvetės 1, 2, 3 arba 4 takelį. Jis saugomas aplanke „Alignment“ (prilygiavimas).
AmpliconRunStatistics.xml	Pateikiami statistiniai konkrečios serijos suvestinės duomenys. Jis saugomas aplanke „Alignment“ (prilygiavimas).

Aplanke „Analysis“ (analizė)

Aplanke „Analysis“ (analizė) saugomi „Local Run Manager“ programinės įrangos sugeneruoti failai.

Išvesties aplanke ir analizės aplanke ryšys apibendrintas toliau.

- ▶ Nustatant seką, „Real-Time Analysis“ (analizė realiuoju laiku, angl. RTA) į išvesties aplanką surenka failus, sugeneruotus atliekant vaizdų analizę, bazių priskyrimą ir kokybės įvertinimą.
- ▶ RTA realiuoju laiku nukopijuoja failus į analizės aplanką. Po to, kai RTA priskiria kokybės įvertį kiekvieno ciklo kiekvienai bazei, programinė įranga failą RTAComplete.txt įrašo į abu aplankus.
- ▶ Kai atsiranda failas RTAComplete.txt, prasideda analizė.
- ▶ Vykstant analizei, „Local Run Manager“ išvesties failus įrašo į analizės aplanką, o tada failus vėl nukopijuoja į išvesties aplanką.

Prilygiavimo aplanakai

Kiekvieną kartą, kai analizė vėl įtraukiama į eilę, „Local Run Manager“ sukuria prilygiavimo aplanką pavadinimu **Alignment_N** (N yra nuosekliai priskirtas sekos numeris).

Aplanko struktūra

Alignment (prilygiavimas) – čia saugomi *.bam, *.vcf, FASTQ failai ir konkretaus analizės modulio failai.

Date and Time Stamp (datos ir laiko žyma) – analizės žyma „Data_laikas“ formatu MMMMmmDD_HHMMSS

- AnalysisError.txt
- AnalysisLog.txt
- aggregate.report.html
- aggregate.report.pdf
- aggregate.summary.csv
- AmpliconCoverage_M#.tsv
- AmpliconRunStatistics.xml
- Sample1.genome.vcf.gz
- Sample1.coverage.csv
- Sample1.report.pdf
- Sample1.summary.csv
- Sample1.vcf.gz
- Sample1.bam

FASTQ

Sample1

- Sample1_L001_R1_001_fastq.gz

„Stats“ (statistiniai duomenys)

- DemuxSummaryF1L1.txt
- FastqSummaryF1L1.txt

Data (duomenys)

Intensities (intensyvumas)

BaseCalls (bazių priskyrimai)

L001 – čia saugomi *.bcl failai.

L001 – čia saugomi *.locs failai.

RTA Logs (RTA žurnalai) – čia saugomi RTA programinės įrangos analizės žurnalo failai.

InterOp (vidinės operacijos) – čia saugomi dvejetainiai failai, naudojami sekoskaitos serijos metrikos ataskaitoms.

Logs (žurnalai) – žurnalo failai, apibūdinantys sekoskaitos veiksmus.

- RTAComplete.txt
- RunInfo.xml
- RunParameters.xml

Bazių priskyrimas ir indeksų įvairovė

Kai mėginiuose esančios sekos nustatomos naudojant prietaisą „NextSeq 550Dx“, bazių priskyrimo funkcija nustato bazę (A, C, G arba T) kiekvienam konkrečios išsklotinės spiečiui arba vaizdavimo sritį pratekamojoje kiuvetėje, vykstant konkrečiam ciklui. Prietaisas „NextSeq 550Dx“ atlieka dviejų kanalų sekoskaitą, todėl keturių DNR bazių duomenims koduoti tereikia dviejų vaizdų – vieno iš raudono kanalo ir kito iš žalio kanalo.

Bazių priskyrimo indekso nuskaitymo procesas skiriasi nuo bazių priskyrimo atliekant kitus nuskaitymus.

