

Módulo de análisis de las 139 variantes de FQ de Local Run Manager.

Guía de flujo de trabajo

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

Descripción general	3
Introducción de información sobre el experimento	3
Métodos de análisis	5
Visualización del experimento y los resultados	5
Informes de resultados	6
Historial de revisiones	9
Asistencia técnica	10



Este documento y su contenido son propiedad de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor o similares derechos de terceros.

Para asegurar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en este de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ESTE, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES, INCLUIDOS LOS USUARIOS U OTRAS PERSONAS, Y DAÑOS EN OTROS BIENES.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA DERIVADA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE).

© 2017 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Illumina, MiSeqDx y el diseño de las bases de streaming son marcas comerciales registradas o pendientes de Illumina, Inc. o sus afiliados en EE. UU. o en otros países. Todos los demás nombres, logotipos y marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

Descripción general

El módulo de análisis de 139 variantes de fibrosis quística de Local Run Manager deberá utilizarse junto con el Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx de Illumina. El ensayo detecta 139 mutaciones y variantes de interés clínico del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística que provocan la enfermedad de la fibrosis quística (*CFTR*) en ADN genómico aislado de muestras de sangre humana total periférica. El módulo de análisis realiza el análisis secundario y genera los informes de los experimentos de secuenciación que se sirven del Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx. Consulte el prospecto *Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx (documento con n.º de referencia 15038347)*.

Este módulo de análisis evalúa regiones cortas de ADN amplificado, o amplicones, para detectar variantes. La secuenciación de amplicones enfocada permite una alta cobertura de regiones particulares a lo largo de un gran número de muestras.

Acerca de esta guía

Esta guía facilita las instrucciones necesarias para configurar los parámetros de experimentos de secuenciación y de análisis del módulo de análisis de 139 variantes de FQ. Para obtener más información sobre el panel de Local Run Manager y la configuración del sistema, consulte la *Guía de referencia del software Local Run Manager para MiSeqDx (documento con n.º de referencia 1000000011880)*.

Introducción de información sobre el experimento

Configuración de parámetros

- 1 Inicie sesión en Local Run Manager.
- 2 Haga clic en **Create Run** (Crear experimento) y elija **CF 139** (139 FQ).
- 3 Introduzca un nombre para el experimento de forma que se pueda identificar desde la secuenciación hasta el análisis.
Utilice caracteres alfanuméricos, espacios o guiones tanto normales como bajos.
- 4 [Opcional] Escriba una descripción que ayude a identificar el experimento.
Utilice caracteres alfanuméricos.

Definición de las muestras para el experimento

Defina las muestras que se utilizarán en el experimento por medio de las opciones que se proponen a continuación:

▶ Introducción de las muestras de forma manual

- 1 Seleccione el número de muestras en el menú desplegable Number of Samples (Número de muestras). Tenga en cuenta la siguiente información a la hora de hacer la selección.
 - ▶ Escoja el número de muestras que más se acerque a la cantidad de muestras que vaya a analizar. El menú desplegable contiene cantidades de muestras en múltiplos de 8. Si la cantidad exacta de muestras no aparece en el desplegable, elija el número más próximo pero siempre inferior al número de muestras que se van a analizar de forma que se cumplan los requisitos de diversidad de índices. Por ejemplo, si la cantidad a analizar es de 18 muestras, seleccione el 16. Después, añada dos muestras adicionales. Asegúrese de que ha seleccionado los adaptadores de índice para los pocillos adicionales.

- ▶ En el caso de tener 48 muestras, existen dos configuraciones disponibles. Una es la configuración 48 Set 1 (48 Conjunto 1) y la otra es 48 Set 2 (48 Conjunto 2). Los conjuntos de configuración incluyen distintos cebadores de Índice i7 y diferentes posiciones de pocillos. Estos conjuntos se pueden utilizar para configurar dos experimentos de secuenciación para un total de 96 muestras.
- 2 Utilice la tabla en blanco que aparece en la pantalla Create Run (Crear experimento). Aparecerán señalados los pocillos de muestra que se proponen como ejemplo.
 - ▶ **Import Samples** (Importar muestras): vaya a un archivo externo que tenga un formato de valores separados por comas (*.csv). En la pantalla Create Run (Crear experimento) se ofrece una plantilla que se puede descargar.

