

MODE D'EMPLOI

16, 32, 48 et 96 Échantillons

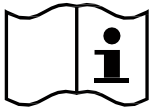
SOPHiA GENETICS™
Dx Universal Library Prep





RÉSUMÉ

Nom du produit	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep
Type de produit	Library Preparation Kit I
Famille de produits	Kit moléculaire
Version du produit	v1.0
Type d'échantillon	ADN génomique (gDNA) isolé à partir de sang, de moelle osseuse, de tissu frais congelé (FF), tissu fixé au formol et inclus en paraffine (FFPE)
ID du document	SG-08664
Version du document	v3.0
Date de révision	Janvier 2026



Veuillez lire attentivement le mode d'emploi avant d'utiliser ce produit.



BX6002UNICMDL30-16
BX6002UNICMDL30-32
BX6002UNICMDL30-48
BX6002UNICMDL30-96
BX6002UNICMDL31-16
BX6002UNICMDL31-32
BX6002UNICMDL31-48
BX6002UNICMDL31-96



Pour le diagnostic *in vitro*



SOPHiA GENETICS SA
ZA La Pièce 12
1180 Rolle
Switzerland



SOPHiA GENETICS S.A.S
Technopole Izarbel
158 allée Fauste d’Elhuyar
64210 Bidart, France



CODES PRODUIT

Codes produit pour SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep - Stubby Adapters configuration

CODE PRODUIT COMPLET	VERSION DU PRODUIT
BX6002UNICMDL30-16	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep Stubby - Y30 - 16rx
BX6002UNICMDL30-32	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep Stubby - Y30 - 32rx
BX6002UNICMDL30-48	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep Stubby - Y30 - 48rx
BX6002UNICMDL30-96	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep Stubby - Y30 - 96rx

Codes produit pour SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep - Configuration pour adaptateursCUMIN

CODE PRODUIT COMPLET	VERSION DU PRODUIT
BX6002UNICMDL31-16	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep CUMIN - Y31 - 16rx
BX6002UNICMDL31-32	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep CUMIN - Y31 - 32rx
BX6002UNICMDL31-48	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep CUMIN - Y31 - 48rx
BX6002UNICMDL31-96	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep CUMIN - Y31 - 96rx

ID DU COMPOSANT	NOM DU COMPOSANT
BOITE DU LIBRARY PREPARATION KIT	SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep
BOÎTE 1	SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box1
BOÎTE 2	SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box2
CUMIN BOX*	SOPHiA GENETICS™ Adaptateurs CUMIN modulaires Dx

*Composant fourni uniquement avec les configurations des adaptateurs CUMIN™

Codes des composants pour la configuration de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – Stubby Adapters

CODE PRODUIT COMPLET	BOITE DU LIBRARY PREPARATION KIT	BOÎTE 1	BOÎTE 2
BX6002UNICMDL30-16	4C0232	B1.G1.6002.C-16	B2.6002.C-16
BX6002UNICMDL30-32	2 x 4C0232	B1.G1.6002.C-32	B2.6002.C-32
BX6002UNICMDL30-48	4C0234	B1.G1.6002.C-48	B2.6002.C-48
BX6002UNICMDL30-96	2 x 4C0234	B1.G1.6002.C-96	2 x B2.6002.C-48



Codes des composants pour SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep - Configuration pour adaptateurs CUMIN™

CODE PRODUIT COMPLET	BOITE DU LIBRARY PREPARATION KIT	BOÎTE 1	BOÎTE 2	BOITE CUMIN
BX6002UNICMDL31-16	4C0232	B1.F1.6002.C-96	B2.6002.C-16	905C1648
BX6002UNICMDL31-32	2 x 4C0232	B1.F1.6002.C-96	B2.6002.C-32	905C1648
BX6002UNICMDL31-48	4C0234	B1.F1.6002.C-96	B2.6002.C-48	905C1648
BX6002UNICMDL31-96	2 x 4C0234	B1.F1.6002.C-96	2 x B2.6002.C-48	2 x 905C1648



CLAUDE DE NON-RESPONSABILITÉ

Ce document et son contenu sont la propriété de SOPHiA GENETICS SA et de ses filiales ("SOPHiA GENETICS") et sont destinés uniquement à l'utilisation contractuelle par son client en relation avec l'utilisation de le(s) produit(s) décrit(s) dans le présent document et à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne doivent pas être utilisés ou distribués à d'autres fins et/ou autrement communiqués, divulgués ou reproduits, ou référencés de quelque manière que ce soit sans le consentement écrit préalable de SOPHiA GENETICS.

SOPHiA GENETICS n'accorde aucune licence en vertu de ses brevets, marques, droits d'auteur ou droits de common law ou droits similaires d'un tiers par le biais de ce document. Les instructions contenues dans ce document doivent être strictement et explicitement suivies par le personnel qualifié et adéquatement formé afin de garantir l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits ici. L'ensemble du contenu de ce document doit être entièrement lu et compris avant d'utiliser ce(s) produit(s).

