

Tờ Hướng dẫn Sử dụng

DÙNG CHO CHẨN ĐOÁN TRONG ỐNG NGHIỆM
CHỈ DÙNG CHO MỤC ĐÍCH XUẤT KHẨU

Mục đích sử dụng

Thiết bị NovaSeq 6000Dx được thiết kế để giải trình tự các thư viện DNA khi được sử dụng với các xét nghiệm chẩn đoán *in vitro* (IVD). Thiết bị NovaSeq 6000Dx được thiết kế để sử dụng với thuốc thử IVD và phần mềm phân tích cụ thể đã được đăng ký, chứng nhận hoặc phê duyệt cụ thể.

Nguyên tắc của quy trình

Illumina® Thiết bị NovaSeq 6000Dx được thiết kế để giải trình tự các thư viện DNA với các xét nghiệm chẩn đoán *in vitro*. Đối với đầu vào, NovaSeq 6000Dx sử dụng thư viện được tạo từ ADN trong đó chỉ thị mẫu và trình tự thu thập được thêm vào mục tiêu đã khuếch đại. Thư viện mẫu được thu thập trên tế bào dòng chảy và giải trình tự trên thiết bị nhờ công nghệ hóa học giải trình tự theo nguyên lý tổng hợp (SBS). Công nghệ hóa học SBS sử dụng phương pháp vùng kết thúc thuận nghịch để phát hiện các base nucleotide đơn lẻ đã gắn nhãn huỳnh quang khi các base này được kết hợp vào các sợi ADN đang phát triển. Phần mềm Real-Time Analysis (RTA) thực hiện phân tích hình ảnh và phát hiện base đồng thời chỉ định điểm chất lượng cho từng base cho mỗi chu kỳ giải trình tự. Khi phân tích chính kết thúc, phân tích phụ có thể được thực hiện trên Illumina DRAGEN Server for NovaSeq 6000Dx kèm theo và cần thiết để xử lý các phát hiện base. NovaSeq 6000Dx sử dụng các ứng dụng phân tích phụ khác nhau tùy theo quy trình công việc. Đối với ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, quá trình xử lý bao gồm tách đoạn, tạo tệp FASTQ, so khớp, phát hiện biến thể và tạo tệp định dạng phát hiện biến thể (VCF và gVCF). Các tệp VCF và gVCF chứa thông tin về các biến thể dòng mầm và soma (tùy thuộc vào quy trình công việc được chọn) được tìm thấy ở các vị trí cụ thể trong hệ gen tham chiếu.

Chế độ vận hành kép

NovaSeq 6000Dx bao gồm một ổ cứng khởi động đơn với các chế độ chẩn đoán *in vitro* (IVD) và chỉ sử dụng cho nghiên cứu (RUO) riêng biệt. Chế độ được chọn bằng cách sử dụng công tắc trên màn hình Sequencing (Giải trình tự). Chế độ đã chọn được đánh dấu rõ ràng trong giao diện trên tất cả các màn hình. Các xét nghiệm giải trình tự IVD, bao gồm Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx trong các quy trình làm việc dòng mầm và hoặc soma, được thực hiện ở chế độ IVD. Chỉ có thể sử dụng thuốc thử giải trình tự IVD trong chế độ IVD. Các đặc điểm hiệu suất và giới hạn của quy trình cho NovaSeq 6000Dx đã được thiết lập bằng cách sử dụng Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx trong chế độ IVD.

Giới hạn của quy trình

1. Chỉ dùng cho chẩn đoán *trong ống nghiệm*.

2. Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, khi được sử dụng với Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) và Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) có khả năng cung cấp:
 - Công suất giải trình tự:
 - $\geq 1,0$ terabase (TB) với bộ kit S2
 - $\geq 3,0$ TB với bộ kit S4
 - Độ dài đoạn đọc (trong lần chạy kết đôi) 2 x 150 cặp base (bp).
 - Các base cao hơn Q30 $\geq 85\%$ ở độ dài đoạn đọc 2 x 150 bp. Từ 85% base trở lên có điểm chất lượng theo thang đo Phred lớn hơn 30, cho biết độ chính xác phát hiện base cao hơn 99,9%.
3. Các vùng chèn có chiều dài > 18 bp và các vùng xóa có chiều dài > 21 bp chưa được xác thực.
4. Biến thể lớn, bao gồm các biến thể đa nucleotide (MNV) và các indel lớn, có thể được báo cáo là các biến thể nhỏ hơn riêng biệt trong tệp VCF đầu ra.
5. Các MNV nhỏ được báo cáo là các biến thể riêng biệt trong tệp VCF đầu ra.
6. Các vùng xóa được báo cáo trong tệp VCF tại tọa độ của base nằm trước theo định dạng VCF. Do đó, hãy xem xét các biến thể liền kề trước khi báo cáo một phát hiện base riêng lẻ là tham chiếu đồng hợp tử.
7. Các giới hạn dành riêng cho dòng mầm:
 - NovaSeq 6000Dx sử dụng quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF dòng mầm của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx được thiết kế để cung cấp kết quả định tính cho việc phát hiện biến thể dòng mầm (ví dụ: đồng hợp tử, dị hợp tử, thể đại).
 - Sự thay đổi số lượng bản sao có thể ảnh hưởng đến việc xác định một biến thể là đồng hợp tử hay dị hợp tử.
 - Hệ thống sẽ không báo cáo nhiều hơn hai biến thể tại một vị trí duy nhất, ngay cả khi có sự thay đổi số bản sao.
8. Các giới hạn dành riêng cho sinh dưỡng:
 - NovaSeq 6000Dx sử dụng quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF soma của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx được thiết kế để cung cấp kết quả định tính cho việc phát hiện biến thể soma (tức là sự hiện diện của biến thể soma).
 - Quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF soma không thể phân biệt giữa các biến thể dòng mầm và soma. Quy trình này được thiết kế để phát hiện các biến thể trên một loạt các tần số biến thể, nhưng không thể sử dụng tần số biến thể để phân biệt các biến thể sinh dưỡng với các biến thể dòng mầm.
 - Mô bình thường trong mẫu xét nghiệm ảnh hưởng đến việc phát hiện các biến thể. Giới hạn phát hiện được báo cáo dựa trên tần số biến thể liên quan đến tổng số ADN tách chiết từ cả mô khối u và mô bình thường.
 - Nếu có nhiều hơn một alen biến thể được phát hiện ở cùng một lô-cut, không có alen nào sẽ được báo cáo là biến thể đạt. Thay vào đó, toàn bộ các alen sẽ được báo cáo nhưng được lọc qua thẻ đa alen.

Quy trình đối chứng chất lượng

Phần mềm NovaSeq 6000Dx đánh giá từng lần chạy, mẫu và phát hiện base dựa trên các số liệu đối chứng chất lượng. Mẫu chứng dương và âm được đề xuất trong quá trình chuẩn bị thư viện và cần được đánh giá. Đánh giá các mẫu chứng như sau.

- Mẫu chứng âm (Chứng không có khuôn) hoặc mẫu chứng âm khác—Phải tạo ra kết quả dự kiến. Nếu mẫu chứng âm tạo ra kết quả khác với dự kiến, có thể đã xảy ra lỗi trong việc theo dõi mẫu, ghi sai các môi lập chỉ thị hoặc tình trạng nhiễm bẩn.
- Mẫu chứng dương—Phải tạo ra kết quả dự kiến. Nếu mẫu chứng dương tạo ra kết quả khác với dự kiến, có thể đã xảy ra lỗi trong việc theo dõi mẫu hoặc ghi sai các môi lập chỉ thị.

Thành phần sản phẩm

Illumina NovaSeq 6000Dx bao gồm những điều sau đây:

- Thiết bị NovaSeq 6000Dx (Số danh mục 20068232)
- Các thành phần phần mềm cho Thiết bị NovaSeq 6000Dx bao gồm như sau:

Ứng dụng phần mềm	Địa điểm lắp đặt	Chức năng	Mô tả
Phần mềm vận hành NovaSeq	NovaSeq 6000Dx	Điều khiển hoạt động của thiết bị	Phần mềm vận hành NovaSeq (NVOS) quản lý hoạt động của thiết bị trong quá trình giải trình tự và tạo hình ảnh cho phần mềm Real-Time Analysis (RTA) sử dụng.
Real-Time Analysis Software (RTA)	NovaSeq 6000Dx	Thực hiện quá trình phân tích chính	Ứng dụng phần mềm RTA chuyển đổi các hình ảnh do NVOS tạo cho mỗi ô trong mỗi chu kỳ chạy giải trình tự thành các tệp phát hiện base. Các tệp phát hiện base là đầu vào cho các Mô-đun ứng dụng trên Illumina DRAGEN Server for NovaSeq 6000Dx. Ứng dụng phần mềm RTA không bao gồm giao diện người dùng.
Illumina Run Manager	Máy chủ Illumina DRAGEN	Kiểm soát việc thiết lập và quản lý lần chạy	Illumina Run Manager cung cấp khả năng quản lý người dùng và thiết bị, chủ trì phần mềm ứng dụng và cho phép sử dụng các mô-đun phân tích phụ hệ gen được tăng tốc bằng phần cứng DRAGEN.

Điều kiện vận hành

Để biết thêm thông tin về các điều kiện vận hành, hãy xem mục Các lưu ý về môi trường trong *Tài liệu sản phẩm Thiết bị NovaSeq 6000Dx*.

Yếu tố	Thông số kỹ thuật
Nhiệt độ	Duy trì nhiệt độ phòng thí nghiệm trong khoảng từ 19°C đến 25°C (22°C $\pm$ 3°C). Đây là phạm vi nhiệt độ hoạt động của thiết bị. Trong thời gian chạy, không để nhiệt độ môi trường xung quanh thay đổi quá $\pm$ 2°C.
Độ ẩm	Duy trì độ ẩm tương đối không ngưng tụ trong khoảng 20-80%. Hệ thống phải được vận hành ở độ cao vận hành từ 2.000 mét trở xuống.

Vật tư tiêu hao và thiết bị

Mục này liệt kê mọi thứ cần thiết cho một lần chạy giải trình tự của NovaSeq 6000Dx. Điều này bao gồm vật tư tiêu hao được Illumina cung cấp và vật tư tiêu hao phụ trợ và thiết bị mà bạn phải mua từ các nhà cung cấp khác. Cần có các vật phẩm này để hoàn thành giao thức và thực hiện các quy trình bảo trì và khắc phục sự cố.

Để biết thông tin về các ký hiệu trên bao bì vật tư tiêu hao hoặc vật tư tiêu hao, tham khảo [Bản chú giải ký hiệu IVD Illumina \(mã tài liệu 1000000039141\)](#).

Vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

Một lần chạy NovaSeq 6000Dx yêu cầu các thành phần sau:

- Hộp dung dịch đệm
- Hộp đựng cụm
- Tế bào dòng chảy
- Ống thư viện
- Hộp SBS

Vật tư tiêu hao NovaSeq 6000Dx được đóng gói theo các cấu hình sau. Mỗi thành phần đều sử dụng nhận dạng tần số vô tuyến (RFID) để theo dõi và tương thích vật tư tiêu hao chính xác.

Bảng 1 Vật tư tiêu hao do Illumina cung cấp

Tên bộ dụng cụ	Nội dung	Số danh mục Illumina
Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ)	Hộp đựng cụm S2 Tế bào dòng chảy S2 Hộp SBS S2	20046931
Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ)	Hộp đựng cụm S4 Tế bào dòng chảy S4 Hộp SBS S4	20046933
Hộp dung dịch đệm S2 NovaSeq 6000Dx	Hộp dung dịch đệm S2	20062292

Tên bộ dụng cụ	Nội dung	Số danh mục Illumina
Hộp dung dịch đệm S4 NovaSeq 6000Dx	Hộp dung dịch đệm S4	20062293
Ống thư viện NovaSeq 6000Dx	Ống thư viện đơn	20062290
Ống thư viện NovaSeq 6000Dx, Gói 24 ống	24 ống thư viện	20062291

Khi nhận được vật tư tiêu hao, bạn cần nhanh chóng bảo quản các thành phần ở nhiệt độ được chỉ định để đảm bảo hiệu suất hoạt động phù hợp.

Bảng 2 Bảo quản bộ kit NovaSeq 6000Dx

Vật tư tiêu hao	Số lượng	Nhiệt độ bảo quản	Chiều dài	Chiều rộng	Chiều cao
Tế bào dòng chảy	1	2°C đến 8°C	27,7 cm (10,9 inch)	17 cm (6,7 inch)	3,8 cm (1,5 inch)
Hộp đựng cụm	1	-25°C đến -15°C	29,5 cm (11,6 inch)	13 cm (5,1 inch)	9,4 cm (3,7 inch)
Hộp SBS	1	-25°C đến -15°C	30 cm (11,8 inch)	12,4 cm (4,9 inch)	11,2 cm (4,4 inch)
Hộp dung dịch đệm	1	15°C đến 30°C	42,2 cm (16,6 inch)	20,6 cm (8,1 inch)	21,1 cm (8,3 inch)
Ống thư viện	1	15°C đến 30°C	4,1 cm (1,6 inch)	2,3 cm (0,9 inch)	12,4 (4,9 inch)

Chi tiết vật tư tiêu hao

Để xác định các thành phần bộ kit tương thích, các tế bào dòng chảy và hộp xét nghiệm được dán nhãn với các ký hiệu thể hiện chế độ của bộ kit.

Bảng 3 Ghi nhãn về khả năng tương thích

Chế độ bộ kit	Đánh dấu trên nhãn	Mô tả
Các thành phần của bộ kit S2	S2	Tế bào dòng chảy S2 tạo ra tới 4,1 tỷ đoạn đọc đơn đi qua bộ lọc với công suất lên đến 1.000 Gb ở 2 x 150 bp. Tế bào dòng chảy S2 cung cấp khả năng giải trình tự nhanh cho hầu hết các ứng dụng thông lượng cao.

Chế độ bộ kit	Đánh dấu trên nhãn	Mô tả
Các thành phần của bộ kit S4	S4	Tế bào dòng chảy S4 tạo ra tới 10 tỷ đoạn đọc đơn đi qua bộ lọc với công suất lên đến 3.000 Gb ở 2 x 150 bp. Tế bào dòng chảy S4 là phiên bản bốn làn của tế bào dòng chảy, được thiết kế để có công suất tối đa.

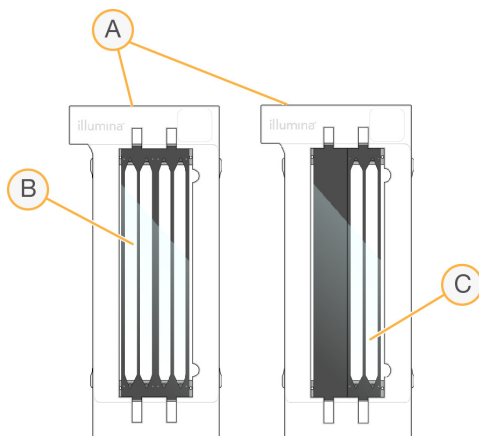
Tế bào dòng chảy

Tế bào dòng chảy NovaSeq 6000Dx là tế bào dòng chảy có cấu trúc được bọc trong một cái hộp. Tế bào dòng chảy là chất nền gốc thủy tinh chứa hàng tỷ giếng nano được sắp xếp theo thứ tự. Các cụm được tạo ra trong các giếng nano rồi từ đó giải trình tự được thực hiện.

Mỗi tế bào dòng chảy có nhiều làn để giải trình tự các thư viện gộp. Tế bào dòng chảy S2 có hai làn và tế bào dòng chảy S4 có bốn làn. Mỗi làn được tạo ảnh thành nhiều dải, và phần mềm sau đó chia hình ảnh của mỗi dải thành các phần nhỏ hơn được gọi là ô.

Một số vết trầy xước và các khiếm khuyết thẩm mỹ nhỏ khác trên tế bào dòng chảy là bình thường, dự kiến sẽ không ảnh hưởng đến chất lượng và năng suất dữ liệu. Illumina khuyến nghị sử dụng các tế bào dòng chảy này như bình thường.

Hình 1 Các tế bào dòng chảy



- A. Hộp tế bào dòng chảy
- B. Tế bào dòng chảy bốn làn (S4)
- C. Tế bào dòng chảy hai làn (S2)

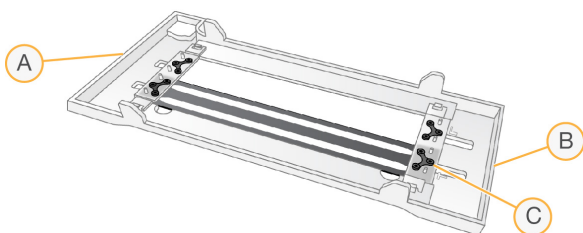
Mặt dưới của mỗi tế bào dòng chảy có nhiều miếng đệm. Các thư viện và thuốc thử đi vào các làn tế bào dòng chảy qua các miếng đệm ở đầu vào của tế bào dòng chảy. Thuốc thử đã sử dụng được đẩy ra khỏi các làn qua miếng đệm ở đầu ra.