Una vez se ha rellenado la tabla de muestras, se puede exportar la información de las mismas a un archivo externo para poder utilizarlo después como referencia a la hora de preparar las bibliotecas o se puede importar el archivo para llevar a cabo otro experimento.


Introducción de las muestras de forma manual

- 1 Introduzca un nombre exclusivo para la muestra nombre en el campo Sample Name (Nombre de la muestra).
Puede utilizar caracteres alfanuméricos y guiones tanto normales como bajos.
- 2 Haga clic en el botón derecho y elija las muestras de control negativo y de control positivo.
- 3 [Opcional] Introduzca la descripción de la muestra en la ficha Sample Description (Descripción de la muestra).
Puede utilizar caracteres alfanuméricos y guiones tanto normales como bajos.
- 4 [Opcional] Seleccione un adaptador del Índice 1 (Index 1) del menú desplegable que aparece en el Índice 1 (i7).
Este paso es completamente opcional, ya que las combinaciones de índices i7 e i5 que aparecen destacadas en los pocillos ya cumplen con los requisitos de diversidad de índices.
- 5 [Opcional] Seleccione un adaptador del Índice 2 (Index 2) del menú desplegable que aparece en el Índice 2 (i5).
Este paso es completamente opcional ya que las combinaciones de índices i7 e i5 que aparecen destacadas en los pocillos ya cumplen con los requisitos de diversidad de índices.
- 6 Haga clic en el icono  **Print** (Imprimir) para ver la disposición de la placa.
- 7 Seleccione **Print** (Imprimir) para poder imprimir la disposición de la placa y utilizarla como referencia a la hora de preparar las bibliotecas.
- 8 [Opcional] Haga clic en **Export** (Exportar) para exportar la información sobre las muestras a un archivo externo.
- 9 Haga clic en **Save Run** (Guardar Experimento).

Importación de muestras

- Haga clic en **Import Samples** (Importar muestras) y busque la ubicación del archivo que contiene la Información sobre la muestra. Se pueden importar dos tipos de archivos.
 - Para crear una nueva disposición de la placa, haga clic en **Template** (Plantilla) en la pantalla Create Run (Crear experimento). El archivo de plantilla incluye los encabezados de columna adecuados para la importación. Introduzca en cada columna la información relativa a las muestras del experimento. Elimine la información que aparece como ejemplo en las celdas que no vaya a utilizar y guarde el archivo.

Sample_Name	Description	I7_Index_ID	I5_Index_ID	Sample_Well	Control
Sample1		A701	A503	A01	
Sample2		A701	A503	A02	
Sample3		A701	A504	A03	
Sample4		A702	A504	A04	
Sample5		A702	A505	A05	
Sample6		A702	A505	A06	
Sample7		A710	A503	A07	Positive
Sample8		A710	A504	A08	Negative

- Emplee uno de los archivos de información de las muestras que se hayan exportado del módulo de 139 variantes de FQ con la función Export (Exportación).
- Haga clic en el icono  **Print** (Imprimir) para ver la disposición de la placa.
 - Seleccione **Print** (Imprimir) para poder imprimir la disposición de la placa y utilizarla como referencia a la hora de preparar las bibliotecas.
 - [Opcional] Haga clic en **Export** (Exportar) para exportar la información sobre las muestras a un archivo externo.
 - Haga clic en **Save Run** (Guardar Experimento).

Edición de un experimento


Para obtener instrucciones sobre cómo editar la información del experimento antes de comenzar la secuenciación, consulte la *Guía de referencia del software Local Run Manager para MiSeqDx (documento con n.º de referencia 1000000011880)*.

Métodos de análisis

Consulte el prospecto *Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx (documento con n.º de referencia 15038347)* para obtener una descripción de los métodos de análisis que se utilizan en el Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx.

