

Arbeidsprosessveiledning for

# Local Run Manager CF 139-variantanalysemodul

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

Oversikt	3
Angi kjøringinformasjon	3
Analysemetoder	5
Vise kjøring og resultater	5
Resultatrapporter	5
Revisjonslogg	8
Teknisk hjelp	9



Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og 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 strengt og tydelig 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 UTTRYKkelig 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.

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).

© 2017 Illumina, Inc. Med enerett.

Illumina, MiSeqDx og streamingbase-designen er registrerte eller ventende varemerker som tilhører Illumina, Inc. og/eller tilknyttede selskaper i USA og/eller andre land. Alle andre navn, logoer og andre varemerker tilhører deres respektive eiere.

## Oversikt

Local Run Manager CF 139-variantanalysemodulen er beregnet på bruk med Illumina MiSeqDx cystisk fibrose 139-variantanalyse. Analysen detekterer 139 klinisk relevante cystisk fibrose-forårsakende mutasjoner og varianter av det transmembrane ledeevneregulatorgenet for cystisk fibrose (*CFTR*) i genomisk DNA isolert fra humant perifere fullblodsprøver. Analysemodulen utfører sekundær analyse og rapportgenerering fra sekvenseringskjøringer som bruker MiSeqDx cystisk fibrose 139-variantanalysen. Se pakningsvedlegget *MiSeqDx cystisk fibrose 139-variantanalyse (dokumentnr. 15038347)*.

Analysemodulen evaluerer korte regioner av amplifisert DNA, eller amplikoner, for varianter. Fokuset på sekvensering av amplikoner muliggjør høy dekning av bestemte regioner på tvers av et stort antall prøver.

## Om denne veiledningen

Denne veiledningen gir instruksjoner for å konfigurere kjøringsparametere for sekvensering og analyse for CF 139-variantanalysemodulen. Informasjon om Local Run Manager-instrumentbordet og -systeminnstillingene finnes i *Referanseveiledning for MiSeqDx for Local Run Manager-programvaren (dokumentnr. 1000000011880)*.

## Angi kjøringsinformasjon

### Angi parametere

- 1 Logg deg på Local Run Manager.
- 2 Klikk på **Create Run** (Opprett kjøring), og velg **CF 139**.
- 3 Skriv inn et kjøringsnavn som identifiserer kjøringen fra sekvensering gjennom analyse .  
Bruk alfanumeriske tegn, mellomrom, understreker eller bindestreker.
- 4 [Valgfritt] Angi en kjøringsbeskrivelse for å bidra til å identifisere kjøringen.  
Bruk alfanumeriske tegn.

### Angi prøver for kjøringen

Angi prøver for kjøringen ved hjelp av følgende alternativer:


#### ▶ Legge inn prøver manuelt

- 1 Velg antall prøver fra rullegardinmenyen Number of Samples (Antall prøver).  
Ta hensyn til følgende informasjon når du foretar et valg.
  - ▶ Velg antall prøver som ligger nærmest antall prøver som du skal teste. Rullegardinlisten inneholder prøver ganget med 8. Hvis nøyaktig antall prøver ikke finnes i listen, velger du det nærmeste antallet, men mindre enn antallet du skal teste, slik at kravene til indeksemangfold oppfylles. Hvis du for eksempel ønsker å teste 18 prøver, velger du 16 prøver. Deretter legger du til 2 prøver i tillegg. Husk å velge indeksadaptere for ekstra brønner.
  - ▶ Det finnes to konfigurasjoner for 48 prøver. Én konfigurasjon er 48-sett 1, og den andre er 48-sett 2. Konfigurasjonssettene inneholder forskjellige indeksprimere og brønnposisjoner for i7. Disse settene kan brukes for å angi to sekvenseringskjøringer for totalt 96 prøver.
- 2 Bruk den tomme tabellen i skjermbildet Create Run (Opprett kjøring).  
Foreslåtte prøvebrønner er uthevet.

- **Import samples** (Importer prøver) – Naviger til en ekstern fil i et format med kommaseparerte verdier (\*.csv). Du kan laste ned en mal i skjermbildet Create Run (Opprett kjøring).