Indekso nuskaitymai turi prasidėti nuo bent vienos ne G bazės pirmuosiuose dviejuose cikluose. Jei indekso nuskaitymas prasideda dviem G bazės priskyrimais, nebus sugeneruotas signalo intensyvumas. Siekiant užtikrinti išskirstymo našumą, signalas turi būti pirmuosiuose dviejuose cikluose.

Jei indeksai pasirenkami kuriant seriją ir jie neatitinka įvairovės reikalavimų, pasirodys mažos įvairovės įspėjimas. Kad nebūtų sugeneruotas mažos įvairovės įspėjimas, pasirinkite indeksų sekas, kurios pateikia signalą abiejuose kiekvieno ciklo kanaluose.

- ▶ Raudonas kanalas – A arba C
- ▶ Žalias kanalas – A arba T

Šis bazių priskyrimo procesas užtikrina tikslumą analizuojant žemos fragmentacijos mėginius. Daugiau informacijos apie indeksų sekas žr. „*TruSeq Custom Amplicon Kit Dx*“ (dokumento Nr. 1000000029772) pakuotės lapelyje.

Kai kuriate seriją naudodami „Local Run Manager“, turite pasirinkti tirtinų mėginių skaičių. Programinė įranga automatiškai įveda siūlomus indeksų derinius, kurie atitinka indeksų įvairovės kriterijus. Nors neprivalote naudoti siūlomų indeksų derinių, juos naudoti rekomenduojama.

Keitimų istorija

Dokumentas	Data	Keitimo aprašymas
Dokumento Nr. 1000000030330 v04	2021 m. rugpjūtis	Atnaujintas įgaliotojo atstovo ES adresas.
Dokumento Nr. 1000000030330 v03	2019 m. gruodis	Atnaujintas įgaliotojo atstovo ES adresas. Atnaujintas užsakovo Australijoje adresas.
Dokumento Nr. 1000000030330 v02	2019 m. sausis	Pridėta informacija apie 2.5 versijos reagentų rinkinius.
Dokumento Nr. 1000000030330 v01	2018 m. rugpjūtis	Atnaujintas norminis ženklėjimas.
Dokumento Nr. 1000000030330 v00	2017 m. lapkritis	Pirmasis leidimas.

Techninė pagalba

Dėl techninės pagalbos kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos tarnybą.

Interneto svetainė www.illumina.com
El. paštas: techsupport@illumina.com

„Illumina“ klientų aptarnavimo telefono numeriai

Regionas	Nemokamas telefono numeris	Regioninis
Šiaurės Amerika	+1.800.809.4566	
Airija	+353 1800936608	+353 016950506
Australija	+1.800.775.688	
Austrija	+43 800006249	+43 19286540
Belgija	+32 80077160	+32 34002973
Danija	+45 80820183	+45 89871156
Hongkongas	800960230	
Ispanija	+34 911899417	+34 800300143
Italija	+39 800985513	+39 236003759
Japonija	0800.111.5011	
Jungtinė Karalystė	+44 8000126019	+44 2073057197
Kinija	400.066.5835	
Naujoji Zelandija	0800.451.650	
Nyderlandai	+31 8000222493	+31 207132960
Norvegija	+47 800 16836	+47 21939693
Prancūzija	+33 805102193	+33 170770446
Singapūras	+1.800.579.2745	
Suomija	+358 800918363	+358 974790110
Švedija	+46 850619671	+46 200883979
Šveicarija	+41 565800000	+41 800200442
Taivanas	00806651752	
Vokietija	+49 8001014940	+49 8938035677
Kitos šalys	+44 1799 534000	

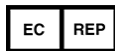
Saugos duomenų lapai (SDL) prieinami „Illumina“ interneto svetainėje support.illumina.com/sds.html.

Produkto dokumentaciją PDF formatu galima atsisiųsti iš „Illumina“ interneto svetainės. Apsilankykite support.illumina.com, pasirinkite produktą, tada pasirinkite **Documentation & Literature** (dokumentacija ir literatūra).



„Illumina“
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 JAV
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (ne Šiaurės Amerikoje)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE



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

Užsakovas Australijoje

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

NAUDOTI IN VITRO DIAGNOSTIKAI

© 2021 „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

illumina®