Visualización del experimento y los resultados

- Una vez en el panel de Local Run Manager, haga clic en el nombre del experimento.
- Ya en la ficha Run Overview (Descripción general del experimento), revise las métricas del experimento de secuenciación.

- 3 [Opcional] Haga clic en el icono **Copy to Clipboard**  (Copiar en el portapapeles) para copiar la ruta de la carpeta en la que se encuentran los resultados del experimento.
- 4 Haga clic en la ficha Sequencing Information (Información sobre la secuenciación) para verificar los parámetros del experimento y la información sobre los consumibles.
- 5 Haga clic en la ficha Samples and Results (Muestras y resultados) para ver dónde se encuentran ubicados los archivos con los resultados del análisis.
La ficha también proporciona una lista de muestras que resume el índice de llamada, el rendimiento y la información sobre los controles.información sobre los controles.
 - ▶ En caso de repetir el análisis, abra el menú desplegable para seleccionar un análisis y escoja el que proceda.
- 6 [Opcional] Haga doble clic en el campo Comment (Comentarios) para poder añadir observaciones sobre cualquiera de las muestras del listado.
- 7 Seleccione las muestras del listado para poder visualizar la información detallada sobre las variantes. Dicha información se mostrará debajo del listado de muestras.

Para obtener más información sobre las fichas Run Overview (Descripción general del experimento) y Sequencing Information (Información sobre la secuenciación), así como sobre cómo volver a poner en cola el análisis, diríjase a la *Guía de referencia del software Local Run Manager para MiSeqDx (documento con n.º de referencia 1000000011880)*.

Informes de resultados

Una vez se ha completado el análisis secundario, los resultados del análisis se resumen en la ficha Samples and Results (Muestras y resultados). Se creará un archivo de texto delimitado por tabulaciones (denominado "MiSeqDxCf139VariantAssay.txt") correspondiente al ensayo que resumirá también los resultados del análisis.

Información sobre la muestra

Tabla 1 Información sobre el listado de muestras

Encabezado de columna	Descripción
Sample Name (Nombre de la muestra)	Nombre de la muestra que se introdujo al crear el experimento.
Sample ID (ID de la muestra)	Nombre de la muestra que se introdujo al crear el experimento unido al ID del análisis que asigna el software Local Run Manager. Cuando el experimento se vuelve a poner en cola, la parte del nombre que corresponde al ID de la muestra se queda igual y lo que cambia es el ID del análisis. Este campo solo se encuentra en el archivo *.txt.
Sample Call Rate (Índice de llamada de muestra)	Es el número de posiciones de variantes que cumplen un umbral de valor de confianza predefinido dividido entre el total de posiciones de variantes interrogadas. El índice de llamada se describe por muestra y se incluye en el informe en forma de porcentaje que se calcula como 1 menos [número de posiciones de variantes con llamadas incompletas dividido entre el número total de posiciones de variantes secuenciadas].

Encabezado de columna	Descripción
Performance (Rendimiento)	<p>Correcto o incorrecto basándose en el índice de llamada.</p> <p>Para una muestra de control positivo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • PASS (CORRECTO): con un índice de llamada ≥ 99 %. • FAIL (INCORRECTO): con un índice de llamada < 99 %. <p>Para una muestra de control negativo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • PASS (CORRECTO): con un índice de llamada ≤ 10 %. • FAIL (INCORRECTO): con un índice de llamada > 10 %. <p>Para una muestra que no se ha etiquetado como un control positivo o negativo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • PASS (CORRECTO): con un índice de llamada ≥ 99 %. • FAIL (INCORRECTO): con un índice de llamada < 99 %.
Control	<p>Es el tipo de control que se facilitó al crear el experimento.</p> <p>Los valores son positivos o negativos. Un campo vacío indica la presencia únicamente de la muestra.</p>
Comment (Comentario)	<p>Un campo de texto opcional para comentarios. Para introducir un comentario se deberá hacer doble clic en el campo Comment (Comentario). Los comentarios introducidos en este campo se guardan en el archivo de informe del análisis, MiSeqDxCF139VariantAssay.txt. Si el análisis se vuelve a poner en cola, se creará un nuevo archivo de informe. Los comentarios de un experimento de análisis anterior no pasan al siguiente experimento de análisis.</p>