LE FAIT DE NE PAS LIRE ENTIÈREMENT ET DE NE PAS SUIVRE EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LE PRÉSENT DOCUMENT PEUT ENTRAÎNER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES AUX PERSONNES, Y COMPRIS AUX UTILISATEURS OU À D'AUTRES PERSONNES, ET DES DOMMAGES À D'AUTRES BIENS.

SOPHiA GENETICS N'ASSUME AUCUNE RESPONSABILITÉ RESULTANT D'UNE MAUVAISE UTILISATION DU OU DES PRODUIT(S) DESCRIPTIF(S) (Y COMPRIS LES PIÈCES DE CEUX-CI OU LES LOGICIELS).

MARQUES DÉPOSÉES

Illumina®, HiSeq®, NextSeq® et MiSeq® sont des marques déposées d'Illumina, Inc. NovaSeq™ est une marque déposée d'Illumina, Inc. et Agencourt® AMPure® XP sont des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. Qubit® et Dynabeads® sont des marques déposées de Thermo Fisher Scientific Inc.

SOPHiA GENETICS™ sont des marques déposées de SOPHiA GENETICS SA et/ou sa (ses) filiale(s) dans les États-Unis. et/ou d'autres pays. Tous les autres noms, logos et noms de marque appartiennent à leurs propriétaires respectifs. À MOINS QUE ne soit spécifiquement identifié comme tel, l'utilisation par SOPHiA GENETICS de marques de commerce de tiers n'indique aucune relation, de parrainage, ou d'approbation entre SOPHiA GENETICS et les propriétaires de ces marques de commerce. Toute référence par SOPHiA GENETICS à des marques de tiers a pour but d'identifier les produits et/ou services correspondants du tiers et sera considérée comme un usage loyal nominatif en vertu de la loi sur les marques.



HISTORIQUE DES REVISIONS

DOCUMENT ID / VERSION	DATE	Version équivalente en anglais des instructions d'utilisation	DESCRIPTION DES CHANGEMENTS
SG-08664 v3.0	Janvier 2025	SG-08540 v3.0	• Changement du système de numérotation des versions, aucune version supplémentaire entre 1.1 et 3.0. • Ajout d'une nouvelle colonne dans le tableau de l'historique des révisions afin de suivre la version anglaise correspondante ; la colonne est vide pour toutes les revisions précédentes.
SG-08664 v1.1	Janvier 2025		• Correction d'adresse du représentant autorisé et du fabricant
SG-08664 v1.0	Décembre 2026		• Version initiale



Table des matières

1. Finalité.....	7
2. Déclaration générale des principes et de la procédure d'essai	8
3. Matériels et méthodes.....	9
3.1 Matériel.....	9
3.1.1 Considérations initiales.....	9
3.1.2 Contenu du kit (16, 32, 48 et 96 réactions).....	9
3.1.3 Substances dangereuses.....	13
3.1.4 Matériel nécessaire (non fourni).....	14
3.2 Recommandations concernant les échantillons.....	15
3.2.1 Collecte et conservation des échantillons.....	15
3.2.2 Recommandation relative à la source d'ADN.....	15
3.3 Préparation de la librairie.....	17
3.3.1 Préparation du Matériel Source.....	17
3.3.2 Pré-Mix et Préparation des Réactifs.....	18
3.3.3 Fragmentation enzymatique, End Repair et A-Tailing.....	20
3.3.4 Ligation.....	22
3.3.5 NettoyagePost-L i g a t i o n.....	24
3.3.6 Amplification de la librairie.....	25
3.3.7 Nettoyage post-amplification.....	27
3.3.8 Quantification des librairies individuelles et contrôle de la qualité.....	28
3.4 Séquençage.....	30
3.4.1 Préparation au Séquençage.....	30
4. Avertissements, limitations et précautions	31
4.1 Avertissements.....	31
4.2 Limitations.....	31
4.3 Précautions.....	31
5. Résolution des problèmes.....	33
6. Caractéristiques de performance	34
6.1.1 Type de spécimen.....	34
6.1.2 Reproductibilité entre laboratoires.....	34
6.1.3 Quantité d'ADN d'entrée.....	34
6.1.4 Reproductibilité en utilisant différents lots de réactifs.....	34
6.1.5 Contamination croisée des échantillons.....	34
6.1.6 Substances interférentes.....	35
7. Symboles	36
8. Assistance	38
9. Annexes	39
9.1 Annexe I : Plaques Unique Double Index Primer.....	39
9.1.1 96A Plaque d'amorçage unique à double index, 96- puits Plaque Format (7 µl Chacun) - Plaque A (IPdCUdIpA96).....	39
9.1.2 Index Séquences pour Les Unique Dual Index Primers	40
9.1.3 Chargement des Dilutions Pour Séquenceurs.....	45
9.2 Annexe II : Flux de travail général de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep.....	46



1. Finalité

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep est un kit de réactifs utilisé pour la préparation de librairies de séquençage de nouvelle génération (NGS) à partir d'ADN génomique isolé de cellules et de tissus humains. Les librairies générées peuvent ultérieurement être utilisées pour les plateformes de séquençage.