THẬN TRỌNG

Tránh chạm vào các miếng đệm khi xử lý tế bào dòng chảy.

Hình 2 Tế bào dòng chảy đảo ngược



- A. Đầu ra
- B. Đầu vào
- C. Vòng đệm (một trong bốn)

Chi tiết về các hộp dung dịch đệm, cụm và SBS

Các hộp dung dịch đệm, cụm và SBS của NovaSeq 6000Dx có các ngăn chứa làm kín bằng màng nhôm đã được đóng sẵn thuốc thử, dung dịch đệm và dung dịch rửa. Các hộp đựng cụm và SBS được bao gồm trong các bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx. Hộp dung dịch đệm được bán riêng.

Các hộp nạp trực tiếp lên thiết bị, được mã hóa bằng màu và dán nhãn để giảm lỗi nạp. Các cơ cấu dẫn hướng trong ngăn làm lạnh thuốc thử và ngăn kéo dung dịch đệm giúp đảm bảo lắp đặt đúng hướng.

Bảng 4 Các hộp NovaSeq 6000Dx

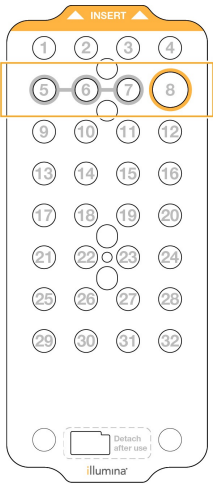
Vật tư tiêu hao	Mô tả
Hộp dung dịch đệm	Được nạp sẵn các dung dịch đệm giải trình tự và cân nặng lên đến 6,8 kg (15 lb). Tay cầm bằng nhựa giúp dễ dàng vận chuyển, lắp đặt và tháo dỡ thiết bị.
	Hộp dung dịch đệm chứa các thuốc thử nhạy với ánh sáng. Bảo quản hộp dung dịch đệm trong bao bì cho đến khi sử dụng.

Vật tư tiêu hao	Mô tả
Hộp đựng cụm	Được đóng sẵn các thuốc thử phân cụm, thuốc thử lập chỉ thị và thuốc thử kết đôi cùng với dung dịch rửa. Bao gồm một vị trí được chỉ định cho ống thư viện. Nhãn màu cam phân biệt hộp đựng cụm với hộp SBS.
	Thuốc thử biến tính ở vị trí 30 chứa formamide, là một amide hữu cơ và độc tố sinh sản. Ngăn chứa này có thể tháo rời để hỗ trợ thải bỏ toàn bộ phần thuốc thử chưa sử dụng một cách an toàn sau lần chạy giải trình tự.
Hộp SBS	Được đóng sẵn thuốc thử giải trình tự ở thể tích cụ thể theo số chu kỳ mà bộ kit hỗ trợ. Mỗi một trong ba vị trí thuốc thử có một vị trí liền kề được dành riêng để rửa tự động sau khi chạy. Nhãn màu xám phân biệt hộp SBS với hộp đựng cụm.
	Hộp SBS chứa các thuốc thử nhạy với ánh sáng. Bảo quản hộp SBS trong bao bì cho đến khi sử dụng.

Các ngăn chứa dành riêng của hộp đựng cụm

Ba ngăn chứa được dành riêng cho các mẫu tùy chỉnh và một vị trí trống được dành riêng cho ống thư viện. Để truy xuất nguồn gốc mẫu, ống thư viện được nạp vào hộp đựng cụm trong quá trình thiết lập lần chạy và luôn ở trong hộp cho đến khi kết thúc lần chạy.

Hình 3 Ngăn chứa được đánh số



Bảng 5 Các ngăn chứa của hộp đựng cụm

Vị trí	Được dành riêng cho
5, 6 và 7	Các môi tùy chỉnh tùy chọn
8	Ống thư viện

Các vật tư tiêu hao và thiết bị do người dùng tự chuẩn bị

Bảng 6 Vật tư tiêu hao

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp	Mục đích
Chai ly tâm, 500 ml	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng Tween 20 để rửa bảo trì.
Ống ly tâm, 30 ml	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng NaOCl để rửa bảo trì.
Găng tay không bột, dùng một lần	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Mục đích thông thường.
Khăn lau tấm nền isopropyl, 70% hoặc Khăn lau tấm nền ethanol, 70%	VWR, danh mục số 95041-714 hoặc tương đương Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Làm sạch các bộ phận trước khi vận hành và cho các mục đích sử dụng chung.
Giấy lụa dùng cho phòng thí nghiệm, ít sợi	VWR, danh mục số 21905-026 hoặc tương đương	Lau khô bề tế bào dòng chảy và cho các mục đích sử dụng chung.

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp	Mục đích
NaOCl cấp thuốc thử, 5%	Sigma-Aldrich, danh mục số 239305	Thực hiện rửa bảo trì.
Đầu tip pipet, 2 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Dùng pipet để pha loãng và nạp thư viện.
Đầu tip pipet, 20 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Dùng pipet để pha loãng và nạp thư viện.
Đầu tip pipet, 200 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Dùng pipet để pha loãng và nạp thư viện.
Đầu tip pipet, 1.000 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Dùng pipet để pha loãng và nạp thư viện.
Cồn isopropyl cấp thuốc thử hoặc phổ quang kế (99%), chai 100 ml	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Vệ sinh định kỳ các bộ phận quang học và hỗ trợ hộp làm sạch vật kính.
Tween 20	Sigma-Aldrich, danh mục số P7949	Thực hiện rửa bảo trì.
Nước, cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng Tween 20 và natri hypoclorit để rửa bảo trì.

Bảng 7 Thiết bị

Vật tư	Nguồn
Tủ đông, -25°C đến -15°C	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Ống đông, 500 ml, vô trùng	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Thùng đá	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Pipet, 20 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Pipet, 200 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Pipet, 1.000 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Tủ lạnh, 2°C đến 8°C	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Bồn nước, bể nước*	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường

* Sử dụng bồn nước có thể chứa hai hộp thuốc thử và mức nước phù hợp. Ví dụ: (61 cm x 91,4 cm x 25,4 cm) (24 inch x 36 inch x 10 inch).

Hướng dẫn về nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm

Luôn sử dụng nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm hoặc nước khử ion để thực hiện các quy trình của thiết bị. Tuyệt đối không dùng nước máy. Chỉ sử dụng các cấp độ nước hoặc các loại tương đương sau:

- Nước khử ion
- Illumina PW1
- Nước 18 Megohm (MΩ)
- Nước Milli-Q
- Nước Super-Q
- Nước cấp độ sinh học phân tử

Hướng dẫn sử dụng

Các hướng dẫn sau đây là để chạy Thiết bị NovaSeq 6000Dx ở chế độ hoạt động IVD bằng cách sử dụng các cấu hình bộ kit S2 hoặc S4.

Tạo một lần chạy giải trình tự

Sử dụng các bước sau để tạo một lần chạy sử dụng Illumina Run Manager ở chế độ IVD hoặc RUO. Hoặc bạn có thể chọn **Import Run** (Nhập lần chạy) trên tab **Planned** (Đã lên kế hoạch) của trang **Runs** (Các lần chạy) và nhập một bảng thông tin mẫu. Tạo các lần chạy mới trên thiết bị hoặc bằng cách truy cập Illumina Run Manager bằng trình duyệt trên máy tính được kết nối mạng.

LƯU Ý Thông tin chính xác được yêu cầu bởi mỗi ứng dụng phân tích khác nhau, nhưng quy trình tạo một lần chạy bao gồm các bước sau.

1. Từ tab **Planned** (Đã lên kế hoạch) của màn hình **Runs** (Các lần chạy), chọn **Create Run** (Tạo lần chạy).
2. Chọn một ứng dụng, sau đó chọn **Next** (Tiếp theo).
3. Chuyển qua các màn hình cài đặt. Tùy thuộc vào ứng dụng của bạn, màn hình được hiển thị có thể bao gồm những nội dung sau:
 - **Run Settings** (Cài đặt lần chạy)—Nhập các thông số của lần chạy.
 - **Sample Data** (Dữ liệu mẫu)—Nhập dữ liệu mẫu theo cách thủ công hoặc bằng cách nhập tệp CSV chứa thông tin mẫu. Tên mẫu phải là duy nhất.
 - **Analysis settings** (Cài đặt phân tích)—Nhập cài đặt cho phân tích.
4. Trên màn hình **Review** (Xem lại), xem lại thông tin lần chạy rồi chọn **Save** (Lưu).
Lần chạy được thêm vào đầu danh sách lần chạy trên tab **Planned** (Đã lên kế hoạch).

Chuẩn bị vật tư tiêu hao

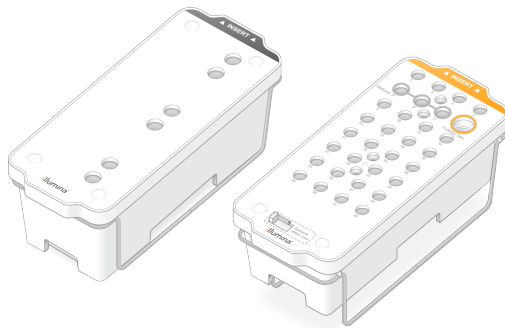
Rã đông các hộp SBS và hộp đựng cụm

THẬN TRỌNG

Việc sử dụng nước nóng để rã đông thuốc thử có thể làm giảm chất lượng dữ liệu hoặc lần chạy không thành công.

1. Nếu một lần chạy giải trình tự đang diễn ra, đảm bảo rằng cả hai bên của thiết bị đều khả dụng khi quá trình rã đông hoàn tất.
2. Lấy các hộp SBS và hộp đựng cụm ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ -25°C đến -15°C.
3. Đặt mỗi hộp vào một giá rã đông đơn dây.
Các giá này được cung cấp cùng với thiết bị và tránh bị lật trong bể nước.

Hình 4 Các hộp trong các giá rã đông đơn dây



4. Sử dụng bảng sau để xác định thời gian rã đông.
Rã đông hộp SBS và hộp đựng cụm trong bể nước ở nhiệt độ phòng (19°C đến 25°C) như sau. Nhúng các hộp đến khoảng nửa chừng.

Hộp	Thời gian rã đông
Hộp SBS S2	4 giờ
Hộp đựng cụm S2	Tối đa 2 giờ
Hộp SBS S4	4 giờ
Hộp đựng cụm S4	Tối đa 4 giờ

THẬN TRỌNG

Việc không bắt đầu giải trình tự trong vòng bốn giờ sau khi rã đông hộp thuốc thử có thể dẫn đến giảm chất lượng dữ liệu.

5. Dùng khăn giấy thấm khô hoàn toàn đáy hộp thuốc thử. Sấy khô giữa các giếng để loại bỏ tất cả nước.
6. Kiểm tra các màng nhôm xem có nước không. Nếu còn nước, thấm khô bằng khăn không xơ.
7. Kiểm tra mặt dưới của mỗi hộp để đảm bảo rằng các ngăn chứa không có đá lạnh, có nghĩa là thuốc thử đã được rã đông.
8. Lắc đảo chiều mỗi hộp 10 lần để trộn đều các thuốc thử.



THẬN TRỌNG

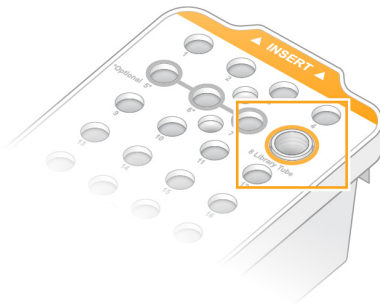
Nếu không đảo kỹ các hộp, chất lượng dữ liệu thu được có thể bị ảnh hưởng.

9. Gõ nhẹ đáy mỗi hộp trên bàn để giảm bọt khí.

Nạp ống thư viện

1. Không làm xáo trộn thư viện ở dưới cùng, chèn ống thư viện không đầy nắp chứa nhóm thư viện đã biến tính và pha loãng vào vị trí **Ống thư viện (#8)** của hộp đựng cụm.
2. Đặt ống thư viện vào vị trí số 8 của hộp đựng cụm.

Hình 5 Ống thư viện không đầy nắp được nạp vào vị trí số 8



Dốc sạch lọ thuốc thử đã sử dụng

Làm theo hướng dẫn sau để đổ sạch các chai thuốc thử đã sử dụng với *mỗi* lần chạy giải trình tự. Nếu hệ thống của bạn được cấu hình để gửi các thuốc thử đã sử dụng ra bên ngoài, chai nhỏ sẽ thu thập các thuốc thử đã sử dụng và phải được đổ sạch cho mỗi lần chạy giải trình tự. Chai lớn phải được đặt đúng vị trí.

1. Tháo và đổ hết chai thuốc thử nhỏ đã sử dụng như sau.
 - a. Nâng cần gạt lên và lấy chai thuốc thử nhỏ đã sử dụng ra khỏi hốc. Nắm chặt các mặt bên của chai.
 - b. Tháo nắp có ren ra khỏi giá giữ nắp ở phía trước chai.
 - c. Đậy kín lỗ mở của lọ bằng nắp để tránh tràn đổ.
 - d. Đảm bảo không trộn lẫn thành phần của chai này với chai khác, và tiến hành xử lý theo các quy định hiện hành tại địa phương.
 - e. Đưa chai không có nắp trở lại hốc, sau đó hạ cần gạt xuống. Vặn nắp lên cổ nắp.

2. Tháo và đổ hết chai thuốc thử lớn đã sử dụng như sau.
 - a. Dùng tay cầm ở trên cùng, tháo lọ thuốc thử lớn đã sử dụng ra khỏi bên trái ngăn kéo dung dịch đệm.
 - b. Tháo nắp có ren ra khỏi giá giữ nắp ở phía trước chai.
 - c. Đậy kín lỗ mở của lọ bằng nắp để tránh tràn đổ.
 - d. Thải bỏ các chất theo các tiêu chuẩn áp dụng cho vùng của bạn. Cầm cả hai tay cầm khi dốc sạch.
 - e. Đưa chai không có nắp trở lại ngăn kéo dung dịch đệm. Vặn nắp lên cổ nắp.

Hình 6 Trả lại chai trống



3. Đeo đôi găng tay không bột mới.



THẬN TRỌNG

Luôn đeo đôi găng tay mới sau khi xử lý chai thuốc thử đã sử dụng.

4. Đóng ngăn kéo dung dịch đệm, và sau đó đóng các cửa ngăn chứa chất lỏng.



THẬN TRỌNG

Việc không đổ hết các chai thuốc thử đã sử dụng có thể dẫn đến quá trình chạy bị kết thúc và chảy tràn, làm hỏng thiết bị và gây nguy cơ về an toàn.

Chuẩn bị tế bào dòng chảy

1. Lấy gói tế bào dòng chảy trong hộp mới ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ 2°C đến 8°C.
2. Đặt gói tế bào dòng chảy kín sang một bên ở nhiệt độ môi trường xung quanh (19°C đến 25°C) trong 10–15 phút.
Sử dụng tế bào dòng chảy trong vòng 12 giờ sau khi lấy ra khỏi bao bì.

Nạp Vật tư tiêu hao

Làm theo các hướng dẫn sau để bắt đầu thiết lập lần chạy và nạp vật tư tiêu hao.

1. Từ trình đơn chính, chọn **Sequence** (Trình tự) rồi chọn một lần chạy tế bào dòng chảy đơn hoặc kép như sau.
 - **A+B**—Thiết lập một lần chạy tế bào dòng chảy kép.
 - **A**—Thiết lập một lần chạy tế bào dòng chảy đơn ở bên A.
 - **B**—Thiết lập một lần chạy tế bào dòng chảy đơn ở bên B.Hệ thống bắt đầu thiết lập lần chạy, bắt đầu với việc nạp tế bào dòng chảy.
2. Chọn **OK** để xác nhận cảnh báo và mở cửa tế bào dòng chảy.

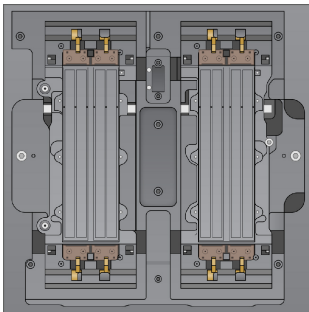
**THẬN TRỌNG**

Giữ cho bề mặt thông thoáng trong quá trình chạy giải trình tự và tránh tụt vào thiết bị. Tác động lực lên cửa tế bào dòng chảy có thể khiến nó mở ra, làm dừng lần chạy. Không thể tiếp tục thực hiện lần chạy đã dừng.

Nạp tế bào dòng chảy

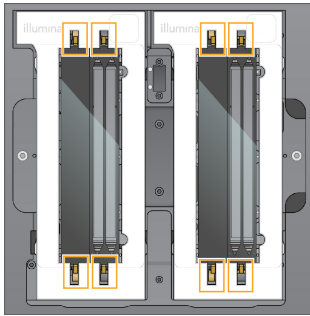
1. Nếu có, lấy tế bào dòng chảy ra khỏi lần chạy trước đó.
2. Nếu nhìn thấy tiểu phân trên bề mặt tế bào dòng chảy, hãy làm sạch toàn bộ bề, bao gồm mặt phân cách chất lỏng và bề mặt thủy tinh của đích căn chỉnh quang học, bằng khăn lau tẩm cồn. Lau khô bằng khăn không xơ.