Når du har fylt ut prøvetabellen, kan du eksportere prøveinformasjonen til en ekstern fil og bruke filen som referanse når du skal klargjøre biblioteker eller importere filen til en annen kjøring.


## Legge inn prøver manuelt

- 1 Angi et unikt prøvenavn i feltet Sample Name (Prøvenavn).  
Bruk alfanumeriske tegn, bindestreker eller understreker.
- 2 Høyreklikk og velg positive og negative kontrollprøver.
- 3 [Valgfritt] Legg inn en prøvebeskrivelse i prøvens fane Description (Beskrivelse).  
Bruk alfanumeriske tegn, bindestreker eller understreker.
- 4 [Valgfritt] Velg en indeks 1-adapter fra rullegardinlisten Index 1 (i7) (Indeks 1 (i7)).  
Dette trinnet er valgfritt fordi i7- og i5-indekskombinasjonene som automatisk opptar de uthevede brønnene allerede oppfyller kravene til indeksmangfold.
- 5 [Valgfritt] Velg en indeks 2-adapter fra rullegardinlisten Index 2 (i5) (Indeks 2 (i5)).  
Dette trinnet er valgfritt fordi i7- og i5-indekskombinasjonene som automatisk opptar de uthevede brønnene allerede oppfyller kravene til indeksmangfold.
- 6 Klikk på ikonet  **Print** (Skriv ut) for å vise plateoppsettet.
- 7 Velg **Print** (Skriv ut) for å skrive ut plateoppsettet som en referanse for klargjøring av biblioteker.
- 8 [Valgfritt] Klikk på **Export** (Eksporter) for å eksportere prøveinformasjon til en ekstern fil.
- 9 Klikk på **Save Run** (Lagre kjøring).

## Importere prøver

- 1 Klikk på **Import Samples** (Importer prøver), og bla til prøveinformasjonsfilens plassering. Du kan importere to filtyper.
  - Klikk på **Template** (Mal) i skjermbildet Create Run (Opprett kjøring) for å lage et nytt plateoppsett. Malfilen inneholder de riktige kolonneoverskriftene for import. Skriv inn prøveinformasjon i hver kolonne for prøvene i kjøringen. Slett eksempelinformasjon i ubrukte celler, og lagre deretter filen.

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

- Bruk en fil med prøveinformasjon som ble eksportert fra CF 139-variantmodulen med funksjonen Export (Eksporter).
- 2 Klikk på ikonet  **Print** (Skriv ut) for å vise plateoppsettet.
  - 3 Velg **Print** (Skriv ut) for å skrive ut plateoppsettet som en referanse for klargjøring av biblioteker.

- 4 [Valgfritt] Klikk på **Export** (Eksporter) for å eksportere prøveinformasjon til en ekstern fil.
- 5 Klikk på **Save Run** (Lagre kjøring).


## Redigere en kjøring

Instruksjoner om hvordan du redigerer informasjonen i kjøringen før sekvensering finnes i *Referanseveiledning for MiSeqDx for Local Run Manager-programvaren (dokumentnr. 1000000011880)*.

## Analysemetoder

En beskrivelse av analysemetodene for MiSeqDx cystisk fibrose 139-variantanalysen finnes i pakningsvedlegget *MiSeqDx cystisk fibrose 139-variantanalyse (dokumentnr. 15038347)*.