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep est un ensemble de réactifs non automatisé destiné à être utilisé dans le cadre d'un examen de diagnostic *in vitro* développé par l'utilisateur et effectué par des professionnels de santé qualifiés.



2. Déclaration générale des principes et de la procédure d'essai

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep contient toutes les enzymes, les tampons associés ainsi que les plaques d'indexation et les adaptateurs de ligation nécessaires pour réaliser le flux de travail de l'utilisateur depuis l'ADN extrait jusqu'à une librairie de génomes entiers non enrichis prête à l'enrichissement et au séquençage (**Figure 1**).

Le produit SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep permet de réaliser les étapes suivantes :

1. Fragmentation, réparation des extrémités et A-tailing : fragmentation enzymatique de l'ADN et préparation des extrémités de l'ADN pour la ligation de l'adaptateur (Frag/ERAT dans la **figure 1**).
2. Ligation des adaptateurs: ligation d'adaptateurs Stubby ou d'adaptateurs CUMIN™ à des fragments d'ADN pour les préparer à l'indexation et à l'amplification (ligation dans la **figure 1**).
3. Indexation et amplification : amplification de fragments d'ADN liés à l'adaptateur à l'aide d'amorces PCR à code-barres pour préparer l'ADN au séquençage (PCR dans la **figure 1**).

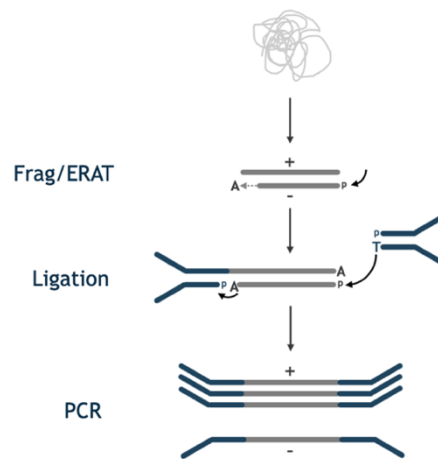


Figure 1: Description du flux de travail pour le SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep.



3. Matériels et méthodes

3.1 Matériel

3.1.1 Considérations initiales

Dès réception, veuillez vous assurer que tous les tubes sont physiquement intacts et conservés aux températures recommandées pour une performance optimale du kit. Une manipulation et un stockage inappropriés des composants du kit dans d'autres conditions peuvent nuire aux performances du kit. Contacter le fabricant (voir la section 8 SUPPORT pour plus de détails) si les composants du kit sont arrivés endommagés ou si la glace sèche a été épuisée.



Le colis d'expédition contient de la glace sèche pour le refroidissement. La glace sèche libère du dioxyde de carbone. Assurer une ventilation adéquate pendant le déballage. Éviter tout contact direct avec la glace sèche. Utiliser un équipement de protection comprenant une blouse de laboratoire, des gants isolés et une protection oculaire lors de la manipulation.



3.1.2 Contenu du kit (16, 32, 48 et 96 réactions)



Toujours brièvement faire tourner les tubes avant l'utilisation pour recueillir tout le liquide.

Selon le format du kit (nombre de réactions à couvrir par le kit) et la version (configuration du kit avec les adaptateurs STUBBY ou CUMIN), les composants suivants sont fournis :

COMPOSANT	NOMBRE D' ÉLÉMENTS SELON LE FORMAT DU KIT			
	16 réactions	32 réactions	48 réactions	96 réactions
SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep	1 x boîte de 16 réactions	2 x boîtes de 16 réactions	1 x boîte de 48 réactions	2 x boîtes de 48 réactions
<i>Configuration pour adaptateurs Stubby:</i> * SOPHiAGENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box 1	1 x boîte de 16 réactions	1 x boîte de 32 réactions	1 x boîte de 48 réactions	1 x boîte de 96 réactions
<i>Configuration des adaptateurs CUMIN™:</i> SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box 1	1 x boîte de 96 réactions	1 x boîte de 96 réactions	1 x boîte de 96 réactions	1 x boîte de 96 réactions
SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Boîte 2	1 x boîte de 16 réactions	1 x boîte de 32 réactions	1 x boîte de 48 réactions	2 x boîtes de 48 réactions
<i>Configuration pour adaptateurs CUMIN™ uniquement :</i> SOPHiA GENETICS™ Dx Adaptateurs modulaires CUMIN	1 x boîte de 48 réactions	1 x boîte de 48 réactions	1 x boîte de 48 réactions	2 x boîtes de 48 réactions

* SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box 1 en configuration pour Adaptateurs Stubby contient 96A Unique Dual Index Primer Plate qui supportent 96 réactions



SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep (à conserver entre -25 °C et -15 °C)*