Hình 7 Bộ tế bào dòng chảy



3. Lấy tế bào dòng chảy ra khỏi bao bì như sau.
 - a. Đeo một đôi găng không bột mới để tránh làm bẩn bề mặt kính của tế bào dòng chảy.
 - b. Đối với bao bì trên bề mặt phẳng, bóc lá nhôm ra khỏi vấu góc.
 - c. Gỡ nắp giữ bằng nhựa trong suốt che tế bào dòng chảy.
 - d. Lấy tế bào dòng chảy ra khỏi túi nhôm. Nắm vào các mặt của tế bào dòng chảy để tránh chạm vào kính hoặc các miếng đệm bên dưới.
 - e. Nếu thấy tiểu phân ở trên một trong hai bề mặt thủy tinh thì làm sạch bề mặt đó bằng khăn lau tẩm cồn không có xơ vải và lau khô bằng khăn giấy lụa ít xơ dùng cho phòng thí nghiệm.
 - f. Thải bỏ túi nhôm đúng cách.
4. Căn chỉnh tế bào dòng chảy trên bốn kẹp được nâng lên và đặt nó lên bề mặt tế bào dòng chảy.

Hình 8 Các tế bào dòng chảy đã nạp được căn chỉnh trên các kệ



5. Chọn **Close Flow Cell Door** (Đóng cửa tế bào dòng chảy).

Cửa tế bào dòng chảy đóng lại, các cảm biến và RFID được kiểm tra, và ID tế bào dòng chảy xuất hiện trên màn hình.

Nạp các hộp SBS và hộp đựng cụm

1. Mở cửa ngăn chứa chất lỏng, sau đó mở cửa ngăn làm lạnh thuốc thử.
2. Tháo hộp SBS và hộp đựng cụm đã sử dụng, nếu có từ lần chạy trước.
Các hộp đã sử dụng có màng nhôm đã bị chọc thủng.
3. Thải bỏ thuốc thử chưa sử dụng theo tiêu chuẩn hiện hành.
Để thải bỏ an toàn vị trí #30 của hộp đựng cụm, tham khảo [Tách vị trí #30 trên trang 20](#).
4. Nạp các hộp đã chuẩn bị vào ngăn kéo ngăn làm lạnh thuốc thử như sau, để các nhãn Insert (Chèn) hướng vào mặt sau của thiết bị.
 - Đặt hộp SBS (nhãn màu xám) vào vị trí bên trái.
 - Đặt hộp đựng cụm (nhãn màu cam) chứa ống thư viện không đầy nắp vào vị trí bên phải.

Hình 9 Các hộp thuốc thử đã nạp



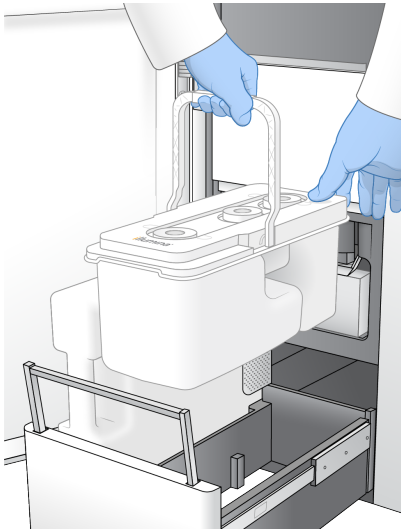
5. Trượt ngăn kéo vào ngăn làm lạnh rồi đóng cửa ngăn làm lạnh thuốc thử.
Các cảm biến và RFID được kiểm tra. ID của ống thư viện và hai hộp xuất hiện trên màn hình.

Nạp hộp dung dịch đệm

1. Kéo tay cầm kim loại để mở ngăn kéo dung dịch đệm.

2. Tháo hộp dung dịch đệm đã sử dụng ra khỏi phía bên phải của ngăn kéo dung dịch đệm.
Hộp dung dịch đệm đã sử dụng có màng nhôm đã bị chọc thủng.
3. Đặt một hộp dung dịch đệm mới vào ngăn kéo dung dịch đệm sao cho nhãn Illumina hướng về phía trước của ngăn kéo. Căn chỉnh hộp với các thanh dẫn đã được nâng lên trên sàn ngăn kéo và các cạnh.
Khi được nạp đúng cách, hộp dung dịch đệm được đặt bằng phẳng và ngăn kéo có thể đóng lại.

Hình 10 Nạp hộp dung dịch đệm



4. Nếu cả hai chai thuốc thử đã sử dụng đã được đổ sạch, hãy chọn hộp kiểm xác nhận rằng cả hai chai thuốc thử đã sử dụng đều trống.

LƯU Ý Việc không đổ hết các chai thuốc thử đã sử dụng có thể dẫn đến quá trình chạy bị kết thúc và chảy tràn, làm hỏng thiết bị và gây nguy cơ về an toàn.

5. Khi vật tư tiêu hao đã được thêm vào, chọn **Run Selection** (Chọn lần chạy) để tiếp tục.

Chọn và bắt đầu lần chạy

Thiết bị quét ID ống thư viện và tìm kiếm lần chạy đã lập kế hoạch phù hợp.

1. Nếu một lần chạy đã lập kế hoạch khớp với ID ống thư viện được tìm thấy cho mỗi bên đang được sử dụng, lựa chọn lần chạy sẽ bị bỏ qua. Chọn **Review** (Xem lại) để tiếp tục.
2. Nếu không có lần chạy phù hợp cho một hoặc một trong hai bên, chọn **Run Selection** (Lựa chọn lần chạy), và sau đó chọn một hoặc nhiều lần chạy đã lập kế hoạch.
Không thể chọn cùng một lần chạy đã lập kế hoạch ở cả hai bên.
3. Khi một hoặc nhiều lần chạy được chọn, chọn **Pre-Run Checks** (Kiểm tra trước khi chạy).
4. Chờ khoảng 5 phút để quá trình kiểm tra trước khi chạy hoàn tất.
Lần chạy tự động bắt đầu sau khi quá trình này hoàn tất thành công.

LƯU Ý Để tránh làm quá tải ổ cứng, không sao chép bất kỳ dữ liệu nào sang C:\ sau khi lần chạy bắt đầu.

Lỗi khi kiểm tra trước lần chạy

1. Nếu kiểm tra trước khi chạy không thành công do lỗi cảm biến, chẳng hạn như không phát hiện được tế bào dòng chảy, bạn phải thoát và khởi động lại quy trình làm việc.
2. Đối với các lỗi kiểm tra trước khi chạy khác, chọn **Retry** (Thử lại) để khởi động lại lần kiểm tra đã thất bại hoặc **Retry All** (Thử lại tất cả) để khởi động lại tất cả các kiểm tra. Các lỗi yêu cầu giải quyết trước khi lần chạy có thể bắt đầu.
3. Chọn biểu tượng **Error** (Lỗi) để xem chi tiết lỗi.
4. Nếu kiểm tra căn chỉnh không thành công, hãy giải quyết lỗi như sau.
 - a. Chọn **Reload** (Nạp lại), sau đó chọn **OK** để trở về màn hình Load (Nạp).
 - b. Loại bỏ hết mọi vật khỏi đầu thiết bị, sau đó chọn **OK**. Cửa tế bào dòng chảy mở ra.
 - c. Nạp lại tế bào dòng chảy, sau đó chọn **Run Setup** (Thiết lập lần chạy).
 - d. Tiến hành qua từng màn hình để đọc lại từng RFID và trở lại màn hình Pre-Run Checks (Kiểm tra trước khi chạy).
 - e. Tiến hành kiểm tra lại.

Giám sát tiến độ lần chạy

Các chi tiết sau đây được hiển thị trên màn hình Sequencing (Giải trình tự) trong khi quá trình chạy đang diễn ra. Màn hình Sequencing (Giải trình tự) được truy cập thông qua menu chính.

- **Trạng thái của các bước riêng lẻ của lần chạy**
- **Time to completion** (Thời gian đến khi hoàn thành)—Ngày và thời gian hoàn thành lần chạy (yyyy-mm-dd hh:mm).
- **Run progress** (Tiến trình chạy)—Bước hiện tại của lần chạy. Kích thước thanh tiến độ không tỷ lệ thuận với tốc độ chạy của từng bước.
- **Q-scores** (Điểm chất lượng)—Sự phân bố điểm chất lượng.
- **Intensity** (Cường độ)—Giá trị cường độ cụm của phân vị phần trăm thứ 90 cho mỗi ô. Màu biểu đồ biểu thị các kênh màu đỏ và xanh lá cây.
- **Clusters passing filter (%)** (Số cụm đi qua bộ lọc (%))—Tỷ lệ phần trăm cụm đi qua bộ lọc.
- **Projected Total Yield (GB)** (Tổng sản lượng dự kiến (GB))—Sản lượng dự kiến cho lần chạy tế bào dòng chảy. Nếu số liệu trên mỗi làn được chọn (H), các số được hiển thị là năng suất hiện tại trên mỗi làn và cập nhật trên mỗi chu kỳ trong suốt quá trình chạy.
- **Q30**—Phần trăm phát hiện base cho lần chạy có điểm chất lượng ≥ 30 .

Biểu tượng trạng thái

Biểu tượng trạng thái trên giao diện NVOS cho biết trạng thái lần chạy. Con số trên biểu tượng cho biết số lượng điều kiện của một trạng thái.

Khi trạng thái lần chạy thay đổi, biểu tượng sẽ nhấp nháy. Hãy chọn biểu tượng để xem nội dung mô tả về trạng thái. Chọn **Acknowledge** (Xác nhận) để xóa thông báo rồi chọn **Close** (Đóng) để đóng hộp thoại.

Biểu tượng trạng thái	Tên trạng thái	Mô tả
	Trạng thái ổn	Hệ thống hoạt động bình thường.
	Đang xử lý	Hệ thống đang xử lý.
	Cảnh báo	Đã xảy ra cảnh báo và cần chú ý. Cảnh báo không gây dừng chạy hay phải xử lý mới có thể tiếp tục.
	Lỗi	Đã xảy ra lỗi. Lỗi yêu cầu bạn phải xử lý rồi mới tiếp tục chạy.
	Thông tin	Một thông báo không quan trọng có sẵn.

Số liệu lần chạy

Phần mềm hiển thị các số liệu được tạo ra trong quá trình chạy. Số liệu hiển thị dưới dạng biểu đồ, đồ thị và bảng dựa trên dữ liệu được tạo bởi RTA3 và ghi vào tệp InterOp.

Quá trình phân cụm mất khoảng 2 giờ, sau đó giải trình tự bắt đầu với chu kỳ 1. Số liệu được cập nhật trong quá trình giải trình tự. Các cụm đi qua bộ lọc, năng suất và điểm chất lượng có sau chu kỳ 26. Trước chu kỳ 26, không có giá trị nào được điền và được chỉ định là không áp dụng.

Sau khi giải trình tự

Các mục sau đây cung cấp hướng dẫn về các bước xảy ra sau khi hoàn thành giải trình tự.

Quy trình rửa tự động sau lần chạy

Khi hoàn thành giải trình tự, phần mềm sẽ bắt đầu rửa tự động sau khi chạy, mất khoảng 80 phút. Hệ thống bơm natri hypoclorit (NaOCl) 0,24% từ vị trí số 17 và pha loãng đến 0,12%. NaOCl 0,12% được bơm đến các vị trí thuốc thử ExAmp và thư viện, qua tế bào dòng chảy, và sau đó đến các chai thuốc thử đã sử dụng. Bước rửa xả

mẫu ra khỏi hệ thống để ngăn ngừa nhiễm bẩn chéo.

Khi quá trình rửa hoàn tất, hệ thống được đặt ở trạng thái an toàn và nút Home (Trang chủ) trở nên hoạt động. Để vật tư tiêu hao tại chỗ cho đến lần chạy tiếp theo. Sau khi rửa, ống sipper vẫn ở trong các hộp SBS và cụm để ngăn không khí xâm nhập vào hệ thống. Các ống sipper trong hộp dung dịch đệm được nâng lên để có thể đổ sạch các chai thuốc thử đã sử dụng. Sau đó dung dịch đệm rửa được bơm qua tất cả các đường ống để loại bỏ NaOCl và thuốc thử khỏi hệ thống.

LƯU Ý Nếu xảy ra lỗi trong quá trình rửa tự động sau khi chạy và quá trình rửa sau khi chạy không hoàn thành, cần phải rửa bảo trì.

Tách vị trí #30

Ngăn chứa ở vị trí #30 của hộp đựng cụm có chứa formamide. Nó được lấy ra khỏi hộp đựng cụm đã sử dụng và được thải bỏ riêng.



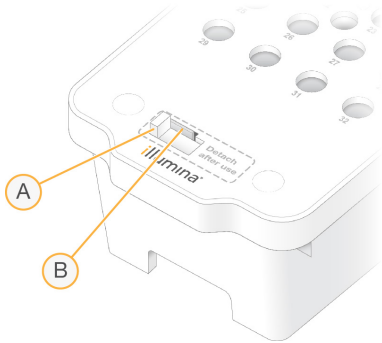
THẬN TRỌNG

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy tham khảo SDS tại support.illumina.com/sds.html.

1. Trong khi đeo găng tay, đẩy miếng nhựa màu trắng có nhãn **Detach after use** (Tách ra sau khi sử dụng) sang phải.
2. Đặt một bàn tay hoặc bề mặt rắn bên dưới ngăn chứa và nhấn mấu cầm bằng nhựa trong về phía nhãn Illumina để nhả ngăn chứa ra khỏi hộp đựng cụm.

LƯU Ý Tránh xếp chồng các hộp đựng cụm khi bảo quản. Việc xếp chồng có thể vô tình làm tách ngăn chứa.

Hình 11 Vị trí có thể tháo rời #30



- A. Mấu cầm bằng nhựa màu trắng để tách ra
- B. Mấu cầm bằng nhựa trong để nhả

3. Thải bỏ ngăn chứa theo tiêu chuẩn hiện hành.

Đầu ra giải trình tự

Trong quá trình giải trình tự, dữ liệu được tự động chuyển từ Thiết bị NovaSeq 6000Dx đến Máy chủ Illumina DRAGEN. Khi kết thúc phân tích chính và hoàn thành chuyển dữ liệu, phân tích phụ trên Máy chủ Illumina DRAGEN có thể bắt đầu tự động bằng cách sử dụng các tùy chọn phân tích được xác định bởi ứng dụng được chọn trong Illumina Run Manager. Các kết quả được tạo ra phụ thuộc vào các tùy chọn được chọn trong quá trình thiết lập lần chạy. Để xem kết quả từ một lần chạy, chọn tên lần chạy mong muốn trong tab Completed (Đã hoàn thành) trên màn hình Runs (Các lần chạy). Bạn cũng có thể tìm thấy các tệp đầu ra ở vị trí được chỉ định trên màn hình Instrument Settings (Cài đặt thiết bị).

Real-Time Analysis

Thiết bị NovaSeq 6000Dx chạy RTA3, là một lần triển khai phần mềm Real-Time Analysis, trên Compute Engine (CE) của thiết bị. RTA3 trích xuất cường độ từ các hình ảnh nhận được từ máy ảnh, thực hiện phát hiện base, gán điểm chất lượng cho phát hiện base, so khớp với PhiX, và báo cáo dữ liệu trong các tệp InterOp.

Để tối ưu hóa thời gian xử lý, RTA3 lưu trữ thông tin trong bộ nhớ. Nếu RTA3 bị ngừng lại, quá trình xử lý sẽ không tiếp tục và bất kỳ dữ liệu nào của lần chạy đang được xử lý trong bộ nhớ sẽ bị mất.

Đầu vào RTA3

RTA3 phải có hình ảnh ô được chứa trong bộ nhớ hệ thống để xử lý. RTA3 nhận thông tin lần chạy và lệnh từ NVOS.

Đầu ra RTA3

Hình ảnh cho mỗi kênh màu được chuyển trong bộ nhớ tới RTA3 dưới dạng các ô. Từ những hình ảnh này, RTA3 sẽ xuất ra một tập hợp các tệp phát hiện base và các tệp bộ lọc có điểm chất lượng. Tất cả các đầu ra khác đều là tệp đầu ra hỗ trợ.

Loại tệp	Mô tả
Tệp phát hiện base	Mỗi ô được phân tích sẽ được đưa vào một tệp phát hiện base liên kết (*.cbcl). Ô từ cùng một làn và bề mặt được tổng hợp thành một tệp CBCL cho mỗi làn và bề mặt.
Tệp bộ lọc	Mỗi ô tạo ra một tệp bộ lọc (*.filter) chỉ định xem cụm có đi qua các bộ lọc hay không.

RTA3 cung cấp các số liệu thời gian thực về chất lượng lần chạy được lưu trữ dưới dạng các tệp InterOp, là một đầu ra nhị phân có chứa số liệu ở cấp độ đoạn đọc, ô và chu kỳ.