## Vise kjøring og resultater

- 1 Fra Local Run Manager-instrumentbordet klikker du på kjøringens navn.
- 2 Fra fanen Run Overview (Kjøringsoversikt) går du gjennom sekvenskjøringsmetrikken.
- 3 [Valgfritt] Klikk på ikonet **Copy to Clipboard**  (Kopier til utklippstavle) for å kopiere utgangskjøringsmappens bane.
- 4 Klikk på fanen Sequencing Information (Sekvenseringsinformasjon) for å gå gjennom informasjon om kjøringens parametere og forbruksmaterieil.
- 5 Klikk på fanen Samples and Results (Prøver og resultater) for å vise analyseresultatfilens plassering. Denne fanen inneholder dessuten en prøveliste som oppsummerer betegnelsesfrekvensen, ytelse og informasjon om kontroller.
  - ▶ Hvis analyse ble gjentatt, utvider du rullegardinlisten Select Analysis (Velg analyse) og velger riktig analyse.
- 6 [Valgfritt] Dobbeltklikk i feltet Comment (Kommentar) for å legge inn en kommentar om en prøve i listen.
- 7 Velg prøver i listen for å vise detaljert variantinformasjon. Prøvevariantinformasjon vises under prøvelisten.

Du finner mer informasjon om fanene Run Overview (Kjøringsoversikt) og Sequencing Information (Sekvenseringsinformasjon), og om hvordan analyser settes tilbake i kø, i *Referanseveiledning for MiSeqDx for Local Run Manager-programvaren (dokumentnr. 1000000011880)*.

## Resultatrapporter

Når sekundær analyse er ferdig, oppsummeres analyseresultater i fanen Samples and Results (Prøver og resultater). En analyseresultat(utgangs)fil for analysen oppsummerer dessuten resultatene i én tabulatoravgrenset tekstfil som heter MiSeqDxCF139VariantAssay.txt.

## Prøveinformasjon

Tabell 1 Prøvelisteinformasjon

Kolonneoverskrift	Beskrivelse
Sample Name (Prøvenavn)	Prøvenavnet som ble gitt da kjøringen ble opprettet.
Sample ID (Prøve-ID)	Prøvenavnet som ble gitt da kjøringen ble opprettet, kombinert med analyse-ID-en som ble tilordnet av Local Run Manager-programvaren. Hvis du setter en kjøring tilbake i kø, forblir prøvenavndelen av prøve-ID-en den samme, mens analyse-ID-en endres. Dette feltet finnes kun i *.txt-filen.
Sample Call Rate (Prøvebetegnelsesfrekvens)	Antall variantposisjoner som oppfyller en forhåndsdefinert konfidensverditerkel, dividert med de totale variantposisjonene som ble behandlet. Betegnelsesfrekvensen på per prøve-basis og rapportert som prosentandel som er beregnet som 1 minus [antall variantposisjoner med ufullstendige betegnelser, dividert med totalt antall sekvenserte variantposisjoner].
Performance (Ytelse)	Bestått eller ikke bestått-rangering, basert på betegnelsesfrekvens. For en positiv kontrollprøve: <ul style="list-style-type: none"> <li>• BESTÅTT – med en betegnelsesfrekvens <math>\geq 99\%</math></li> <li>• IKKE BESTÅTT – med en betegnelsesfrekvens <math>&lt; 99\%</math></li> </ul> For en negativ kontrollprøve: <ul style="list-style-type: none"> <li>• BESTÅTT – med en betegnelsesfrekvens <math>\leq 10\%</math></li> <li>• IKKE BESTÅTT – med en betegnelsesfrekvens <math>&gt; 10\%</math></li> </ul> For en prøve ikke merket som en positiv eller negativ kontroll: <ul style="list-style-type: none"> <li>• BESTÅTT – med en betegnelsesfrekvens <math>\geq 99\%</math></li> <li>• IKKE BESTÅTT – med en betegnelsesfrekvens <math>&lt; 99\%</math></li> </ul>
Control (Kontroll)	Kontrolltypen som ble gitt da kjøringen ble opprettet Verdiene er positive eller negative. Et blankt felt angir kun prøve.
Comment (Kommentar)	Et valgfritt testfelt for kommentarer. Dobbelklikk i kommentarfeltet for å legge inn en kommentar. Kommentarer som legges inn i dette feltet, blir lagret i analyserapportfilen, MiSeqDxCF139VariantAssay.txt. Hvis analysen settes tilbake i kø, blir det skrevet en ny rapportfil. Kommentarer fra en tidligere analysekjøring blir ikke overført til neste analysekjøring.