RÉACTIF (COULEUR DU BOUCHON)	FORMAT DU KIT				INGRÉDIENTS ACTIFS
	16 réactions	32 réactions*	48 réactions	96 réactions*	
PCR Master Mix 2x (capuchon blanc)	520 µl	2 x 520 µl	1560 µl	2 x 1560 µl	Le Master Mix comprend de l'ADN polymérase, du tampon de réaction, des dNTPs et du MgCl ₂
Tampon de fragmentation (capuchon brun)	77 µl	2 x 77 µl	231 µl	2 x 231 µl	Solution aqueuse tamponnée contenant du chlorure de tétraméthyl-ammonium
Mélange d'enzymes de fragmentation (capuchon brun)	116 µl	2 x 116 µl	346 µl	2 x 346 µl	Mélange d'enzymes de fragmentation et tampons
Enzyme de ligation (capuchon violet)	192 µl	2 x 192 µl	576 µl	2 x 576 µl	Mélange d'enzymes de ligation et d'agents tampons
Tampon de ligation 5x (capuchon violet)	384 µl	2 x 384 µl	1153 µl	2 x 1153 µl	Tampon pré-mix pour la réaction de ligation de l'ADN

* Pour les kits de 32 réactions (32rx), deux boîtes de 16 réactions sont fournies.

* Pour le format 96 réactions (96rx), deux boîtes de 48 réactions sont fournies.



Se référer à la section 3.1.3 pour tout détails sur les substances dangereuses contenues dans les réactifs.

SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box 1 (à conserver entre +2 °C et +8 °C)

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep - Configuration pour adaptateurs stubby :

RÉACTIF (COULEUR DU BOUCHON)	FORMAT DU KIT				INGRÉDIENTS ACTIFS
	16 réactions	32 réactions	48 réactions	96 réactions	
Adaptateur SU (capuchon bleu)	110 µl	220 µl	320 µl	650 µl	Adaptateurs universels stubby -Pool d'oligonucléotides
plaque d'amorçage unique à double index 96A[Plaques A]	format de plaque 1x96 puits (7 µl d'amorce par puits)				Pool d'oligonucléotides, veuillez vous référer à l'annexe I pour des informations sur la disposition des plaques et les séquences d'amorces



SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep - Configuration pour adaptateurs CUMIN :

REACTIFS*	FORMAT DU KIT				INGRÉDIENTS ACTIFS
	16 réactions	32 réactions	48 réactions	96 réactions	
plaque d'amorce unique à double index 96A [Plaque A]	format de plaque 1x96 puits (7 µl d'amorce par puits)				Pool d'oligonucléotides, veuillez vous référer à l'annexe I pour des informations sur la disposition des plaques et les séquences d'amorces

*En cas de configuration avec des adaptateurs CUMIN™, les adaptateurs sont fournis dans une boîte séparée



SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Boîte 2 (à conserver entre +2 °C et +8 °C)

RÉACTIF (COULEUR DU BOUCHON)	FORMAT DU KIT				INGRÉDIENTS ACTIFS
	16réactions	32réactions	48 réactions	96 réactions*	
Agencourt® AMPure® XP (capuchon transparent)	3 x 1,5 ml	7.2 ml	9.2 ml	2 x 9,2 ml	Billes paramagnétiques en suspension dans une solution tamponnée
Tampon IDTE pH 8.0 (bouchon transparent)	10 ml	10 ml	10 ml	2 x 10 ml	solution Tris-HCl 10 mM, EDTA 0,1 mM
Eau sans nucléase (bouchon transparent)	20 ml	20 ml	20 ml	2 x 20 ml	Eau exempte de nucléase

* Pour les kits de 96 réactions (96rx), deux kits de 48 réactions sont fournis.

SOPHiA GENETICS™ Dx Adaptateurs modulaires CUMIN (à conserver entre -25 °C et -15 °C)

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep - Configuration pour adaptateurs CUMIN :

RÉACTIF (COULEUR DU BOUCHON)	FORMAT DU KIT				INGRÉDIENTS ACTIFS
	16réactions	32réactions	48 réactions	96 réactions	
Famille CUMIN "A" (capuchon orange)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides
Famille CUMIN "B" (capuchon rose)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides
Famille CUMIN "C" (capuchon rouge)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides
Famille CUMIN "D" (capuchon jaune)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides
Famille CUMIN "E" (capuchon brun)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides
Famille CUMIN "F" (capuchon vert)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides
Famille CUMIN "G" (capuchon bleu)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides
Famille CUMIN "H" (capuchon violet)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Pool d'oligonucléotides



3.1.3 Substances dangereuses

Fiche de données de sécurité disponible sur demande et en ligne sur le site web suivant : www.sophiagenetics.com/docs/

NOM DU REACTIF	SGH PICTOGRAMME	H&P DÉCLARATIONS	SIGNAL MOT	SUBSTANCE DANGEREUSE
Tampon de Fragmentation et Master Mix PCR 2x	 	H302 Mortel en cas d'ingestion. H370 Cause des dommages aux organes. H412 Nocif pour la vie aquatique avec des effets durables. P273 Éviter de déverser dans l'environnement. P260 Ne pas respirer les vapeurs. P270 Ne pas manger, boire ou fumer pendant l'utilisation de ce produit. P264 Se laver soigneusement après manipulation. P308 + P311 EN CAS D'EXPOSITION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P301 + P312, P330 EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise (). Rincer la bouche. P405 Entreposer dans un endroit fermé à clé. P501 Éliminer le contenu et le récipient conformément à toutes les réglementations locales, régionales, nationales et internationales.	Avertissement	Chlorure de tétraméthylammonium [CAS 75-57-0] 1-3%