Información sobre las variantes de la muestra

Tabla 2 Tabla Variants (Variantes)

Encabezado de columna	Descripción
Mutations Name (Nombre de la mutación) Mutations (Common Name) [Mutaciones (Nombre común)]	<p>Nombre común de la variante de fibrosis quística, tal como se describe en la base de datos de CFTR2.</p> <p>Mutations (Common Name) [Mutaciones (Nombre común)] será el nombre del campo en el archivo *.txt.</p>
Mutation Type (Tipo de mutación)	<p>El tipo de variante:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SNV: variante de nucleótido único. • DIV: variante de delección/inserción. • DEL: delección de gran tamaño. • PolyTGPolyT: genotipo PolyTG/PolyT del gen de FQ.
dbSNP rsID (rsID de dbSNP)	<p>El rsID de dbSNP de la variante, si procede.</p>
CFTR Gene Region (Región del gen de CFTR)	<p>Región del gen de CFTR (n.º de exón o de intrón) en el que está presente la variante.</p>
Genomic Location (Ubicación genómica)	<p>Ubicación genómica de la variante en el cromosoma 7.</p>
cDNA Name (Nombre de ADNc) cDNA Name (HGVS) [Nombre de ADNc (HGVS)]	<p>Descripción de la variante en el nivel de ADN que utiliza la nomenclatura de secuencia de ADN de codificación (ADNc) conforme a las recomendaciones de la Sociedad de Variación del Genoma Humano (HGVS).</p> <p>cDNA Name (HGVS) [Nombre de ADNc (HGVS)] será el nombre del campo en el archivo *.txt.</p>
Protein Name (Nombre de proteína) Protein Name (HGVS) [Nombre de proteína (HGVS)]	<p>Descripción de una variante en el nivel de proteínas que utiliza la nomenclatura de secuencia de proteínas conforme a las recomendaciones de la Sociedad de Variación del Genoma Humano (HGVS).</p> <p>Protein Name (HGVS) [Nombre de proteína (HGVS)] será el nombre del campo en el archivo *.txt.</p>
Resultado	<p>Genotipo de variante.</p> <p>Para SNV, DIV y DEL:</p> <ul style="list-style-type: none"> • HET: heterocigótico • HOM: homocigota <p>Para la variante PolyTGPolyT, figura el genotipo real.</p> <p>NOTA : PolyTGPolyT figura únicamente cuando se detecta la variante R117H.</p>

Archivo de resultados del análisis

Los resultados que aparecen en el archivo de resultados del análisis son exactamente iguales que los que se pueden encontrar en la ficha Samples and Results (Muestras y resultados). Consulte [Información sobre la muestra en la página 6](#) e [Información sobre las variantes de la muestra en la página 7](#).

1 Elija un de las siguientes opciones para visualizar el archivo de resultados del análisis MiSeqDxCF139VariantAssay.txt.

- ▶ Desde la ficha Samples and Results (Muestras y resultados), haga clic en **Export Data** (Exportar datos).
- ▶ Abra el fichero en la carpeta Alignment (Alineación).

La ruta a la carpeta Alignment (Alineación) se muestra en la ficha Samples and Results (Muestras y resultados) en el campo Analysis Folder (Carpeta de análisis).

Cuando finaliza el análisis, los resultados se guardan en la carpeta Alignment (Alineación) del experimento.

Por ejemplo, MiSeqAnalysis\

La X es el ID del experimento. Las letras YYYYMMDD corresponden a la fecha del experimento. N es un número secuencial que aumenta cuando se repite el análisis o este se vuelve a poner en cola.

Tabla 3 Encabezado del archivo MiSeqDxCF139VariantAssay.txt

Encabezado de columna	Descripción
Test (Prueba)	Describe la prueba que se ha realizado.
Run ID (ID del experimento)	Corresponde al ID del experimento que MiSeq Operating Software (MOS) genera cuando comienza el experimento de secuenciación.
Run Date (Fecha del experimento)	Se trata de la fecha, con formato DDMMAA, en la que se inició el experimento de secuenciación en MOS.
Analysis Version (Versión del análisis)	Indica la versión del módulo de análisis de 139 variantes de FQ de Local Run Manager que se ha utilizado en el análisis.