Xử lý lỗi

RTA3 tạo các tệp nhật ký và ghi vào thư mục Logs. Lỗi được ghi lại trong tệp văn bản ở định dạng tệp *.log.

Các tệp nhật ký sau được chuyển tới đích đầu ra cuối cùng ở cuối quá trình xử lý:

- `info_00000.log` tóm tắt các sự kiện quan trọng trong lần chạy.
- `error_00000.log` liệt kê các lỗi đã xảy ra trong lần chạy.
- `warning_00000.log` liệt kê các cảnh báo đã xảy ra trong lần chạy.

Ô trên tế bào dòng chảy

Ô là những vùng tạo ảnh nhỏ trên tế bào dòng chảy. Máy ảnh chụp một hình ảnh của mỗi dải, phần mềm chia thành các ô để RTA3 xử lý. Tổng số ô phụ thuộc vào số làn, dải và bề mặt được chụp ảnh trên tế bào dòng chảy.

- Tế bào dòng chảy S2 có tổng cộng 1.408 ô.
- Tế bào dòng chảy S4 có tổng cộng 3.744 ô.

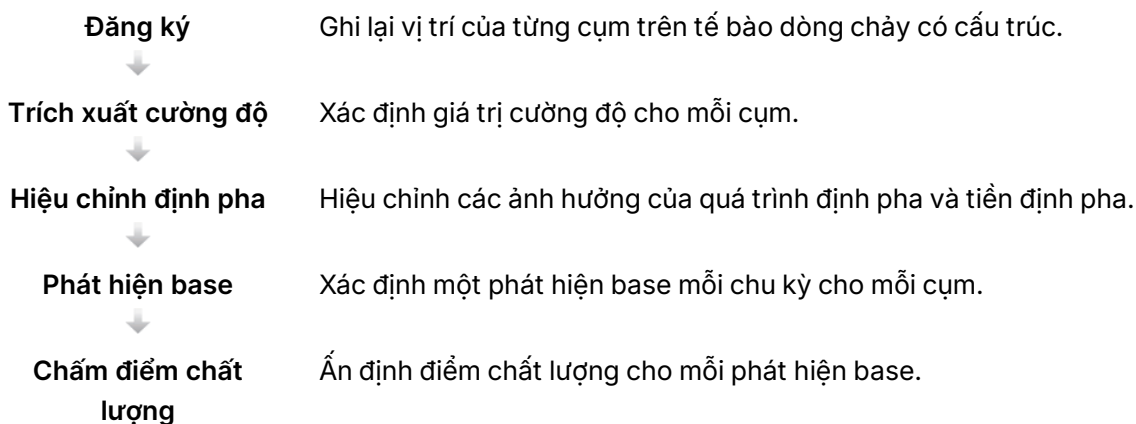
Thành phần của tế bào dòng chảy	S2	S4	Mô tả
Số làn	2	4	Làn là một kênh vật lý có cổng đầu ra và đầu vào.
Số bề mặt	2	2	Các tế bào dòng chảy S2 và S4 được chụp ảnh trên hai bề mặt: trên cùng và dưới cùng. Bề mặt trên cùng của ô được chụp ảnh trước.

Thành phần của tế bào dòng chảy	S2	S4	Mô tả
Số dài ở mỗi làn	4	6	Một dài là một cột trong làn tế bào dòng chảy mà máy ảnh chụp dưới dạng một hình ảnh được quét.
Số ô ở mỗi dài	88	78	Ô là một phần của dài và mô tả một vùng được chụp ảnh trên tế bào dòng chảy.
Tổng số ô được tạo	1.408	3.744	Số làn × số bề mặt × số dài × số ô ở mỗi dài bằng tổng số ô.

Tên ô là một số có năm chữ số đại diện cho vị trí của ô trên tế bào dòng chảy. Ví dụ: tên ô là 1_1205 cho biết làn 1, bề mặt trên cùng, dài 2, ô 5.

- Chữ số đầu tiên là số làn:
 - 1 hoặc 2 cho tế bào dòng chảy S2.
 - 1, 2, 3, hoặc 4 cho tế bào dòng chảy S4.
- Chữ số thứ hai đại diện cho bề mặt: 1 cho trên cùng hoặc 2 cho dưới cùng.
- Chữ số thứ ba đại diện cho số dài:
 - 1, 2, 3, hoặc 4 cho tế bào dòng chảy S2.
 - 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 cho tế bào dòng chảy S4.
- Hai chữ số cuối cùng đại diện cho số ô. Việc đánh số bắt đầu từ 01 ở đầu ra của tế bào dòng chảy đến 88 hoặc 78 ở đầu vào.
 - 01 đến 88 cho tế bào dòng chảy S2.
 - 01 đến 78 cho tế bào dòng chảy S4.

Quy trình công việc của Real-Time Analysis



Đăng ký

Việc đăng ký sẽ so khớp hình ảnh với mảng hình vuông xoay gồm các giếng nano trên tế bào dòng chảy có cấu trúc. Do sự sắp xếp theo thứ tự của các giếng nano, tọa độ X và Y cho mỗi cụm trong một ô được xác định trước. Vị trí cụm được ghi vào tệp vị trí cụm (s.locs) cho mỗi lần chạy.

Nếu bất kỳ hình ảnh nào trong một chu kỳ không được đăng ký thành công thì không có phát hiện base nào được tạo cho ô đó trong chu kỳ đó.

Trích xuất cường độ

Sau bước đăng ký, bước trích xuất cường độ tính toán giá trị cường độ cho mỗi giếng nano trong một hình ảnh nhất định. Nếu bước đăng ký không thành công, thì không thể trích xuất cường độ cho ô đó.

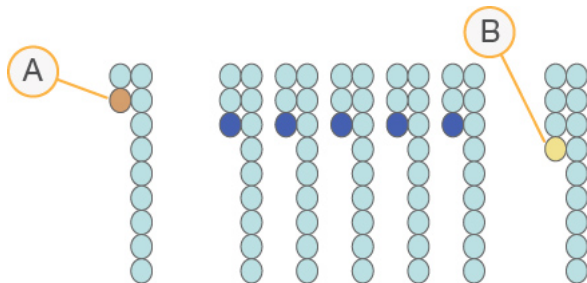
Hiệu chỉnh định pha

Trong phản ứng giải trình tự, mỗi sợi DNA trong một cụm kéo dài thêm một base trong mỗi chu kỳ. Định pha và tiền định pha xảy ra khi một sợi trở nên không hợp pha với chu kỳ kết hợp hiện tại.

Định pha xảy ra khi một kết hợp base rơi lại phía sau.

Tiền định pha xảy ra khi một kết hợp base nhảy lên phía trước.

Hình 12 Định pha và tiền định pha



- A. Đoạn đọc có base định pha
- B. Đoạn đọc có base tiền định pha.

RTA3 hiệu chỉnh các ảnh hưởng của định pha và tiền định pha, tối đa hóa chất lượng dữ liệu ở mỗi chu kỳ trong lần chạy.

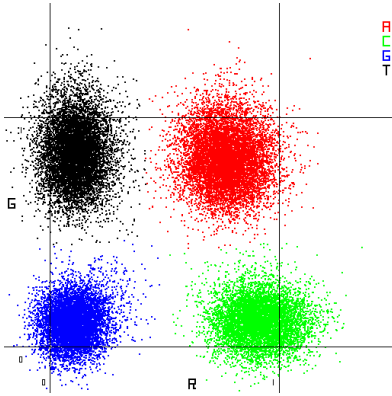
Phát hiện base

Quá trình phát hiện base sẽ xác định một base (A, C, G hoặc T) cho mỗi cụm của một ô nhất định ở một chu kỳ cụ thể. Thiết bị NovaSeq 6000Dx sử dụng phương pháp giải trình tự hai kênh. Phương pháp này cần hai hình ảnh để mã hóa dữ liệu cho bốn baseDNA, một hình ảnh từ kênh xanh lục và một từ kênh xanh lam.

Trường hợp không có phát hiện được xác định là N. Trường hợp không có phát hiện xảy ra khi cụm không đi qua bộ lọc, đăng ký không thành công hoặc cụm bị dịch chuyển khỏi hình ảnh.

Cường độ cho mỗi cụm được trích xuất từ các hình ảnh đỏ và xanh lục và được so sánh với nhau, dẫn đến bốn quần thể khác biệt. Mỗi quần thể tương ứng với một base. Quá trình phát hiện base xác định mỗi cụm thuộc về quần thể nào.

Hình 13 Trực quan hóa cường độ của cụm



Bảng 8 Phát hiện base trong giải trình tự hai kênh

Base	Kênh đỏ	Kênh xanh lục	Kết quả
A	1 (bật)	1 (bật)	Các cụm thể hiện cường độ ở cả kênh đỏ và xanh lục.
C	1 (bật)	0 (tắt)	Các cụm chỉ thể hiện cường độ ở kênh đỏ.
G	0 (tắt)	0 (tắt)	Các cụm không thể hiện cường độ nào tại vị trí cụm đã xác định.
T	0 (tắt)	1 (bật)	Các cụm chỉ thể hiện cường độ ở kênh xanh lục.

Các cụm đi qua bộ lọc

Trong lần chạy, RTA3 lọc dữ liệu thô để xóa các đoạn đọc không đáp ứng được ngưỡng chất lượng dữ liệu. Các cụm chổng chéo và chất lượng thấp sẽ được loại bỏ.

Đối với phân tích 2 kênh, RTA3 sẽ sử dụng một hệ thống dựa trên quần thể để xác định độ tinh khiết (đo lường độ tinh sạch theo cường độ) của một phát hiện base. Các cụm đi qua bộ lọc (PF) khi không có quá một phát hiện base trong 25 chu kỳ đầu có độ tinh khiết dưới ngưỡng cố định. Khi được đưa vào, so khớp PhiX được thực hiện ở chu kỳ 26 trên một tập con của các ô đối với các cụm đi qua bộ lọc. Các cụm không đi qua bộ lọc không được phát hiện base và không được so khớp.

Điểm chất lượng

Điểm chất lượng (điểm Q) là giá trị dự đoán về xác suất của một phát hiện base không chính xác. Điểm Q cao hơn đồng nghĩa với một phát hiện base có chất lượng cao hơn và khả năng chính xác cao hơn. Sau khi điểm Q được xác định, kết quả được ghi lại trong các tệp CBCL.

Điểm Q truyền đạt ngắn gọn các xác suất lỗi nhỏ. Điểm chất lượng được biểu thị dưới dạng Q(X), trong đó X là số điểm. Bảng dưới đây cho thấy mối quan hệ giữa điểm chất lượng và xác suất lỗi.

Điểm Q Q(X)	Xác suất lỗi
Q40	0,0001 (1 trên 10.000)
Q30	0,001 (1 trên 1.000)
Q20	0,01 (1 trên 100)
Q10	0,1 (1 trên 10)

Chấm điểm chất lượng và báo cáo

Chấm điểm chất lượng tính toán một bộ dự báo cho mỗi phát hiện base, rồi sử dụng các giá trị dự báo để tìm kiếm điểm Q trong một bảng chất lượng. Bảng chất lượng được tạo ra để cung cấp các dự đoán chất lượng chính xác tối ưu cho các lần chạy được tạo ra bởi một cấu hình cụ thể của nền tảng giải trình tự và phiên bản quy trình hóa học.

Chấm điểm chất lượng dựa trên một phiên bản sửa đổi của thuật toán Phred.

Để tạo bảng chất lượng cho Thiết bị NovaSeq 6000Dx, ba nhóm phát hiện base đã được xác định, dựa trên việc phân cụm các tính năng dự đoán cụ thể này. Sau khi nhóm các phát hiện base, tỷ lệ lỗi trung bình được tính toán theo kinh nghiệm cho từng nhóm trong số ba nhóm và điểm chất lượng tương ứng được ghi lại trong bảng chất lượng cùng với các tính năng dự đoán tương quan với nhóm đó. Do đó, chỉ có ba điểm chất lượng được áp dụng với RTA3 và những điểm chất lượng này đại diện cho tỷ lệ lỗi trung bình của nhóm. Nhìn chung, điều này giúp cho việc chấm điểm chất lượng trở nên dễ dàng hơn nhưng có độ chính xác cao hơn. Ba nhóm trong bảng chất lượng tương ứng với các phát hiện base cận biên (< Q15), trung bình (~Q20) và chất lượng cao (> Q30) và được ấn định các điểm số cụ thể lần lượt là 12, 26 và 34. Ngoài ra, điểm rỗng là 2 được ấn định cho trường hợp không có phát hiện nào. Mô hình báo cáo điểm chất lượng này giúp giảm yêu cầu về không gian lưu trữ và băng thông mà không ảnh hưởng đến độ chính xác hoặc hiệu suất.

Hình 14 Chấm điểm chất lượng dễ dàng hơn với RTA3



Tập đầu ra giải trình tự

Loại tập	Mô tả, vị trí và tên tập
Tập phát hiện base	Mỗi cụm được phân tích sẽ có trong một tập phát hiện base, được tổng hợp thành một tập cho mỗi chu kỳ, làn và bề mặt. Tập tổng hợp chứa phát hiện base và điểm chất lượng được mã hóa cho mỗi cụm. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, ví dụ như L001_1.cbcl
Tập vị trí cụm	Đối với mỗi tế bào dòng chảy, một tập vị trí cụm nhị phân có chứa các tọa độ XY cho các cụm trong một ô. Bố cục hình lục giác khớp với cách bố trí giếng nano của tế bào dòng chảy xác định trước tọa độ. Data\Intensities s_[lane].locs
Tập bộ lọc	Tập bộ lọc chỉ định xem một cụm có đi qua bộ lọc hay không. Các tập bộ lọc được tạo ở chu kỳ 26 bằng 25 chu kỳ dữ liệu. Đối với mỗi ô, hệ thống sẽ tạo một tập bộ lọc. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter
Tập thông tin lần chạy	Liệt kê tên lần chạy, số chu kỳ trong mỗi đoạn đọc, đoạn đọc có phải là Đoạn đọc chỉ thị hay không và số lượng các dải và ô trên Flow Cell. Tập thông tin lần chạy được tạo ở đầu lần chạy. [Root folder],RunInfo.xml

Loại tệp	Mô tả, vị trí và tên tệp
Các tệp hình thu nhỏ	Hình ảnh thu nhỏ cho chu kỳ đầu tiên của mỗi đoạn đọc giải trình tự. Thumbnail_Images\L001\C[X.1]—Các tệp được lưu trữ trong một thư mục con cho mỗi chu kỳ. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg—Hình thu nhỏ chứa số ô.

Cấu trúc thư mục đầu ra giải trình tự

NVOS tự động tạo tên thư mục đầu ra.

 **Config** (Cấu hình)—Cài đặt cấu hình cho lần chạy.

 **Logs** (Nhật ký)—Tệp nhật ký mô tả các bước hoạt động, kết quả phân tích từ thiết bị và các sự kiện RTA3.

 SampleSheet.csv—Bảng thông tin mẫu hoặc tệp đính kèm khác, nếu có.

 **Data**

 **Intensities**

 **BaseCalls**

 **L00[X]**—Các tệp phát hiện base (*.cbcl) được tổng hợp thành một tệp cho mỗi làn, bề mặt và chu kỳ.

 s.locs—Tệp vị trí cụm cho lần chạy.

 **InterOp**: Tệp nhị phân.

 **Recipe** (Công thức)—Tệp công thức cụ thể theo lần chạy.

 **Thumbnail Images** (Hình ảnh thu nhỏ)—Hình ảnh thu nhỏ cho mỗi ô thứ 10.

 **LIMS**—Tệp thiết lập chạy (*.json), nếu có.

 **Audit** (Kiểm tra)

 AuditInfo.xml

 RTA3.cfg

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

 RTAComplete.txt

 CopyComplete.txt

 SequenceComplete.txt

 IlluminaRunManagerCopyComplete.txt

 Manifest.tsv

Cảnh báo và biện pháp phòng ngừa



THẬN TRỌNG

Luật liên bang chỉ cho phép thiết bị này được bán bởi hoặc theo yêu cầu của bác sĩ hoặc bác sĩ hành nghề khác được cấp phép theo luật của Tiểu bang nơi họ hành nghề, sử dụng hoặc yêu cầu sử dụng thiết bị.