Porter un équipement de protection, y compris une protection oculaire, des gants et une blouse de laboratoire pour réduire le risque d'exposition





3.1.4 Matériel nécessaire (non fourni)

Matériel fourni par l'utilisateur (à acheter séparément)

Produits de laboratoire en plastique

- Tubes de 1,5 ml à faible liaison d'ADN
- Tubes coniques de 50 ml
- Pointes à filtre
- Tubes d'1,5 ml
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

Réactifs

- Éthanol (grade biologie moléculaire)

Autre

- Glace pour assurer la conservation des réactifs et des pré-mix à 4 °C
- Réactifs de séquençage et flowcells Illumina

Équipement de Laboratoire

Pour éviter la contamination de l'échantillon, séparer l'espace de travail en :

- *Zone pré-PCR*
 - Matériel et réactifs de quantification fluorométrique (par exemple, Qubit® ou similaire)
 - Support de séparation magnétique (96 puits)
 - Pipettes multicanaux (P10 ou P20 ; P100 ; P200) avec embouts filtrants appropriés
 - Microcentrifugeuse de table (compatible avec des barrettes de 8 tubes)
 - Thermocycleur (couvercle chauffant programmable ; tubes PCR de 0,2 ml compatibles)
 - Mélangeur à vortex
- *Zone post-PCR*
 - Système d'électrophorèse capillaire
 - Matériel et réactifs de quantification fluorométrique (par exemple, Qubit® ou similaire)
 - Support de séparation magnétique (96 puits)
 - Pipettes multicanaux (P10 ou P20 ; P100 ; P200) avec embouts filtrants appropriés
 - Microcentrifugeuse de table (compatible avec des barrettes de 8 tubes)
 - Thermocycleur (couvercle chauffant programmable ; tubes PCR de 0,2 ml compatibles)
 - Mélangeur à vortex



3.2 Recommandations concernant les échantillons

3.2.1 Collecte et conservation des échantillons

Respectez les exigences en matière de collecte, de transport et de stockage des échantillons applicables au type d'échantillon et à la méthode d'extraction de l'ADN choisie. Toute méthode d'extraction validée permettant d'obtenir des échantillons d'ADN répondant aux exigences indiquées dans la recommandation d'entrée peut être utilisée. L'ADN purifié doit être transporté et stocké dans des conditions appropriées, conformément aux recommandations du fabricant du kit d'extraction d'ADN. Éviter les cycles répétés de congélation-décongélation.

3.2.2 Recommandation relative à la source d'ADN

La qualité de l'ADN utilisé comme source de la SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep doit être contrôlée avant utilisation. L'intégrité, la concentration et la pureté de l'ADN sont des facteurs critiques qui influencent les performances de l'essai. Utiliser toute méthode d'extraction d'acide nucléique validée qui garantit une récupération efficace de l'ADN et préserve la qualité de l'échantillon.

RECOMMANDATIONS SUR LA QUALITÉ DES SOURCES

ADN EXTRAIT DE TISSU FRAIS CONGELÉ, DE SANG OU DE MOELLE OSSEUSE : la pureté de l'ADN peut être évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Les rapports d'absorbance recommandés sont compris entre 1,8 et 2,0 pour le rapport 260/280 nm et entre 1,6 et 2,4 pour le rapport 260/230. Les rapports d'absorbance en dehors des plages mentionnées ci-dessus peuvent entraîner l'échec de la préparation de la bibliothèque ou des performances réduites.

ADN EXTRAIT DU TISSU FFPE : la qualité de l'ADN extrait de FFPE est variable et peut affecter négativement les performances de l'essai. L'exposition au formol porte atteinte à l'intégrité de la molécule en provoquant une fragmentation de l'ADN. Il induit également des artefacts de séquençage dus à des événements de désamination. Nous recommandons de confirmer l'intégrité de l'échantillon par électrophorèse capillaire ou une technique équivalente.

Évaluation de la qualité de l'ADN : analyser 5 à 10 ng d'ADN génomique sur le système Agilent Fragment Analyzer™ en utilisant le kit HS large fragment 50 kb (DNF-464- 0500) ou l'équivalent. La qualité de l'ADN génomique est évaluée par le numéro de qualité de l'ADN (DQN). Réglez le seuil du DQN à 375 pb et extrayez le DQN pour vos échantillons d'ADN. Le traitement d'un échantillon sans mesure de DQN ou avec un DQN inférieur à 3 peut entraîner l'échec de la préparation de la bibliothèque. Un DQN supérieur ou égal à 3 ne permet pas d'exclure la présence d'autres problèmes de qualité dans l'échantillon d'ADN.