## Prøvevariantinformasjon

Tabell 2 Varianttabell

Kolonneoverskrift	Beskrivelse
Mutations Name (Mutasjonsnavn) Mutations (Common Name) (Mutasjoner (vanlig navn))	Vanlig navn på cystisk fibrose-varianten som beskrevet i CFTR2-databasen. Navnet på feltet er Mutations (Common Name) (Mutasjoner (vanlig navn)) i *.txt-filen.
Mutations Type (Mutasjonstype)	Varianttypen. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SNV – Enkel nukleotidvariant</li> <li>• DIV – Slettingsinnsettingsvariant</li> <li>• DEL – Stor sletting</li> <li>• PolyTGPolyT – PolyTG-/PolyT-genotype i CF-gen</li> </ul>
dbSNP rsID	dbSNP rsID av varianten, hvis dette er aktuelt.
CFTR Gene Region (CFTR-genregion)	CFTR-genregion (eksonnummer eller intronnummer) der varianten er tilstede.
Genomic Location (Genomisk plassering)	Genomisk plassering for varianten i kromosom 7.

Kolonneoverskrift	Beskrivelse
cDNA Name (cDNA-navn) cDNA Name (HGVS) (cDNA-navn (HGVS))	Beskrivelse av varianten på DNA-nivået som bruker kode-DNA-sekvensnomenklatur (cDNA-sekvensnomenklatur) som anbefalt av Human Genome Variation Society (HGVS). Navnet på feltet er cDNA Name (HGVS) (cDNA-navn (HGVS)) i *.txt-filen.
Protein Name (Proteinnavn) Protein Name (HGVS) (Proteinnavn (HGVS))	Beskrivelse av en variant på proteinnivået som bruker proteinsekvensnomenklatur som anbefalt av Human Genome Variation Society (HGVS). Navnet på feltet er Protein Name (HGVS) (Proteinnavn (HGVS)) i *.txt-filen.
Result (Resultat)	Variantgenotype. For SNV-er, DIV-er og DEL-er: <ul style="list-style-type: none"> <li>• HET – Heterozygot</li> <li>• HOM – Homozygot</li> </ul> For Poly TGPolyT-varianten blir den faktiske genotypen rapportert. <b>MERK:</b> PolyTGPolyT blir kun rapportert når R117H-varianten er detektert.

## Analyseresultatfil

Resultater i analyseresultatfilen er identiske med de som finnes i fanen Sample and Results (Prøve og resultater). Se [Prøveinformasjon på side 6](#) og [Prøvevariantinformasjon på side 6](#).

- Velg ett av følgende alternativer for å vise analyseresultatfilen MiSeqDxCf139VariantAssay.txt.
  - ▶ Fra fanen Sample and Results (Prøve og resultater) klikker du på **Export Data** (Eksporter data).
  - ▶ Åpne filen i mappen Alignment (Innretting).  
Banen til mappen Alignment (Innretting) vises i fanen Sample and Results (Prøve og resultater) i feltet Analysis Folder (Analysemappe).  
Når analysen er ferdig, blir analyseresultatfilen skrevet til mappen Alignment (Innretting) for kjøringen.  
Eksempel: MiSeqAnalysis\X representerer kjøgings-ID-en. YYYYMMDD (ÅÅÅÅMMDD) er datoen for kjøringen. N er et sekvensielt tall som øker hvis analysen ble gjentatt ellersatt tilbake i kø.

**Tabell 3 Filhode for MiSeqDxCf139VariantAssay.txt**

Kolonneoverskrift	Beskrivelse
Test	Beskriver testen som ble utført.
Run ID (Kjørings-ID)	Kjørings-ID ble generert av MOS (MiSeq Operating Software) i begynnelsen av sekvenseringskjøringen.
Run Date (Kjøringsdato)	Datoen (DDMMÅÅ) da sekvenseringskjøringen startet i MOS.
Analysis Version (Analyseversjon)	Hvilken versjon av Local Run Manager CF 139-variantanalysemodul som ble brukt til analysen.