- Một số thành phần của thuốc thử do Illumina cung cấp để sử dụng với Thiết bị NovaSeq 6000Dx có chứa các hóa chất có thể gây nguy hiểm. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy tham khảo Bảng dữ liệu an toàn (SDS) tại địa chỉ support.illumina.com/sds.html.
- Việc không tuân thủ các quy trình đã nêu có thể dẫn đến kết quả sai hoặc chất lượng mẫu giảm sút đáng kể.
- Sử dụng các biện pháp phòng ngừa thường quy của phòng thí nghiệm. Không dùng pipet bằng miệng. Không ăn uống hoặc hút thuốc trong khu vực làm việc được chỉ định. Đeo găng tay và mặc áo khoác phòng thí nghiệm dùng một lần khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử trong bộ kit. Rửa tay kỹ càng sau khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử trong bộ kit.
- Yêu cầu áp dụng phương pháp thực hành trong phòng thí nghiệm thích hợp và vệ sinh trong phòng thí nghiệm sạch sẽ để ngăn chặn các sản phẩm phản ứng chuỗi polymerase (PCR) làm nhiễm bẩn thuốc thử, thiết bị đo và mẫu ADN hệ gen. Tình trạng nhiễm bẩn PCR có thể khiến cho kết quả không chính xác và không đáng tin cậy.
- Để tránh tình trạng nhiễm bẩn, hãy đảm bảo rằng khu vực tiền khuếch đại và hậu khuếch đại có thiết bị và vật tư tiêu hao chuyên dụng (ví dụ: pipet, đầu pipet, khối ủ nhiệt, máy trộn mẫu và máy ly tâm).
- Việc ghép cặp mẫu với chỉ thị yêu cầu so khớp chính xác cách bố trí khay chỉ thị. Ứng dụng DNA Prep with Enrichment sẽ tự động điền các mẫu chỉ thị đi kèm với tên mẫu, khi được nhập trong quá trình thiết lập lần chạy. Người dùng nên xác minh mỗi chỉ thị liên kết với mẫu trước khi bắt đầu chạy giải trình tự. Mẫu không khớp với cách bố trí khay sẽ dẫn đến việc mất khả năng nhận dạng mẫu dương tính và báo cáo kết quả không chính xác.
- Đặc biệt, người dùng nên tự cài đặt phần mềm chống vi-rút để bảo vệ máy tính khỏi vi-rút.
- Không vận hành NovaSeq 6000Dx khi đã tháo bất kỳ tấm vỏ nào. Việc vận hành thiết bị khi đã tháo bất kỳ tấm vỏ nào đều dẫn đến nguy cơ tiếp xúc với điện áp đường dây và điện áp DC.
- Không chạm vào bề mặt bảo dòng chảy trong khoang chứa tế bào dòng chảy. Máy sưởi trong khoang chứa này vận hành trong khoảng từ 22°C đến 95°C và có thể gây bỏng.
- Thiết bị nặng khoảng 1.059 lb và có thể gây thương tích nghiêm trọng nếu bị rơi hoặc thao tác sai cách.

Đặc điểm hiệu suất

Các đặc điểm hiệu suất cho thiết bị NovaSeq 6000Dx được thiết lập bằng cách sử dụng Illumina DNA Prep with Enrichment Dx để chuẩn bị thư viện, Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) và Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) để giải trình tự, và Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx cho phân tích phụ bao gồm phát hiện biến thể dòng mầm và soma. Các nghiên cứu bao gồm Lập chỉ thị mẫu, Tồn đọng mẫu, Đầu vào DNA, Độ nhạy phân tích (Giới hạn mẫu trắng/Giới hạn phát hiện), Độ chính xác, Độ chụm, So sánh phương pháp và Khả năng tái lập. Xem *Tờ hướng dẫn sử dụng Illumina DNA Prep with Enrichment Dx* để biết các đặc điểm hiệu suất liên quan đến các yếu tố trước khi phân tích, chẳng hạn như phương pháp tách chiết hoặc các chất can thiệp.

Định nghĩa các phép tính được sử dụng trong đặc điểm hiệu suất

- Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương (PPA) được tính bằng tỷ lệ các lô-cut được phân loại là biến thể theo một phương pháp tham chiếu và được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm.
 - $$\frac{(\text{số lô-cut biến thể được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm})}{(\text{tổng số lô-cut biến thể})}$$
Các lô-cut biến thể được báo cáo thông qua xét nghiệm và phù hợp với phương pháp tham chiếu là dương tính thật (TP). Các lô-cut biến thể được báo cáo là phát hiện tham chiếu hoặc phát hiện biến thể khác nhau thông qua xét nghiệm là âm tính giả (FN).
- Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp âm (NPA) được tính bằng tỷ lệ các lô-cut được phân loại là thể đại theo một phương pháp tham chiếu và được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm.
 - $$\frac{(\text{số lô-cut thể đại được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm})}{(\text{tổng số lô-cut thể đại})}$$
Các lô-cut thể đại được báo cáo thông qua xét nghiệm và phù hợp với phương pháp tham chiếu là âm tính thật (TN). Các lô-cut thể đại được báo cáo là biến thể thông qua xét nghiệm là dương tính giả (FP).
- Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp tổng thể (OPA) được tính bằng tỷ lệ các lô-cut được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm so với một phương pháp tham chiếu.
 - $$\frac{((\text{số lô-cut biến thể được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm}) + (\text{số lô-cut thể đại được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm}))}{((\text{tổng số lô-cut biến thể}) + (\text{tổng số lô-cut thể đại}))}$$
- Các phép tính PPA, NPA và OPA không bao gồm trường hợp không phát hiện (các lô-cut biến thể hoặc tham chiếu không đáp ứng một hoặc nhiều bộ lọc chất lượng).
- Phần trăm phát hiện dương tính (PPC) là số quan sát với biến thể được phát hiện chia cho tổng số quan sát được xét nghiệm ngoại trừ bất kỳ quan sát không hợp lệ nào hoặc những lần được lọc ở độ sâu thấp.
- Phần trăm phát hiện âm tính (PNC) được tính bằng số quan sát có tham chiếu đạt làm kết quả ở một vị trí chia cho tổng số quan sát được xét nghiệm ngoại trừ bất kỳ quan sát không hợp lệ nào hoặc những lần được lọc ở độ sâu thấp.
- Phần trăm khả năng phát hiện nhiễm sắc thể thường được tính bằng phần trăm các vị trí tham chiếu không phải N ở các vùng đích trong nhiễm sắc thể thường với một phát hiện kiểu gen đạt.

Lập chỉ thị mẫu

Các môi chỉ thị mẫu, được thêm vào trong quá trình chuẩn bị thư viện, chỉ định một trình tự duy nhất cho mỗi ADN mẫu. Các trình tự duy nhất này cho phép nhiều mẫu được gộp lại với nhau trong một lần chạy giải trình tự duy nhất. Việc lập chỉ thị mẫu được sử dụng cho cả quy trình công việc dòng mầm và sinh dưỡng. Mục đích của nghiên cứu này là thiết lập số lượng mẫu tối thiểu (12) và tối đa (192) có thể được xử lý trong một lần chạy giải trình tự duy nhất trên Thiết bị NovaSeq 6000Dx. Mười hai mẫu DNA Platinum Genome duy nhất (NA12877–NA12888) đã được xét nghiệm với ít nhất 12 tổ hợp môi lập chỉ thị khác nhau trên mỗi mẫu. Các thư viện mẫu được điều chế bằng cách sử dụng một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 1.970.505 base trên tất cả 23 nhiễm sắc thể của người. Các kết quả mẫu từ bốn lần chạy giải trình tự sử dụng quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF dòng mầm của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx được so sánh với Platinum Genomes phiên bản 2016-1.0.

Đối với loạt chạy đầu tiên, 192 thư viện mẫu được lập chỉ thị duy nhất đã được giải trình tự trong hai lần chạy giải trình tự, mỗi lần với các thuốc thử S2 và S4, để xác minh cả số lượng chỉ thị tối đa được hỗ trợ và khả năng của xét nghiệm phát hiện nhất quán kiểu gen cho mẫu nhất định trên các tổ hợp môi lập chỉ thị khác nhau. Đối với loạt chạy thứ hai, 12 thư viện mẫu được lập chỉ thị duy nhất đã được giải trình tự trong hai lần chạy giải trình tự, mỗi một lần với các thuốc thử S2 và S4, để xác minh số lượng chỉ thị tối thiểu được hỗ trợ.

Đối với các lần chạy 192 chỉ thị, PPA đối với SNV dao động từ 99,7% đến 100%, PPA đối với các vùng chèn là 100%, PPA đối với các vùng xóa dao động từ 96,7% đến 100% và NPA là 100%. Đối với các lần chạy 12 chỉ thị, PPA đối với SNV dao động từ 99,7% đến 100%, PPA đối với các vùng chèn dao động từ 89,6% đến 100%, PPA đối với các vùng xóa dao động từ 94,6% đến 100% và NPA là 100%.

Tồn đọng mẫu

Thiết bị NovaSeq 6000Dx cho phép giải trình tự nhiều mẫu cùng với các mẫu chứng trong một lần chạy giải trình tự duy nhất. Một nghiên cứu đã được thực hiện để đánh giá mức độ tồn đọng mẫu trong một lần chạy giải trình tự (trong một lần chạy) và giữa các lần chạy giải trình tự (giữa các lần chạy). Mười hai mẫu Platinum Genome DNA, sáu nam và sáu nữ, đã được xét nghiệm thông qua một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều gen khác nhau bao gồm 1.970.505 base trên cả 23 nhiễm sắc thể của người, bao gồm cả hai nhiễm sắc thể giới tính. Các thư viện được giải trình tự trên Thiết bị NovaSeq 6000Dx sử dụng quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF dòng mầm của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Sự tồn đọng từ các mẫu nam sang các mẫu nữ đã quan sát được nhờ sự hiện diện của các đoạn đọc đích của nhiễm sắc thể Y trong các mẫu nữ.

Sự tồn đọng trong một lần chạy có thể xảy ra trong quá trình phân cụm, phát hiện base chu kỳ chỉ thị và tách đoạn mẫu. Để kiểm tra sự tồn đọng mẫu trong một lần chạy giải trình tự, một nhóm gộp thư viện bao gồm ít nhất mười hai mẫu lập của mỗi mẫu nam và nữ duy nhất cộng với hai mẫu đối chứng không có khuôn mẫu, tổng cộng 192 thư viện được lập chỉ mục duy nhất, đã được giải trình tự trên Thiết bị NovaSeq 6000Dx thành hai lần chạy giải trình tự, mỗi lần với các thuốc thử S2 và S4. Sự tồn đọng mẫu trong một lần chạy được đánh giá bằng cách so sánh phạm vi đích của nhiễm sắc thể Y ở mỗi mẫu lập nữ với phạm vi đích của nhiễm sắc thể Y trung bình ở tất cả các mẫu lập nam trong nhóm gộp. Phân vị phần trăm thứ 95 của mức tồn đọng trong một lần chạy quan sát được là 0,0090% và 0,041% lần lượt đối với các thuốc thử S2 và S4.

Để kiểm tra sự tồn đọng mẫu giữa các lần chạy, hai nhóm gộp thư viện được chuẩn bị và giải trình tự liên tiếp trên một Thiết bị NovaSeq 6000Dx, với bên A sử dụng thuốc thử S4 và bên B sử dụng thuốc thử S2. Nhóm gộp đầu tiên chứa ít nhất mười hai mẫu lặp của sáu mẫu thử nữ duy nhất cộng với hai mẫu đối chứng không có khuôn mẫu, để có tổng số 96 thư viện được lập chỉ mục duy nhất. Nhóm gộp thứ hai chứa ít nhất mười hai mẫu lặp của sáu mẫu thử nam duy nhất cộng với hai mẫu đối chứng không có khuôn mẫu, để có tổng số 96 thư viện được lập chỉ mục duy nhất. Cả hai nhóm gộp đều sử dụng cùng một bộ adapter chỉ thị. Nhóm gộp nữ được giải trình tự trước, rồi đến một lần chạy giải trình tự với nhóm gộp nam, sau đó là một lần chạy giải trình tự lặp lại khác đối với nhóm gộp nữ. Sự tồn đọng mẫu giữa các lần chạy được đánh giá theo loại thuốc thử, S2 và S4, bằng cách so sánh phạm vi đích của nhiễm sắc thể Y giữa các mẫu lặp tương ứng của lần chạy nhóm gộp nữ lặp lại và lần chạy nhóm gộp nam. Phân vị phần trăm thứ 95 của mức tồn đọng giữa các lần chạy quan sát được là 0,0089% và 0,012% lần lượt đối với các thuốc thử S2 và S4.

Đầu vào DNA

Máu (Dòng mầm)

Phạm vi đầu vào DNA máu cho Bộ kit Illumina DNA Prep with Enrichment Dx sử dụng Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx đã được thiết lập cho NovaSeq 6000Dx. Phạm vi này đã được đánh giá bằng cách thực hiện nghiên cứu pha loăng tuần tự sử dụng tám mẫu DNA Platinum Genome (NA12877 – NA12884) với một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều gen bao gồm 1.970.505 base trên tất cả 23 nhiễm sắc thể của người. Các thư viện được giải trình tự trên một Thiết bị NovaSeq 6000Dx bằng cách sử dụng một lô mỗi Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) và Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ).

Bảy mẫu được xét nghiệm lặp lại ở sáu mức đầu vào DNA khác nhau dao động từ 1.000 ng đến 10 ng (1.000 ng, 250 ng, 100 ng, 50 ng, 25 ng và 10 ng). Mẫu thứ tám (NA12884) được xét nghiệm trùng lặp một lần ở 10 ng và được xét nghiệm lặp lại cho tất cả các mức đầu vào khác. Để xác định độ chính xác, các kiểu gen mẫu đã được so sánh với Platinum Genome phiên bản 2016-1.0. Kết quả được xác định cho từng mức đầu vào. PPA cho mỗi loại biến thể (SNV, vùng chèn và vùng xóa) được trình bày trong [Kết quả PPA cho mỗi đầu vào DNA máu theo loại biến thể trên trang 33](#). NPA được trình bày trong [NPA cho mỗi đầu vào DNA máu trên trang 33](#). Tất cả các mức đầu vào đều có độ chính xác tương tự. Đầu vào DNA máu được khuyến nghị là 50–1.000 ng cho Illumina DNA Prep with Enrichment Dx với 1.000 ng và 10 ng cung cấp giới hạn trên và dưới để đáp ứng các đặc điểm hiệu suất khi được giải trình tự trên NovaSeq 6000Dx.

Bảng 9 Kết quả PPA cho mỗi đầu vào DNA máu theo loại biến thể

Đầu vào DNA (ng)	Loại biến thể	Biến thể theo dự kiến	TP	FN	Biến thể không có phát hiện	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
1.000			74112	73	7	99,9
10	Vùng chèn	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
1.000			2921	5	2	99,8
10	Vùng xóa	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
1.000			2195	2	43	99,9

Bảng 10 NPA cho mỗi đầu vào DNA máu

Đầu vào DNA (ng)	TN	FP	Tham chiếu không có phát hiện	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
1.000	122978527	324	471882	>99,9

FFPE (Sinh dưỡng)

Phạm vi đầu vào DNA nhúng parafin cố định formalin (FFPE) cho Bộ kit Illumina DNA Prep with Enrichment Dx sử dụng Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx được thiết lập cho NovaSeq 6000Dx. Phạm vi này đã được đánh giá bằng cách thực hiện nghiên cứu pha loãng tuần tự sử dụng hai mẫu Platinum Genome với một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều gen bao gồm 1.970.505 base trên tất cả 23 nhiễm sắc thể của người. Các thư viện được giải trình tự trên một Thiết bị NovaSeq 6000Dx bằng cách sử dụng một lô mỗi Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) và Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ).

DNA mẫu GM12877 được pha loãng với DNA mẫu GM12878 để tạo ra GM12877-13 với các biến thể dị hợp tử và đồng hợp tử GM12877 duy nhất ở các tần số lần lượt gần bằng 6,5% và 13%. GM12877 không pha loãng cũng đã được xét nghiệm. GM12877-13 đã được xét nghiệm lặp lại ở bốn mức đầu vào DNA dao động từ 1.000 ng đến 25 ng (1.000 ng, 250 ng, 50 ng và 25 ng). GM12877 được xét nghiệm trùng lặp một lần ở 250 ng và được xét nghiệm lặp lại cho tất cả các mức đầu vào khác. Để xác định độ chính xác, các kiểu biến thể mẫu đã được so sánh với Platinum Genome phiên bản 2016-1.0. Kết quả được xác định cho từng mức đầu vào. PPA cho mỗi loại biến thể (SNV, vùng chèn và vùng xóa) được trình bày trong [Kết quả PPA cho mỗi đầu vào DNA FFPE theo loại biến thể và VAF đích trên trang 34](#). NPA được trình bày trong [NPA cho mỗi đầu vào DNA FFPE trên trang 35](#). Tất cả các mức đầu vào đều có độ chính xác tương tự. Đối với các mẫu FFPE có giá trị $\Delta Cq \leq 5$, đầu vào DNA được khuyến nghị là 50–1.000 ng cho bộ kit Illumina DNA Prep with Enrichment Dx với 1.000 ng và 25 ng cung cấp giới hạn trên và dưới để đáp ứng các đặc điểm hiệu suất khi được giải trình tự trên NovaSeq 6000Dx.