RECOMMANDATIONS SUR LES QUANTITES SOURCES

Nous recommandons l'utilisation de 50 ng d'ADN source, mais le protocole peut être utilisé sur une plage de 10 ng à 100 ng en ajustant le nombre de cycles PCR selon le tableau suivant :

CORRELATION ENTRE L ADN SOURCE ET NOMBRE DE CYCLES PCR REQUIS (SECTION 3.3.6 AMPLIFICATION DE LA LIBRAIRIE)			
Quantité d'ADN (ng)	$10 \leq n < 50$	50	$50 < n \leq 100$
Cycles PCR	10	8	8

Pour éviter des quantités d'ADN incorrectes, il est recommandé de procéder à une dilution initiale afin d'obtenir une concentration de l'ordre de 10 à 20 ng/μl. La concentration d'ADN doit être confirmée par une méthode de quantification fluorométrique (par exemple, Qubit®, Thermo Fisher), et la valeur obtenue doit être utilisée pour calculer la dilution finale.





3.3 Préparation de la librairie

3.3.1 Préparation du Matériel Source

Matériel

- ADN génomique (ADNg) extrait du sang , de la moelle osseuse , des tissus frais congelés (FF) , des tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine (ADN FFPE)
- Tampon IDTE pH 8,0
- Eau exempte de nucléase
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

Procédure

1. Préparer les bandes PCR suivantes en fonction du nombre de réactions :

NOMBRE DE REACTIONS	4	8	12	16	24	32	48
Type de bande PCR	4-tube	4-tube	4-tube	8-tube	8-tube	8-tube	8-tube
Nombre de barrettes	1	2	3	2	3	4	6

2. Préparer une dilution pour chaque échantillon d'ADN extrait dans le nombre approprié de bandes PCR, de la manière suivante : :

DILUTION D'ADN	
ADN	Quantité d'ADN (voir le tableau des recommandations relatives à l'apport d'ADN ci-dessus)
Tampon IDTE pH 8,0	Compléter à 40 µl

3. Mélanger brièvement en pipettant doucement de haut en bas 5 fois, puis centrifuger brièvement dans une microcentrifugeuse pour recueillir tout le liquide .



Arrêt de sécurité point pendant la nuit à 4 °C.



3.3.2 Pré-Mix et Préparation des Réactifs

Composants Et Réactifs

- Mélange d'enzymes de fragmentation
- Tampon de fragmentation
- Enzyme de ligation
- Tampon de ligation 5x
- SU-Adapter - Configuration pour adaptateurs Stubby
- SOPHiA GENETICS™ Adaptateurs CUMIN (appelés adaptateurs CUMIN™) - Configuration des adaptateurs CUMIN
- 96A Unique Dual Index Primer Plate in 96-well plate format
- Master Mix pour PCR 2x
- Eau exempte de nucléase
- Billes Agencourt® AMPure® XP
- Éthanol

Préparation

1. Retirer les composants SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep du stockage à -20 °C et les décongeler sur de la glace.
2. Retirer la plaque d'amorce 96A Unique Dual Index du stockage à -20 °C et la placer au réfrigérateur à 4 °C pour une utilisation ultérieure.
3. Retirer les billes Agencourt® AMPure® XP du stockage à 2-8 °C et les laisser s'équilibrer à température ambiante pendant au moins 30 minutes. Vortexer soigneusement les billes Agencourt® AMPure® XP pour assurer une remise en suspension correcte des billes avant de les utiliser dans toutes les étapes suivantes .
4. Préparer de l'éthanol frais à 80 % (volume comme suit, en fonction du nombre de réactions) :

VOLUMES D'ETHANOL 80%							
Nombre de de Réactions	4	8	12	16	24	32	48
éthanol à 80 % (ml)	10	10	20	20	30	40	50

5. S'assurer que le tampon de fragmentation du composant SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep est complètement décongelé.
6. Une fois que les composants SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep sont décongelés, mélanger les réactifs en inversant le tube 5 à 10 fois pour s'assurer qu'il ne reste pas de précipité et faire tourner brièvement dans une microcentrifugeuse. Placer sur de la glace.



Pré-Mixes

1. Préparez le **pré-mix de fragmentation** comme suit :

FRAGMENTATION PRÉ-MIX							
Nombre de Réactions	4	8	12	16	24	32	48
Tampon de fragmentation (µl)	19,2	38,4	57,6	76,8	115,2	153,6	230,4
Mélange d'enzymes de fragmentation (µl)	28,8	57,6	86,4	115,2	172,8	230,4	345,6

- Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas et centrifugez brièvement.
- Conserver dans la glace.

2. Préparez le **pré-mix de fragmentation** comme suit :

PRE-MIX DE LIGATION							
Nombre de Réactions	4	8	12	16	24	32	48
Tampon de ligation 5x (µl)	96	192	288	384	576	768	1152
Enzyme de ligation (en µl)	48	96	144	192	288	384	576
Eau exempte de nucléase (µl)	72	144	216	288	432	576	864

- Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas et centrifugez brièvement.
- Conservez sur de la glace.



Le Tampon de ligation 5x est très visqueux, pipeter doucement pour vous assurer d'obtenir un mélange homogène.