## Revisjonslogg

Dokument	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 1000000012184 v01	August 2017	<p>Endret navnet på avsnittet Analyserapport til Resultatrapport.</p> <p>La til informasjon om feltnavnforskjeller mellom Local Run Manager-programvaren og *.txt-filen i avsnittene Prøveinformasjon og Prøvevariantinformasjon.</p> <p>La til en beskrivelse av prøve-ID-en.</p> <p>Fjernet informasjon i avsnittet Analysemetoder. Nærmere informasjon om analysemetoder finnes i pakningsvedlegget <i>MiSeqDx cystisk fibrose 139-variantanalyse (dokumentnr. 15038347)</i>.</p> <p>I avsnittet Angi prøver for kjøringen ble det lagt til informasjon om at sett 1 og 2 av 48-prøverskonfigurasjonen kan brukes til 96 prøver og to sekvenseringskjøringer.</p> <p>I avsnittet Legge inn prøver manuelt ble følgende revidert:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Endret trinn 1 fra prøve-ID til prøvenavn for at det skal samsvare med programvaren.</li> <li>• Endret trinn 2 for å angi at det kreves positive og negative kontrollprøver.</li> <li>• Endret trinn 3 for å angi at det ikke kan brukes mellomrom i prøvebeskrivelser.</li> </ul> <p>Flyttet avsnittet Redigere kjøringinformasjon til <i>Referanseveiledning for MiSeqDx for Local Run Manager-programvaren (dokumentnr. 1000000011880)</i>.</p> <p>I eksempeltabellen i avsnittet Importere prøver ble det lagt til nuller foran tallene i kolonnen Sample_Well. Selv som du kan opprette en importprøvefil uten nullene foran i kolonnen, samsvarer tabellen nå med malen som følger med programvaren.</p> <p>I avsnittet Analyseresultatfil ble det lagt til informasjon om reglene for navngivning av mappen Alignment (Innretting) om at N er et sekvensielt tall som øker hvis analysen gjentas eller settes tilbake i kø.</p> <p>La til denne revisjonsloggen.</p>
Dokumentnr. 1000000012184 v00	Juni 2017	Første versjon.



## Teknisk hjelp

Kontakt Illuminas avdeling for tekniske støtte for teknisk hjelp.

Nettsted: [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
E-post: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

Telefonnumre til Illuminas kundestøtte

Region	Gratis	Regionalt
Nord-Amerika	+1 800 8094 566	
Australia	+1 800 775 688	
Belgia	+32 800 77 160	+32 340 02 973
Danmark	+45 808 20 183	+45 89 871 156
Finland	+358 800 918 363	+358 974 790 110
Frankrike	+33 805 102 193	+33 170 770 446
Hongkong	800 960 230	
Irland	+353 1800 936 608	+353 016 950 506
Italia	+39 800 985 513	+39 236 003 759
Japan	0800 111 5011	
Kina	400 635 9898	
Nederland	+31 8000 222 493	+31 207 132 960
New Zealand	0800 451 650	
Norge	+47 800 16 836	+47 219 39 693
Østerrike	+43 800 006 249	+43 192 86 540
Singapore	+1 800 579 2745	
Spania	+34 911 899 417	+34 800 300 143
Storbritannia	+44 8000 126 019	+44 2073 057 197
Sveits	+41 565 800 000	+41 800 200 442
Sverige	+46 850 619 671	+46 200 883 979
Taiwan	+806 651 752	
Tyskland	+49 8001 014 940	+49 8938 035 677
Andre land	+44 1799 534 000	

Sikkerhetsdatablad – Tilgjengelige på Illuminas nettsted på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

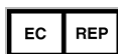
Produktdokumentasjon – Tilgjengelig for nedlasting i PDF-format fra Illuminas nettsted. Gå til [support.illumina.com](http://support.illumina.com), velg et produkt, og velg deretter **Documentation & Literature** (Dokumentasjon og litteratur).



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

**TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK**

© 2017 Illumina, Inc. Med enerett.



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

Australsk sponsor:  
Illumina Australia  
1 International Court  
Scoresby, Victoria, 3179  
Australia

**illumina®**