Bảng 11 Kết quả PPA cho mỗi đầu vào DNA FFPE theo loại biến thể và VAF đích

VAF pha loãng mục tiêu											
0,065						0,13					
Đầu vào DNA (ng)	Loại biến thể	Biến thể theo dự kiến	TP	FN	Biến thể không có phát hiện	PPA (%)	Biến thể theo dự kiến	TP	FN	Biến thể không có phát hiện	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
1.000		3000	2921	8	71	99,7	624	624	0	0	100
25	Vùng chèn	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
1.000		96	96	0	0	100	48	48	0	0	100
25	Vùng xóa	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
1.000		88	88	0	0	100	32	32	0	0	100

Bảng 12 NPA cho mỗi đầu vào DNA FFPE

Đầu vào DNA (ng)	Thế đại dự kiến	TN	FP	Tham chiếu không có phát hiện	NPA (%)
25	25354119	25353706	413	5499498	>99,9
50	27538269	27538013	256	3315421	>99,9
250	21562303	21561983	320	1577958	>99,9
1.000	29030903	29030596	307	1822781	>99,9

Độ nhạy phân tích (Giới hạn mẫu trắng [LoB] và Giới hạn phát hiện [LoD])

Nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá Giới hạn mẫu trắng (LoB) và Giới hạn phát hiện (LoD) cho quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF soma của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx trên Thiết bị NovaSeq 6000Dx. Nghiên cứu được tiến hành bằng cách sử dụng một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 1.970.505 base trên tất cả 23 nhiễm sắc thể của người. Các dòng tế bào Platinum Genome GM12878 và GM12877 đã được cố định bằng formalin và nhúng parafin, sau đó ADN được tách chiết. Các dung dịch pha loãng của GM12877 trong GM12878 được chuẩn bị để tạo ra các mẫu chứa 0%, 4%, 6,5% và 13% GM12877 theo thể tích, sao cho tần suất biến thể của 489 biến thể GM12877 duy nhất (454 SNV, 17 vùng chèn và 18 vùng xóa) dao động từ 0 đến 0,13. Các thư viện mẫu được chuẩn bị bằng cách sử dụng hai lô thuốc thử Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit và được giải trình tự trong sáu ngày bắt đầu liên tiếp với hai Thiết bị NovaSeq 6000Dx và hai lô mỗi Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) và Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ), để có tổng số mười hai lần chạy giải trình tự. Điều này dẫn đến 288 quan sát cho mỗi biến thể trong mỗi dung dịch pha loãng mẫu. LoB và LoD được tính bằng phương pháp cổ điển nêu trong tài liệu EP17-A2 của CLSI. LoB và LoD được tính riêng cho các thuốc thử S2 và S4 bằng cách gộp tần suất biến thể của tất cả các biến thể trong lần chạy giải trình tự cho mỗi loại thuốc thử. Sai số Loại I được xác định là 0,01 và sai số Loại II được xác định là 0,05.

LoB được đánh giá độc lập cho 489 lô-cut trên hai lô giải trình tự cho mỗi loại thuốc thử (S2 hoặc S4) và chế phẩm thư viện. Đối với thuốc thử S2, LoB phân vị phần trăm thứ 95 là 2,9%. Đối với thuốc thử S4, LoB phân vị phần trăm thứ 95 là 2,2%.

LoD đã được tính toán thành công cho 478 trong số 489 biến thể cho S2 và 485 trong số 489 biến thể cho S4. Các biến thể trong đó không có LoD nào được xác định cho một hoặc cả hai chế phẩm thư viện được loại trừ khỏi LoD được gán cuối cùng cho hệ thống NovaSeq 6000Dx. LoD của hệ thống NovaSeq 6000Dx với các thuốc thử S2 và S4 được xác định bằng cách lấy phân vị phần trăm thứ 95 của các LoD biến thể riêng lẻ. Đối với các thuốc thử S2, phân vị phần trăm thứ 95 trên 478 LoD biến thể là 4,8%. Đối với thuốc thử S4, phân vị phần trăm thứ 95 trên 485 biến thể LoD là 3,9%.

Độ chính xác

Germline

Nghiên cứu sau đây đã được tiến hành để đánh giá độ chính xác phát hiện biến thể của quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF dòng mầm của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx trên Thiết bị NovaSeq 6000Dx sử dụng Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ). Bốn mẫu Platinum Genome DNA duy nhất được xét nghiệm bằng cách sử dụng một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 1.970.505 base (9.232 đích) trên tất cả 23 nhiễm sắc thể của người. Mỗi mẫu được xét nghiệm thành 12 mẫu lặp ngoại trừ NA12880, được xét nghiệm thành 11 mẫu lặp. Tổng cộng 18 lần chạy được thực hiện bằng ba thiết bị giải trình tự, ba lô thuốc thử S2 và hai người vận hành trong sáu ngày bắt đầu. Độ chính xác được xác định đối với các SNV, vùng chèn và vùng xóa bằng cách so sánh kết quả với Platinum Genomes phiên bản 2016-1.0.

Bảng 13 Tóm tắt về độ tương hợp dòng mầm

Tiêu chí	Tổng số lần quan sát ¹	Kết quả quan sát ²	Kết quả theo lần chạy ³
PPA đối với SNV	846	99,8	99,9
PPA cho vùng chèn	846	97,9	>99,9
PPA cho vùng xóa	846	96,9	99,9
NPA	846	>99,9	>99,9
OPA	846	>99,9	>99,9

¹Được tính bằng số mẫu mỗi lần chạy (47) x số lần chạy (18) = 846.

²Giá trị thấp nhất quan sát được theo mẫu lặp của mẫu trên tất cả 18 lần chạy.

³Giá trị thấp nhất khi dữ liệu từ mỗi lần chạy được phân tích tổng hợp.

Độ tương hợp dòng mầm trên mỗi mẫu trên trang 37 chứa dữ liệu nghiên cứu được trình bày với tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương và âm trên cơ sở mỗi mẫu, trong đó các kết quả biến thể được so sánh với Platinum Genomes phiên bản 2016-1.0 để tính PPA. Ba loại biến thể (SNV, vùng chèn và vùng xóa) được kết hợp. Vì phương pháp tham chiếu chỉ cung cấp kết quả cho các biến thể nucleotide đơn và vùng chèn/vùng xóa, kết quả base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người bản dựng hg19 để tính NPA.

Bảng 14 Độ tương hợp dòng mầm trên mỗi mẫu

Mẫu	Khả năng phát hiện nhiễm sắc thể thường	Biến thể dự kiến ¹	TP	FN	Biến thể không có phát hiện	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 Tổng số biến thể trong tất cả các mẫu lặp của mẫu trong 18 lần chạy.

[Độ tương hợp dòng mầm trên mỗi mẫu theo loại biến thể trên trang 37](#) chứa dữ liệu nghiên cứu được trình bày trên cơ sở mỗi mẫu, trong đó các kết quả biến thể được so sánh với phương pháp tham chiếu tổng hợp có đặc điểm rõ ràng. Khả năng phát hiện được đánh giá cho riêng từng loại biến thể—SNV, vùng chèn và vùng xóa. Loại trừ các vị trí tham chiếu.

Bảng 15 Độ tương hợp dòng mầm trên mỗi mẫu theo loại biến thể

Mẫu	SVN			Vùng chèn			Vùng xóa		
	Dự kiến	TP	FN	Dự kiến	TP	FN	Dự kiến	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

Các mẫu đã được phân tích thêm để phát hiện vùng chèn và vùng xóa nhỏ (indel). Tóm tắt tổng thể được trình bày trong [Tóm tắt về khả năng phát hiện indel dòng mầm trên trang 38](#). Có tổng cộng 210 indel có kích thước từ 1–18 bp đối với các vùng chèn và 1–21 bp đối với các vùng xóa.

Bảng 16 Tóm tắt về khả năng phát hiện indel dòng mầm

Loại biến thể	Biến thể theo dự kiến	TP	FN	Biến thể không có phát hiện	PPA
Vùng chèn	36954	36953	1	0	>99,9
Vùng xóa	29358	28986	16	356	99,9

Xét nghiệm đại diện bao gồm 9.232 đích được thiết kế để bao gồm nhiều hàm lượng gen khác nhau. Hàm lượng GC của các đích dao động từ 0,20-0,86. Đích cũng có một loạt các trình tự nucleotide đơn (ví dụ: PolyA, PolyT), dinucleotide và trinucleotide lặp lại. Dữ liệu được biên soạn trên cơ sở mỗi nhiễm sắc thể để xác định ảnh hưởng của hàm lượng hệ gen lên phần trăm phát hiện chính xác được trình bày trong [Độ chính xác ở cấp độ nhiễm sắc thể dòng mầm trên trang 38](#). Tỷ lệ phần trăm phát hiện chính xác bao gồm số lần phát hiện biến thể và phát hiện tham chiếu và thấp hơn 100% nếu có số lần phát hiện không chính xác hoặc không có phát hiện.

Bảng 17 Độ chính xác ở cấp độ nhiễm sắc thể dòng mầm

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr1	47	728	138328	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (14), Poly G (7), Dinucleotide (22), Trinucleotide (8), Vùng chèn (18), Vùng xóa (4)	[0,22 - 0,8]; Trung vị: 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), Dinucleotide (22), Trinucleotide (8), Vùng chèn (5), Vùng xóa (2)	[0,24 - 0,81]; Trung vị: 0,44	132293464	798	460345	>99,9	0,35

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr3	38	650	137627	Poly A (18), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (7), Dinucleotide (12), Trinucleotide (6), Vùng chèn (11), Vùng xóa (1)	[0,25 - 0,86]; Trung vị: 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), Dinucleotide (5), Trinucleotide (5), Vùng chèn (2), Vùng xóa (2)	[0,27 - 0,77]; Trung vị: 0,45	61872303	0	66741	100	0,11
chr5	25	507	90008	Poly A (10), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinucleotide (10), Trinucleotide (8), Vùng chèn (8), Vùng xóa (18)	[0,29 - 0,79]; Trung vị: 0,46	75314497	912	153061	>99,9	0,20
chr6	39	453	126721	Poly A (28), Poly C (7), Poly T (33), Poly G (7), Dinucleotide (18), Trinucleotide (11), Vùng chèn (4), Vùng xóa (2)	[0,24 - 0,79]; Trung vị: 0,48	103412695	1	182361	>99,9	0,18

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr7	21	450	161501	Poly A (27), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinucleotide (31), Trinucleotide (5), Vùng chèn (1), Vùng xóa (4)	[0,2 - 0,77]; Trung vị: 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), Dinucleotide (5), Trinucleotide (9), Vùng chèn (4), Vùng xóa (1)	[0,26 - 0,78]; Trung vị: 0,47	56247612	411	170925	>99,9	0,30
chr9	23	347	87100	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (27), Poly G (8), Dinucleotide (9), Trinucleotide (9), Vùng chèn (4), Vùng xóa (1)	[0,27 - 0,83]; Trung vị: 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), Dinucleotide (16), Trinucleotide (6), Vùng chèn (1), Vùng xóa (1)	[0,23 - 0,78]; Trung vị: 0,44	55539058	1	188216	>99,9	0,34

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr11	29	511	91786	Poly A (28), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinucleotide (26), Trinucleotide (7), Vùng chèn (2), Vùng xóa (2)	[0,28 - 0,8]; Trung vị: 0,47	75744222	742	259258	>99,9	0,34
chr12	29	577	120365	Poly A (19), Poly C (8), Poly T (40), Poly G (7), Dinucleotide (7), Trinucleotide (7), Vùng chèn (1), Vùng xóa (5)	[0,26 - 0,77]; Trung vị: 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), Dinucleotide (6), Trinucleotide (8), Vùng chèn (14), Vùng xóa (0)	[0,28 - 0,79]; Trung vị: 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), Dinucleotide (6), Trinucleotide (6), Vùng chèn (4), Vùng xóa (1)	[0,29 - 0,77]; Trung vị: 0,47	22286153	198	147895	>99,9	0,66

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr15	15	266	52091	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (6), Trinucleotide (8), Vùng chèn (4), Vùng xóa (6)	[0,29 - 0,76]; Trung vị: 0,46	43600279	0	99041	100	0,23
chr16	21	366	80030	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (7), Dinucleotide (5), Trinucleotide (10), Vùng chèn (15), Vùng xóa (21)	[0,3 - 0,76]; Trung vị: 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), Dinucleotide (13), Trinucleotide (6), Vùng chèn (18), Vùng xóa (16)	[0,28 - 0,82]; Trung vị: 0,49	97929929	417	335905	>99,9	0,34
chr18	9	99	19195	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Trinucleotide (10), Vùng chèn (4), Vùng xóa (0)	[0,22 - 0,78]; Trung vị: 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), Dinucleotide (5), Trinucleotide (7), Vùng chèn (2), Vùng xóa (21)	[0,33 - 0,83]; Trung vị: 0,59	85642066	3	678213	>99,9	0,79

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr20	12	179	33795	Poly A (6), Poly C (6), Poly T (7), Poly G (8), Trinucleotide (9), Vùng chèn (5), Vùng xóa (0)	[0,31 - 0,84]; Trung vị: 0,53	28108712	0	38374	100	0,14
chr21	5	63	30642	Poly A (28), Poly C (6), Poly T (24), Poly G (7), Dinucleotide (5), Vùng chèn (2), Vùng xóa (5)	[0,22 - 0,78]; Trung vị: 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), Dinucleotide (5), Trinucleotide (6), Vùng chèn (6), Vùng xóa (0)	[0,27 - 0,74]; Trung vị: 0,51	30258131	0	42673	100	0,14
chrX	23	433	83576	Poly A (18), Poly C (8), Poly T (23), Poly G (9), Dinucleotide (5), Trinucleotide (23), Vùng chèn (3), Vùng xóa (0)	[0,2 - 0,72]; Trung vị: 0,48	67318722	0	770544	100	1,13
chrY	0	40	5476	Poly A (11), Poly C (8), Poly T (11), Poly G (5), Vùng chèn (0), Vùng xóa (0)	[0,4 - 0,59]; Trung vị: 0,45	0	0	0	Không áp dụng	Không áp dụng

Kết quả giải trình tự cho mẫu NA12878 được so sánh với một kiểu gen có độ tin cậy cao đối với NA12878, do Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia (NIST) thiết lập (v.2.19). Trong số 9.232 đích, 8.009 đích nằm trọn trong các vùng hệ gen có độ tin cậy cao, 776 đích có sự chồng lấn một phần và 447 đích không có sự chồng lấn trong trình tự NIST. Điều này dẫn đến 1.831.483 tọa độ trên mỗi mẫu lặp để so sánh. Các phát hiện base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người (bản dựng hg19). Kết quả chính xác được thể hiện trong [Độ tương hợp dòng mầm của mẫu NA12878 với cơ sở dữ liệu NIST trên trang 44](#).

Bảng 18 Độ tương hợp dòng mầm của mẫu NA12878 với cơ sở dữ liệu NIST

Mẫu	Số đích được bao gồm	Khả năng phát hiện nhiễm sắc thể thường	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
NA12878	8785	99,4	247709	218	394262149	4584	>99,9	>99,9	>99,9

Dựa trên dữ liệu từ nghiên cứu Dòng mầm gồm 18 lần chạy này, Thiết bị NovaSeq 6000Dx có thể giải trình tự một cách nhất quán:

- Hàm lượng GC $\geq 20\%$ (tất cả các base được phát hiện ở 1.692 vùng đích được giải trình tự có hàm lượng GC 20% được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0%)
- Hàm lượng GC $\leq 86\%$ (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có hàm lượng GC 86% được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0%)
- Độ dài PolyA ≤ 46 (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 46 PolyA được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,27%)
- Độ dài PolyT ≤ 40 (13384074 trong số 13384321 base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 40 PolyT được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,26%)
- Độ dài PolyG ≤ 11 (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 11 PolyG được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0%)
- Độ dài PolyC ≤ 8 (9815030 trong số 9815035 base được phát hiện ở 5.922 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 8 PolyC được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,53%)
- Độ dài đoạn lặp lại dinucleotide $\leq 31x$ (32233922 trong số 32233926 base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 31 dinucleotide được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,21%)
- Độ dài đoạn lặp lại trinucleotide $\leq 23x$ (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 23 trinucleotide được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,21%)

- Độ dài vùng chèn ≤ 18 (tất cả các base được phát hiện ở 1.692 vùng đích được giải trình tự có 18 vùng chèn được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 7,71%)
- Độ dài vùng xóa ≤ 21 (tất cả các base được phát hiện ở 1.692 vùng đích được giải trình tự có 21 vùng xóa được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 1,14%)

Soma

Nghiên cứu được mô tả ở đây được sử dụng để đánh giá độ chính xác phát hiện biến thể của quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF soma của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx trên Thiết bị NovaSeq 6000Dx sử dụng Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ).

Nghiên cứu này sử dụng một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 1.970.505 base (9.232 đích) trên tất cả 23 nhiễm sắc thể của người. DNA Platinum Genome được tách chiết từ các khối đã được xử lý FFPE để tạo ra bốn mẫu duy nhất phục vụ mục đích đánh giá trong nghiên cứu.