3.3.3 Fragmentation enzymatique, End Repair et A-Tailing

Matériel

- ADN double brin dilué dans 40 µl.
- Pré-mélange de fragmentation
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

Préparation

1. Programmez le thermocycleur pour la fragmentation avec les paramètres suivants :

	TEMPERATURE (°C)	TEMPS (MINUTES)
Couvercle	99	-
Étape 1	4	1
Étape 2	37	20
Étape 3	65	30
Maintien	4	∞

2. Démarrez le programme Fragmentation. Lorsque le bloc atteint l'étape 1 (4 °C), mettez le programme en pause.

Procédure



Toujours garder les échantillons et le pré-mix sur glace avant et après l'incubation pour bloquer la réaction enzymatique.



1. En fonction du nombre d'échantillons, procédez comme suit :

- Si vous traitez **4 échantillons** , passez à l'étape 2.
- Dans le cas du traitement de **8 échantillons ou plus**, pour faciliter le pipetage, créez un réservoir contenant le pré-mix de Fragmentation en ajoutant les volumes suivants à un nouvel ensemble de barrettes de 4 ou 8 tubes, comme suit :

NOMBRE DE REACTIONS	8	12	16	24	32	48
PCR bande type	4-tube	4-tube	8-tube	8-tube	8-tube	8-tube
Pré-mix de fragmentation (µl)	23	35	23	35	46	70

2. Assembler la réaction comme suit :

- À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 10 µl de pré-mix de Fragmentation à chacun des 40 µl d'échantillons d'ADN (soit un total de 50 µl dans des barrettes de 4 ou 8 tubes).
- À l'aide d'une pipette multicanaux configurée à 35 µl, mélangez soigneusement en pipettant 5 fois de haut en bas et en centrifugeant brièvement dans une microcentrifugeuse.

3. Placer dans le thermocycleur et poursuivre le programme de fragmentation.

4. Procéder immédiatement à la ligation.



3.3.4 Ligation

Matériel

- Produits de la réaction de fragmentation dans 50 µl chacun.
- Pré-mélange pour ligation
- SOPHiA GENETICS™ Adaptateurs CUMIN *OU* adaptateur SU (adaptateur stubby)
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

Recommandations pour SOPHiA GENETICS™ CUMIN Dx Adapters

Les adaptateurs CUMIN™ permettent d'apposer un code-barres moléculaire sur les molécules d'ADN sources. Ils (ou alternativement les adaptateurs Stubby) doivent être utilisés lors de l'étape de ligation de la SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep. La boîte d'adaptateurs SOPHiA GENETICS™ Dx Modular CUMIN contient 8 familles d'adaptateurs dans des tubes individuels. Ces familles doivent être utilisées d'une manière spécifique à la librairie, c'est-à-dire une seule famille d'adaptateurs CUMIN™ doit être associée à chaque échantillon. Le schéma de la figure 1 ci-dessous illustre l'utilisation recommandée des adaptateurs CUMIN™.



Figure 2 : Schéma illustrant la stratégie d'utilisation des adaptateurs CUMIN™ en fonction du nombre de réactions requises pour le kit de 48 réactions. Les carrés roses représentent les familles de CUMIN recommandées en fonction du nombre d'échantillons à traiter.

Lors de l'utilisation d'adaptateurs CUMIN™ dans un produit de type bundle solution, les statistiques spécifiques à l'échantillon incluront le pourcentage de reads prenant en charge chaque famille CUMIN™.



Il est essentiel qu'au cours d'un run de séquençage, les 8 familles CUMIN™ soient présentes au moins une fois dans le pool de librairies. Tout écart par rapport à cette règle entraînera l'échec du séquençage. Le traitement de nombres d'échantillons inférieurs avec des adaptateurs CUMIN™ nécessite l'ajout de 20 % de librairie PhiX à l'exécution du séquençage afin de garantir la diversité des nucléotides nécessaire à la réussite de la formation des clusters. Ainsi, lors de la mise en place de 12, 24 ou 48 préparations de librairies, une utilisation égale des adaptateurs CUMIN™ entre les expériences doit être envisagée afin d'éviter l'épuisement des stocks individuels. Le rendement de la densité des clusters et la qualité des bases ont été vérifiés à l'aide d'un séquenceur NextSeq® 2000. D'autres séquenceurs ont été testés avec succès au cours du développement du produit (voir 4.2 Limitation).



Préparation

1. Pendant la réaction Frag/ERAT, préparer de nouvelles barrettes PCR avec 5 µl d'adaptateurs Stubby OU d'adaptateurs CUMIN™ par tube selon le schéma suivant :

NOMBRE DE REACTIONS	4	8	12	16	24	32	48
Type de bandePCR	4-tube	4-tube	4-tube	8-tube	8-tube	8-tube	8-tube
Nombre de barrettes	1	2	3	2	3	4	6

2. Régler le thermocycleur à 20 °C (couvercle ouvert).

Procédure



Toujours garder les échantillons et le pré-mix sur glace avant et après l'incubation pour bloquer la réaction enzymatique.