Historial de revisiones

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de documento 1000000012184 v01	Agosto de 2017	<p>Se ha cambiado el nombre de la sección Informe de análisis a Informe de resultados.</p> <p>Se ha añadido información sobre las diferencias entre los nombres de campo del software Local Run Manager y los del archivo *.txt que había en las secciones Información sobre las muestras e Información sobre las variantes de las muestras.</p> <p>Se ha añadido una descripción al identificador de la muestra.</p> <p>Se ha eliminado la información sobre la sección Métodos de análisis.</p> <p>La información detallada sobre los métodos de análisis se encuentra en el prospecto <i>Ensayo de 139 variantes de FQ MiSeqDx (documento con n.º de referencia 15038347)</i>.</p> <p>En la sección Determinar muestras para el experimento se ha añadido información que indica que el conjunto 1 y el conjunto 2 de la configuración de 48 muestras se pueden utilizar para 96 muestras y dos experimentos de secuenciación.</p> <p>Se ha modificado la siguiente información de la sección Introducción de las muestras de forma manual:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se ha cambiado el nombre del paso 1 que era Sample ID (ID de la muestra) a Sample Name (Nombre de la muestra) para mantener la coherencia con el software. • Se ha modificado el paso 2 para añadir que es necesario introducir las muestras de control positivo y de control negativo. • Se ha modificado el paso 3 para señalar que no se podrán utilizar espacios en las descripciones de las muestras. <p>Se ha enviado la sección Editar la información del experimento a la <i>Guía de referencia del software Local Run Manager para MiSeqDx (documento con n.º de referencia 1000000011880)</i>.</p> <p>Se han añadido ceros a la izquierda de los números de la columna Sample_Well (Pocillo de muestra) en la tabla de ejemplos incluida en la sección Importar muestras. La tabla es, de esta forma, coherente con la plantilla que se incluye en el software, aunque sea posible crear un fichero de importación de muestras que no contenga los ceros a la izquierda en esa columna.</p> <p>Se ha añadido información sobre la convención de nomenclatura de la carpeta Alignment (Alineación) en la sección Archivo de resultados del análisis, que señala que N es un número secuencial que se incrementa cuando se repiten los análisis o se vuelven a poner en cola.</p> <p>Se ha añadido este Historial de revisiones.</p>
N.º de documento 1000000012184 v00	Junio de 2017	Publicación inicial.

Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Sitio web: www.illumina.com
 Correo electrónico: techsupport@illumina.com

Números del servicio de asistencia al cliente de Illumina

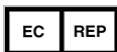
Zona	Teléfono gratuito	Regional
Norteamérica	+1.800.809.4566	
Alemania	+49 8001014940	+49 8938035677
Australia	+1.800.775.688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400.635.9898	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
España	+34 911899417	+34 800300143
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francia	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Japón	0800.111.5011	
Países Bajos	+31 8000222493	+31 207132960
Nueva Zelanda	0800451650	
Noruega	+47 800 16836	+47 21939693
Reino Unido	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapur	+1.800.579.2745	
Suecia	+46 850619671	+46 200883979
Suiza	+41 565800000	+41 800200442
Taiwán	00806651752	
Otros países	+44.1799.534000	

Hojas de datos de seguridad (SDS): disponibles en el sitio web de Illumina, support.illumina.com/sds.html.

Documentación del producto: disponible para su descarga en formato PDF en el sitio web de Illumina. Vaya a support.illumina.com, seleccione un producto y, a continuación, seleccione **Documentation & Literature** (Documentación y literatura).



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 (EE. UU.)
+ 1 800 809 ILMN (4566)
+ 1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Cambridge Limited
Chesterford Research Park, Little Chesterford
Saffron Walden, CB10 1XL
REINO UNIDO

Patrocinador australiano:
Illumina Australia
1 International Court
Scoresby, Victoria, 3179
Australia

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

© 2017 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

illumina®