DNA mẫu GM12877 được pha loãng với DNA mẫu GM12878 để tạo ra GM12877-13 với các biến thể dị hợp tử và đồng hợp tử GM12877 duy nhất ở các tần số lần lượt gần bằng 6,5% và 13%. DNA mẫu GM12878 được pha loãng tương tự với DNA mẫu GM12877 để tạo ra GM12878-13 với các biến thể dị hợp tử và đồng hợp tử GM12878 duy nhất ở các tần số lần lượt gần bằng 6,5% và 13%. GM12877 và GM12878 không pha loãng cũng được xét nghiệm. Mỗi mẫu được xét nghiệm thành 12 mẫu lặp ngoại trừ GM12878 không pha loãng, được xét nghiệm thành mười một mẫu lặp. Tổng cộng mười tám lần chạy được thực hiện bằng ba thiết bị giải trình tự, ba lô thuốc thử S4 và hai người vận hành trong sáu ngày bắt đầu. Độ chính xác được xác định đối với các SNV, vùng chèn và vùng xóa bằng cách so sánh kết quả với Platinum Genomes phiên bản 2016-1.0.

Bảng 19 Tóm tắt về độ tương hợp sinh dưỡng

Tiêu chí	Số lần quan sát ¹	Kết quả quan sát ²	Kết quả theo lần chạy ³
PPA cho SNV soma	846	99,8	98,9
PPA cho các vùng chèn soma	846	100	100
PPA cho các vùng xóa soma	846	100	100
NPA	846	>99,9	>99,9
OPA	846	>99,9	>99,9

¹ Được tính = Số lượng mẫu mỗi lần chạy (47) x Số lần chạy (18) = 846.

² Giá trị thấp nhất quan sát được theo mẫu lặp của mẫu trên tất cả 18 lần chạy.

³ Giá trị thấp nhất khi dữ liệu từ mỗi lần chạy được phân tích tổng hợp.

Độ tương hợp soma trên mẫu trên trang 46 bao gồm các dữ liệu nghiên cứu được trình bày với tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương và âm trên cơ sở mỗi mẫu, trong đó các kết quả biến thể được so sánh với phương pháp tham chiếu tổng hợp có đặc điểm rõ ràng để tính PPA. Ba loại biến thể (SNV, vùng chèn và vùng xóa) được kết hợp. Vì phương pháp tham chiếu chỉ cung cấp kết quả cho các biến thể nucleotide đơn và vùng chèn/vùng xóa, kết quả base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người bản dựng hg19 để tính NPA.

Bảng 20 Độ tương hợp soma trên mẫu

Mẫu	Khả năng phát hiện nhiễm sắc thể thường	Biến thể theo dự kiến	TP	FN	Biến thể không có phát hiện	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

Độ tương hợp soma trên mẫu theo loại biến thể trên trang 46 chứa dữ liệu nghiên cứu được trình bày trên cơ sở mỗi mẫu, trong đó các kết quả biến thể được so sánh với phương pháp tham chiếu tổng hợp có đặc điểm rõ ràng. Khả năng phát hiện được đánh giá cho riêng từng loại biến thể—SNV, vùng chèn và vùng xóa. Loại trừ các vị trí tham chiếu.

Bảng 21 Độ tương hợp soma trên mẫu theo loại biến thể

Mẫu	SNV			Vùng chèn			Vùng xóa		
	Dự kiến	TP	FN	Dự kiến	TP	FN	Dự kiến	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

Bốn mẫu đã được phân tích thêm để phát hiện vùng chèn và vùng xóa nhỏ (indel). Tóm tắt tổng thể được trình bày trong [Tóm tắt sự phát hiện indel soma trên trang 47](#). Có tổng cộng 210 indel có kích thước từ 1–18 bp đối với các vùng chèn và 1–21 bp đối với các vùng xóa.

Bảng 22 Tóm tắt sự phát hiện indel soma

Loại biến thể	Biến thể theo dự kiến	TP	FN	Biến thể không có phát hiện	PPA
Vùng chèn	11772	11772	0	0	100
Vùng xóa	10098	9666	0	432	100

Xét nghiệm đại diện bao gồm 9.232 đích được thiết kế để bao gồm nhiều hàm lượng gen khác nhau. Hàm lượng GC của các đích dao động từ 0,20–0,86. Đích cũng có một loạt các trình tự nucleotide đơn (ví dụ: PolyA, PolyT), dinucleotide và trinucleotide lặp lại. Dữ liệu được biên soạn trên cơ sở mỗi nhiễm sắc thể để xác định ảnh hưởng của hàm lượng hệ gen lên phần trăm phát hiện chính xác được trình bày trong [Độ chính xác ở cấp độ nhiễm sắc thể soma trên trang 47](#). Tỷ lệ phần trăm phát hiện chính xác bao gồm số lần phát hiện biến thể và phát hiện tham chiếu và thấp hơn 100% nếu có số lần phát hiện không chính xác hoặc không có phát hiện.

Bảng 23 Độ chính xác ở cấp độ nhiễm sắc thể soma

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr1	47	728	138328	Poly A (12), Poly C (7), Poly T (14), Poly G (7), Dinucleotide (22), Trinucleotide (8), Vùng chèn (3), Vùng xóa (0)	[0,22 - 0,8]; Trung vị: 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), Dinucleotide (22), Trinucleotide (8), Vùng chèn (5), Vùng xóa (1)	[0,24 - 0,81]; Trung vị: 0,44	126795713	842	5850393	>99,9	4,4

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr3	38	650	137627	Poly A (18), Poly C (6), Poly T (18), Poly G (7), Dinucleotide (12), Trinucleotide (6), Vùng chèn (1), Vùng xóa (1)	[0,25 - 0,86]; Trung vị: 0,45	109902527	593	4889226	>99,9	4,3
chr4	17	370	73766	Poly A (9), Poly C (7), Poly T (25), Poly G (6), Dinucleotide (5), Trinucleotide (5), Vùng chèn (0), Vùng xóa (1)	[0,27 - 0,77]; Trung vị: 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), Dinucleotide (10), Trinucleotide (8), Vùng chèn (8), Vùng xóa (18)	[0,29 - 0,79]; Trung vị: 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), Dinucleotide (18), Trinucleotide (11), Vùng chèn (0), Vùng xóa (1)	[0,24 - 0,79]; Trung vị: 0,48	98593101	687	4890221	>99,9	4,7

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr7	21	450	161501	Poly A (27), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinucleotide (31), Trinucleotide (5), Vùng chèn (1), Vùng xóa (4)	[0,2 - 0,77]; Trung vị: 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), Dinucleotide (5), Trinucleotide (9), Vùng chèn (4), Vùng xóa (0)	[0,26 - 0,78]; Trung vị: 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), Dinucleotide (9), Trinucleotide (9), Vùng chèn (0), Vùng xóa (1)	[0,27 - 0,83]; Trung vị: 0,49	69594586	74	3260257	>99,9	4,5
chr10	14	317	66723	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (6), Dinucleotide (16), Trinucleotide (6), Vùng chèn (0), Vùng xóa (0)	[0,23 - 0,78]; Trung vị: 0,44	53209592	90	2469444	>99,9	4,4

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr11	29	511	91786	Poly A (28), Poly C (8), Poly T (21), Poly G (7), Dinucleotide (26), Trinucleotide (7), Vùng chèn (2), Vùng xóa (2)	[0,28 - 0,8]; Trung vị: 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), Dinucleotide (7), Trinucleotide (7), Vùng chèn (0), Vùng xóa (3)	[0,26 - 0,77]; Trung vị: 0,49	96109352	101	4331932	>99,9	4,3
chr13	13	283	58639	Poly A (24), Poly C (6), Poly T (12), Poly G (7), Dinucleotide (6), Trinucleotide (8), Vùng chèn (14), Vùng xóa (0)	[0,28 - 0,79]; Trung vị: 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), Dinucleotide (6), Trinucleotide (6), Vùng chèn (4), Vùng xóa (0)	[0,29 - 0,77]; Trung vị: 0,47	21336891	0	1078329	100	4,8

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr15	15	266	52091	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (13), Poly G (6), Trinucleotide (8), Vùng chèn (4), Vùng xóa (0)	[0,29 - 0,76]; Trung vị: 0,46	41918631	184	1753300	>99,9	4,0
chr16	21	366	80030	Poly A (7), Poly C (7), Poly T (15), Poly G (7), Dinucleotide (5), Trinucleotide (10), Vùng chèn (15), Vùng xóa (21)	[0,3 - 0,76]; Trung vị: 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), Dinucleotide (13), Trinucleotide (6), Vùng chèn (18), Vùng xóa (1)	[0,28 - 0,82]; Trung vị: 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), Trinucleotide (10), Vùng chèn (0), Vùng xóa (0)	[0,22 - 0,78]; Trung vị: 0,44	15007653	6	990633	>99,9	6,2
chr19	30	605	104004	Poly A (19), Poly C (7), Poly T (31), Poly G (7), Dinucleotide (5), Trinucleotide (7), Vùng chèn (2), Vùng xóa (3)	[0,33 - 0,83]; Trung vị: 0,59	81416722	455	4860311	>99,9	5,6

Nhiễm sắc thể	Số gen	Số đích	Số base	Hàm lượng hệ gen	Phạm vi GC	Số lần phát hiện chính xác	Số lần phát hiện không chính xác	Không có phát hiện	% số lần phát hiện chính xác	% không có phát hiện
chr20	12	179	33795	Poly A (6), Poly C (6), Poly T (7), Poly G (8), Trinucleotide (9), Vùng chèn (5), Vùng xóa (0)	[0,31 - 0,84]; Trung vị: 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), Dinucleotide (5), Vùng chèn (1), Vùng xóa (0)	[0,22 - 0,78]; Trung vị: 0,52	24169250	44	1172087	>99,9	4,6
chr22	10	187	36727	Poly A (26), Poly C (7), Poly T (19), Poly G (7), Dinucleotide (5), Trinucleotide (6), Vùng chèn (6), Vùng xóa (0)	[0,27 - 0,74]; Trung vị: 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), Dinucleotide (5), Trinucleotide (23), Vùng chèn (3), Vùng xóa (0)	[0,2 - 0,72]; Trung vị: 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), Vùng chèn (0), Vùng xóa (0)	[0,4 - 0,59]; Trung vị: 0,45	0	0	0	Không áp dụng	Không áp dụng

Kết quả giải trình tự cho mẫu GM12878 đã được so sánh với kiểu gen có độ tin cậy cao đối với NA12878, do Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia (NIST) thiết lập (v.2.19). Trong số 9.232 đích, 8.009 đích nằm trọn trong các vùng hệ gen có độ tin cậy cao, 776 đích có sự chồng lấn một phần và 447 đích không có sự chồng lấn trong trình tự NIST. Điều này dẫn đến 1.831.483 tọa độ trên mỗi mẫu lặp để so sánh. Các phát hiện base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người (bản dựng hg19). Kết quả chính xác được thể hiện trong [Độ tương hợp soma của mẫu GM12878 với cơ sở dữ liệu NIST trên trang 53](#).

Bảng 24 Độ tương hợp soma của mẫu GM12878 với cơ sở dữ liệu NIST

Mẫu	Số đích được bao gồm	Khả năng phát hiện nhiễm sắc thể thường	TP	FN	TN	FP	PPA	NPA	OPA
GM12878	8785	94,5	247228	0	375073821	2043	100	>99,9	>99,9

Dựa trên dữ liệu từ nghiên cứu Soma gồm 18 lần chạy này, Thiết bị NovaSeq 6000DX có thể giải trình tự một cách nhất quán:

- Hàm lượng GC $\geq 20\%$ (tất cả các base được phát hiện ở 1.692 vùng đích được giải trình tự có hàm lượng GC 20% được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,34%)
- Hàm lượng GC $\leq 86\%$ (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có hàm lượng GC 86% được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 4,21%)
- Độ dài PolyA ≤ 46 (14550082 trong số 14550083 base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 46 PolyA được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 4,18%)
- Độ dài PolyT ≤ 40 (12833489 trong số 12833491 base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 40 PolyT được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 4,37%)
- Độ dài PolyG ≤ 11 (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 11 PolyG được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 7,59%)
- Độ dài PolyC ≤ 8 (9405604 trong số 9405615 base được phát hiện ở 5922 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 8 PolyC được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 4,68%)
- Độ dài đoạn lặp lại dinucleotide $\leq 31x$ (30996684 trong số 30996712 base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 31 dinucleotide được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 4,04%)
- Độ dài đoạn lặp lại trinucleotide $\leq 23x$ (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có đoạn lặp lại gồm 23 trinucleotide được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 5,39%)

- Độ dài vùng chèn ≤ 18 (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có 18 vùng chèn được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 1,44%)
- Độ dài vùng xóa ≤ 21 (tất cả các base được phát hiện ở 846 vùng đích được giải trình tự có 21 vùng xóa được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 7,86%)

Độ chụm

Độ chụm của Thiết bị NovaSeq 6000Dx được đánh giá bằng cách sử dụng các mẫu Platinum Genome với một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 1.970.505 base trên 23 nhiễm sắc thể khác nhau bằng 9.232 oligo đích. Tổng số 1.723 biến thể nhỏ được nhắm đích (các SNV, vùng chèn và vùng xóa) đã được đánh giá. Xét nghiệm dòng mầm bao gồm mười một hoặc mười hai mẫu lặp của bốn mẫu Platinum Genome duy nhất. Xét nghiệm soma bao gồm mười một hoặc mười hai mẫu lặp của bốn mẫu Platinum Genome được xử lý FFPE duy nhất ở các mức VAF khác nhau. Các thư viện mẫu được chuẩn bị bằng cách sử dụng các thuốc thử trong bộ kit Illumina DNA Prep with Enrichment Dx.

Xét nghiệm được thực hiện tại một địa điểm nội bộ bằng cách sử dụng ba Thiết bị NovaSeq 6000Dx, ba lô mỗi Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) và Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ), và hai người vận hành trong sáu ngày bắt đầu. Đối với mỗi ngày bắt đầu, các thư viện mẫu dòng mầm được giải trình tự ở một bên của thiết bị bằng thuốc thử S2, sử dụng quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF dòng mầm của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Còn các thư viện mẫu soma được giải trình tự ở bên kia của thiết bị bằng thuốc thử S4, sử dụng quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF soma của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Xét nghiệm này dẫn đến 18 tế bào dòng chảy cho mỗi quy trình công việc dòng mầm và soma.

Germline

Đối với các lần chạy dòng mầm, các vị trí hệ gen nơi phát hiện biến thể dòng mầm đích được báo cáo là dương tính (biến thể). Đối với các biến thể dòng mầm dương tính dự kiến, dữ liệu được đánh giá về tỷ lệ không có phát hiện và tỷ lệ phần trăm phát hiện dương tính ở mỗi loại biến thể (SNV, vùng chèn, vùng xóa). [Các lần quan sát phát hiện dòng mầm chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả dương tính dự kiến theo loại biến thể trên trang 55](#) tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với các mức độ tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson, cho mỗi loại biến thể.

Bảng 25 Các lần quan sát phát hiện dòng mầm chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả dương tính dự kiến theo loại biến thể

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số phát hiện dương tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PPC	LCL 95% ³	UCL 95%
SNV	6	980316	<0,01	979854	980310	99,95	99,95	99,96
Vùng chèn	0	36738	0	36738	36738	100	>99,99	100
Vùng xóa	18	34434	0,05	32160	34416	93,44	93,18	93,70

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).

² Phát hiện dương tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi phát hiện biến thể.

³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Các vị trí hệ gen nơi không phát hiện biến thể dòng mầm đích được báo cáo là âm tính (thể đại). Đối với các vị trí âm tính dự kiến, dữ liệu đã được đánh giá về tỷ lệ không có phát hiện và tỷ lệ phần trăm phát hiện âm tính (PNC). [Quan sát phát hiện dòng mầm chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả âm tính dự kiến trên trang 56](#) tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với các mức độ tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson.

Bảng 26 Quan sát phát hiện dòng mầm chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả âm tính dự kiến

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số lần phát hiện âm tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PNC	LCL 95% ³	UCL 95%
Thể đại	0	406170	0	406170	406170	100	>99,99	100

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).

² Phát hiện âm tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không phát hiện biến thể.

³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Sự đóng góp của mỗi thông số (thiết bị, lô thuốc thử, ngày, bản sao thư viện) vào độ biến thiên tổng thể được xác định bằng phân tích thành phần phương sai sử dụng tần suất biến thể làm biến đáp ứng. Độ lệch chuẩn tổng thể có giá trị trung bình là 0,0370. Yếu tố đóng góp lớn nhất vào độ biến thiên tần suất biến thể là từ các bản sao chuẩn bị thư viện, đóng góp vào 17,1% độ biến thiên tổng thể. Ngày đóng góp vào 1%, trong khi mỗi lô thiết bị và thuốc thử đóng góp vào dưới 1% tổng độ biến thiên. [Ước tính các thành phần của phương sai độ chụm trong phòng thí nghiệm cho tần suất biến thể mẫu dòng mầm trên trang 56](#) (SD = độ lệch chuẩn).

Bảng 27 Ước tính các thành phần của phương sai độ chụm trong phòng thí nghiệm cho tần suất biến thể mẫu dòng mầm

Thành phần	SD trung bình	% trung bình của tổng SD
Ngày	0,0020	1,028
Thiết bị	0,0018	0,837
Lô vật tư tiêu hao	0,0016	0,712
Bản sao thư viện	0,0143	17,110
Tổng	0,0370	100

Soma

Đối với các lần chạy soma, các vị trí hệ gen nơi phát hiện biến thể soma đích được báo cáo là dương tính (biến thể). Đối với các mẫu pha loãng GM12877-13 và GM12878-13 với các biến thể soma dương tính dự kiến tại các VAF trong khoảng từ 6,5% đến 13%, dữ liệu được đánh giá về tỷ lệ không có phát hiện và phần trăm phát hiện dương tính (PPC) trong mỗi loại biến thể (SNV, vùng chèn, vùng xóa). [Các quan sát phát hiện soma chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả dương tính dự kiến theo loại biến thể \(VAF \$\geq\$ 6,5% và \$\leq\$ 13%\) trên trang 57](#) tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với các mức độ tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson, cho mỗi loại biến thể.

Bảng 28 Các quan sát phát hiện soma chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả dương tính dự kiến theo loại biến thể (VAF $\geq$ 6,5% và $\leq$ 13%)

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số phát hiện dương tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PPC	LCL 95% ³	UCL 95%
SNV	0	96939	0	96069	96939	99,10	99,04	99,16
Vùng chèn	0	3004	0	3004	3004	100	99,87	100
Vùng xóa	0	2912	0	2907	2912	99,83	99,60	99,93

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).

² Phát hiện dương tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi phát hiện biến thể.

³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Các vị trí hệ gen nơi không phát hiện biến thể soma đích được báo cáo là âm tính (thể đại). Đối với các vị trí âm tính dự kiến, dữ liệu đã được đánh giá về tỷ lệ không có phát hiện và tỷ lệ phần trăm phát hiện âm tính. [Các quan sát phát hiện soma chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả âm tính dự kiến trên trang 57](#) tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với các mức độ tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson, cho mỗi loại biến thể.

Bảng 29 Các quan sát phát hiện soma chính xác trong phòng thí nghiệm cho kết quả âm tính dự kiến

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số lần phát hiện âm tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PNC	LCL 95% ³	UCL 95%
Thể đại	0	194922	0	194919	194922	>99,99	>99,99	100

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).

² Phát hiện âm tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không phát hiện biến thể.

³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Sự đóng góp của mỗi thông số (thiết bị, lô thuốc thử, ngày, bản sao thư viện) vào độ biến thiên tổng thể được xác định bằng phân tích thành phần phương sai sử dụng tần suất biến thể làm biến đáp ứng. Độ lệch chuẩn tổng thể có giá trị trung bình là 0,0062. Các bản sao chuẩn bị thư viện vẫn là nguồn biến thiên đáng kể nhất, chiếm 50,7% tổng số. Ngày, thiết bị và lô vật tư tiêu hao đều đóng góp ít hơn 1% tổng độ biến thiên trong các [Ước tính các thành phần của phương sai độ chụm trong phòng thí nghiệm cho tần suất biến thiên mẫu soma trên trang 58](#) (SD = độ lệch chuẩn).

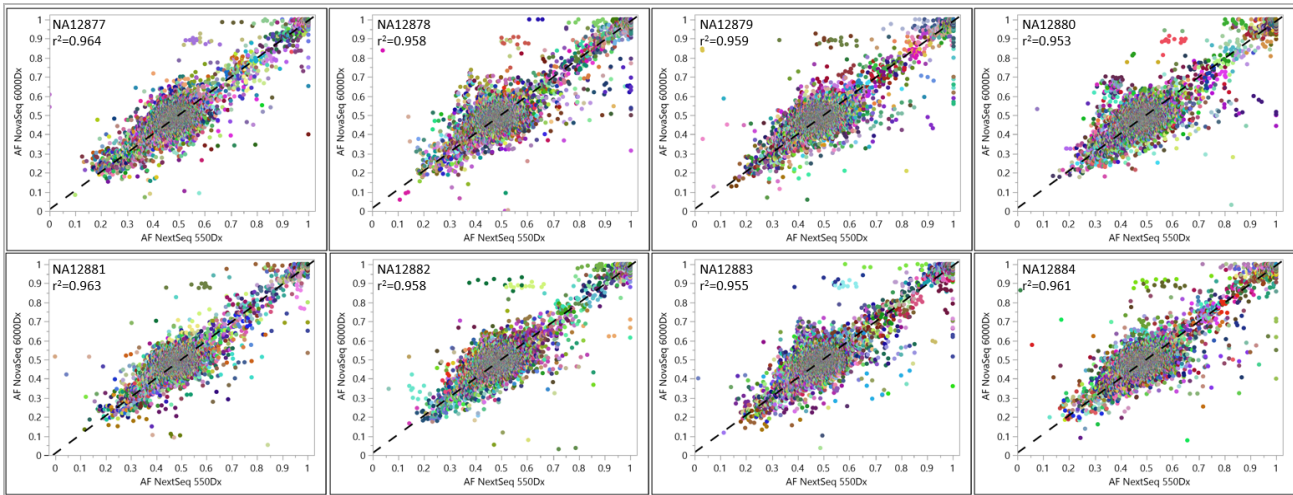
Bảng 30 Ước tính các thành phần của phương sai độ chụm trong phòng thí nghiệm cho tần suất biến thiên mẫu soma

Thành phần	SD trung bình	% trung bình của tổng SD
Ngày	0,0002	0,41
Thiết bị	0,0002	0,40
Lô vật tư tiêu hao	0,0002	0,35
Bản sao thư viện	0,0044	50,7
Tổng	0,0062	100

So sánh phương pháp

Một nghiên cứu đã được thực hiện để so sánh hiệu suất giữa NovaSeq 6000Dx và các thiết bị NextSeq 550Dx. Độ tương hợp tần suất biến thể cho các mẫu máu được đánh giá bằng cách sử dụng một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 1.970.505 base trên tất cả 23 nhiễm sắc thể của người. Tám mẫu DNA Platinum Genome đã được xét nghiệm, bảy mẫu thành sáu mẫu lặp và một mẫu (NA12881) thành năm mẫu lặp. Các thư viện được giải trình tự trên Thiết bị NovaSeq 6000Dx sử dụng quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF dòng mầm của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx và trên Thiết bị NextSeq 550Dx bằng cách sử dụng mô-đun DNA Generate FASTQ Dx Local Run Manager. [Biểu đồ tương quan tần suất biến thể \(Các điểm được tô màu theo biến thể duy nhất. Các biến thể có thể được tô màu khác nhau trong mỗi biểu đồ riêng lẻ.\) trên trang 59](#) thể hiện mức độ tương quan VAF giữa hai thiết bị cho mỗi mẫu. Dựa trên mối tương quan chặt chẽ giữa Thiết bị NovaSeq 6000Dx và thiết bị NextSeq 550Dx, các đặc điểm hiệu suất liên quan đến các yếu tố trước khi phân tích (ví dụ: phương pháp tách chiết hoặc chất can thiệp) được xác định là có thể áp dụng cho cả hai thiết bị. Xem tờ hướng dẫn sử dụng Illumina DNA Prep with Enrichment Dx để biết thêm chi tiết.

Hình 15 Biểu đồ tương quan tần suất biến thể (Các điểm được tô màu theo biến thể duy nhất. Các biến thể có thể được tô màu khác nhau trong mỗi biểu đồ riêng lẻ.)



Khả năng tái lập

Khả năng tái lập của Thiết bị NovaSeq 6000Dx được đánh giá bằng cách sử dụng các mẫu Platinum Genome với một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 1.970.505 base trên 23 nhiễm sắc thể khác nhau bằng 9.232 oligo đích. Tổng số 1.723 biến thể nhỏ được nhắm đích (các SNV, vùng chèn và vùng xóa) đã được đánh giá. Xét nghiệm dòng mầm bao gồm ba hoặc bốn bản sao của mười hai mẫu Platinum duy nhất. Xét nghiệm soma bao gồm năm hoặc sáu bản sao của tám mẫu Platinum Genome được xử lý FFPE duy nhất ở các mức VAF khác nhau. Các thư viện mẫu được chuẩn bị bằng cách sử dụng các thuốc thử trong bộ kit Illumina DNA Prep with Enrichment Dx.

Xét nghiệm được thực hiện tại ba địa điểm bên ngoài bằng cách sử dụng một lô mỗi Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S2 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ) và Bộ kit thuốc thử NovaSeq 6000Dx S4 phiên bản 1.5 (300 chu kỳ). Một Thiết bị NovaSeq 6000Dx đơn lẻ được sử dụng tại mỗi địa điểm. Hai người vận hành thực hiện xét nghiệm tại mỗi địa điểm. Mỗi người vận hành thực hiện xét nghiệm trong ba ngày bắt đầu không liên tiếp đối với mỗi loại mẫu với tổng số 36 tế bào dòng chảy tại ba địa điểm. Đối với mỗi ngày bắt đầu, các thư viện mẫu dòng mầm được giải trình tự ở bên A của thiết bị sử dụng các thuốc thử S2 và quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF dòng mầm của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, và các thư viện mẫu soma được giải trình tự ở bên B của thiết bị sử dụng các thuốc thử S4 và quy trình phân tích tạo FASTQ và VCF soma của Ứng dụng DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Xét nghiệm này dẫn đến 18 tế bào dòng chảy cho mỗi quy trình công việc dòng mầm và soma.

Germline

Đối với các lần chạy dòng mầm, các vị trí hệ gen nơi phát hiện biến thể dòng mầm đích được báo cáo là dương tính (biến thể). Đối với các biến thể dòng mầm dương tính dự kiến, dữ liệu được đánh giá về tỷ lệ không có phát hiện và tỷ lệ phần trăm phát hiện dương tính ở mỗi loại biến thể (SNV, vùng chèn, vùng xóa). [Các lần quan sát](#)

phát hiện dòng mầm cho kết quả dương tính dự kiến theo loại biến thể trên trang 60 tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với mức tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson, cho từng loại biến thể.

Bảng 31 Các lần quan sát phát hiện dòng mầm cho kết quả dương tính dự kiến theo loại biến thể

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số phát hiện dương tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PPC	LCL 95% ³	UCL 95%
SNV	0	991026	0	990276	991026	99,92	99,92	99,93
Vùng chèn	0	38358	0	38358	38358	100	99,99	100
Vùng xóa	0	34758	0	32228	34758	92,72	92,44	92,99

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).
² Phát hiện dương tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi phát hiện biến thể.
³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Các vị trí hệ gen nơi không phát hiện biến thể dòng mầm đích được báo cáo là âm tính (thể đại). Đối với các vị trí âm tính dự kiến, dữ liệu đã được đánh giá về tỷ lệ không có phát hiện và tỷ lệ phần trăm phát hiện âm tính (PNC). *Các lần quan sát phát hiện dòng mầm cho kết quả âm tính dự kiến trên trang 60* tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với mức tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson.

Bảng 32 Các lần quan sát phát hiện dòng mầm cho kết quả âm tính dự kiến

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số lần phát hiện âm tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PNC	LCL 95% ³	UCL 95%
Thể đại	0	393516	0	393516	393516	100	>99,99	100

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).
² Phát hiện âm tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không phát hiện biến thể.
³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Soma

Đối với các lần chạy soma, các vị trí hệ gen nơi phát hiện biến thể soma đích được báo cáo là dương tính (biến thể). Đối với các biến thể soma dương tính dự kiến trong đó tần suất alen biến thể trung bình (VAF) lớn hơn hoặc bằng 14% và nhỏ hơn hoặc bằng 28%, dữ liệu được đánh giá tỷ lệ không có phát hiện và phần trăm phát hiện dương tính (PPC) trong mỗi loại biến thể (SNV, vùng chèn, vùng xóa). *Các lần quan sát phát hiện soma cho kết*

quả dương tính dự kiến theo loại biến thể (VAF trung bình $\geq 14\%$ và $\leq 28\%$) trên trang 61 tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với mức tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson, cho từng loại biến thể.

Bảng 33 Các lần quan sát phát hiện soma cho kết quả dương tính dự kiến theo loại biến thể (VAF trung bình $\geq 14\%$ và $\leq 28\%$)

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số phát hiện dương tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PPC	LCL 95% ³	UCL 95%
SNV	0	71028	0	70314	71028	98,99	98,92	99,07
Vùng chèn	0	1962	0	1962	1962	100	99,80	100
Vùng xóa	0	2142	0	2098	2142	97,95	97,25	98,47

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).

² Phát hiện dương tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi phát hiện biến thể.

³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Các vị trí hệ gen nơi không phát hiện biến thể soma đích được báo cáo là âm tính (thể đại). Đối với các vị trí âm tính dự kiến, dữ liệu đã được đánh giá về tỷ lệ không có phát hiện và tỷ lệ phần trăm phát hiện âm tính. [Các lần quan sát phát hiện soma cho kết quả âm tính dự kiến trên trang 61](#) tóm tắt các tỷ lệ quan sát được, cùng với mức tin cậy 95% dưới và trên (LCL/UCL) được tính bằng phương pháp Điểm Wilson, cho từng loại biến thể.

Bảng 34 Các lần quan sát phát hiện soma cho kết quả âm tính dự kiến

Loại biến thể	Không quan sát thấy phát hiện nào ¹	Tổng số lần phát hiện	Phần trăm không có phát hiện	Số lần phát hiện âm tính được quan sát thấy ²	Tổng số phát hiện có thể đánh giá	PNC	LCL 95% ³	UCL 95%
Thể đại	0	92718	0	92714	92718	>99,99	99,99	100

¹ Không có phát hiện được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không thể xác định được biến thể (do độ sâu bao phủ thấp).

² Phát hiện âm tính được định nghĩa là vị trí nhiễm sắc thể đích nơi không phát hiện biến thể.

³ Khoảng tin cậy 95% hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Lịch sử sửa đổi

Tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
Mã tài liệu 200025276 v01	Tháng 9 năm 2022	Đã cập nhật dữ liệu độ chụm cho các quan sát phát hiện dòng mầm.
Mã tài liệu 200025276 v00	Tháng 8 năm 2022	Phát hành lần đầu.

Bảng sáng chế và nhãn hiệu

Tài liệu này và nội dung trong đó thuộc quyền sở hữu của Illumina, Inc. và các công ty liên kết của Illumina, Inc. ("Illumina") và chỉ dành cho việc sử dụng theo hợp đồng với khách hàng của Illumina liên quan đến việc sử dụng (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này và không dành cho mục đích nào khác. Tài liệu này và nội dung trong đó sẽ không được sử dụng hay phân phối vì bất kỳ mục đích nào khác và/hoặc không được truyền tải, tiết lộ hay sao chép dưới bất kỳ hình thức nào khác mà không có sự cho phép trước bằng văn bản của Illumina. Illumina không chuyển nhượng bất kỳ giấy phép nào theo các bằng sáng chế, nhãn hiệu, bản quyền hoặc các quyền theo thông luật cũng như các quyền tương tự của bất kỳ bên thứ ba nào thông qua tài liệu này.

Các hướng dẫn nêu trong tài liệu này phải được tuân thủ nghiêm ngặt và rõ ràng bởi cá nhân được đào tạo phù hợp và có đủ trình độ nhằm đảm bảo sử dụng an toàn và đúng cách (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này. Phải đọc và hiểu hoàn toàn tất cả nội dung của tài liệu này trước khi sử dụng (các) sản phẩm đó.

VIỆC KHÔNG ĐỌC TOÀN BỘ VÀ TUÂN THỦ RÕ RÀNG TẤT CẢ CÁC HƯỚNG DẪN NÊU TRONG TÀI LIỆU NÀY CÓ THỂ DẪN ĐẾN GÂY HƯ HỎNG (CÁC) SẢN PHẨM, GÂY TỔN THƯƠNG CHO CON NGƯỜI, BAO GỒM NGƯỜI DÙNG HOẶC NHỮNG NGƯỜI KHÁC VÀ GÂY THIẾT HẠI TÀI SẢN KHÁC, VÀ SẼ LÀM MẤT HIỆU LỰC BẢO HÀNH ÁP DỤNG CHO (CÁC) SẢN PHẨM ĐÓ.

ILLUMINA KHÔNG CHỊU BẤT KỲ TRÁCH NHIỆM NÀO PHÁT SINH TỪ VIỆC SỬ DỤNG KHÔNG ĐÚNG CÁCH (CÁC) SẢN PHẨM ĐƯỢC MÔ TẢ TRONG TÀI LIỆU NÀY (BAO GỒM CẢ CÁC BỘ PHẬN CỦA SẢN PHẨM HOẶC PHẦN MỀM).

© 2022 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

Tất cả các nhãn hiệu đều là tài sản của Illumina, Inc. hoặc các chủ sở hữu tương ứng. Để biết thông tin cụ thể về nhãn hiệu, hãy truy cập trang web www.illumina.com/company/legal.html.

Thông tin liên hệ



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (ngoài khu vực Bắc Mỹ)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Hà Lan

Nhà bảo trợ tại Úc

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

Thông tin trên nhãn sản phẩm

Để có thông tin tham chiếu đầy đủ về các ký hiệu xuất hiện trên bao bì và nhãn sản phẩm, hãy tham khảo bản chú giải ký hiệu tại địa chỉ support.illumina.com, trên tab *Documentation* (Tài liệu) cho bộ kit của bạn.