1. En fonction du nombre d'échantillons, procédez comme suit :
 - Si vous traitez **4 échantillons**, passez à l'étape 2.
 - Si vous traitez **8 échantillons ou plus**, pour faciliter le pipetage, créez un réservoir de pré-mélange de ligature en ajoutant les volumes suivants à un nouveau jeu de barrettes de 4 ou 8 tubes selon le schéma suivant :

NOMBRE DE REACTIONS	8	12	16	24	32	48
PCR bande type	4-tube	4-tube	8-tube	8-tube	8-tube	2 x 8-tube
Pré-mix de ligature (µl)	100	150	100	150	200	150

2. À l'aide d'une pipette multicanaux, transférer les 50 µl de chaque produit de réaction de fragmentation dans les barrettes de 4 ou 8 tubes contenant 5 µl d'adaptateurs Stubby OU d'adaptateurs CUMIN™ conformément à la figure 2.
3. Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas et centrifugez brièvement.
4. À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 45 µl du pré-mix de ligation à chaque produit de la réaction de fragmentation (55 µl dans chaque tube de la barrette de 4 ou 8 tubes).
5. Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas et centrifugez brièvement.
6. Incuber dans le thermocycleur à 20 °C pendant 15 minutes (couvercle ouvert). Passer au nettoyage post ligation.



Ne pas placer la bande(s) sur glace à la fin de la ligation car cela pourrait diminuer la fixation de l'ADN aux billes.



3.3.5 Nettoyage Post-Ligation

Matériel

- Produits de la réaction de ligation dans 100 µl chacun
- Billes Agencourt® AMPure® XP équilibrées à température ambiante
- Éthanol fraîchement préparé à 80%
- Tampon IDTE pH 8,0
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

Procédure

1. A l'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 80 µl de billes Agencourt® AMPure® XP à chacun des 100 µl de produits de la réaction de ligation. Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas.
2. Incubez à température ambiante pendant 5 minutes et centrifugez pendant quelques instants si nécessaire.
3. Placez la barrette de 4 ou 8 tubes sur un support magnétique à 96 puits pendant 5 minutes ou jusqu'à ce que le liquide devienne transparent.
4. Éliminez avec précaution 170 µl de surnageant à l'aide d'une pipette multicanaux.

Garder les tubes sur le support magnétique pour les étapes suivantes.

5. Au moyen d'une pipette multicanaux, ajoutez 170 µl d'éthanol à 80 % aux billes. Incubez pendant 30 secondes à 1 minute.
6. Éliminez l'éthanol avec précaution en vous servant d'une pipette multicanaux.
7. Répétez les étapes 5 et 6 une fois.
8. Retirez l'éthanol résiduel en utilisant une pipette multicanaux P10 ou P20.
9. Séchez les billes à l'air libre à température ambiante pendant 5 minutes. Ne séchez pas trop les billes, cela pourrait diminuer la quantité d'ADN récupérée.

Retirer les tubes du support magnétique.

10. L'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 20 µl de tampon IDTE pH 8,0 aux billes. Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas et centrifugez brièvement.
11. Passer à l'amplification de la librairie.



3.3.6 Amplification de la librairie

Matériel

- Produits de la réaction de ligation et billes resuspendus dans 20 µl de tampon IDTE pH 8.0 chacun
- Master Mix pour PCR 2x
- plaque d'amorce unique à double index 96A

Préparation

1. Programmez le thermocycleur pour une amplification de bibliothèque avec les paramètres suivants :

	TEMPERATURE (°C)	TEMPS (SECONDES)	
Couvercle	99	-	
Étape 1 : dénaturation initiale	98	120	
Étape 2 : dénaturation	98	20	n* cycles
Étape 3 : Association	60	30	
Étape 4 : Extension	72	30	
Étape 5 : Extension finale	72	60	
Maintien	10	∞	

* Suivre le tableau 1 [3.2.2](#) DNA Input Recommendation pour déterminer le nombre de cycles PCR en fonction de la quantité de composés de départ.



Procédure

1. En fonction du nombre d'échantillons, procédez comme suit :

- Si vous traitez **4 échantillons** , passez à l'étape 2.
- Dans le cas du traitement de **8 échantillons ou plus**, pour faciliter le pipetage, créez un réservoir de pré-mix PCR 2x en ajoutant les volumes suivants dans un nouvel ensemble de barrettes de 4 ou 8 tubes, comme suit :

NOMBRE DE REACTIONS	8	12	16	24	32	48
PCR bande type	4-tube	4-tube	8-tube	8-tube	8-tube	8-tube
Master Mix pour PCR 2x (en µl)	60	85	60	85	120	170

2. Combinez les résultats comme suit :

- À l'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 5 µl de différentes amorces Unique Dual Index Primer par tube aux produits de ligation et aux billes, conformément à votre stratégie d'indexation.
- Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas et centrifugez brièvement.
- À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 25 µl de Master Mix 2x pour PCR aux produits de ligation et aux billes (25 µl dans des barrettes de 4 ou 8 tubes).
- Mélangez soigneusement en pipettant 10 fois de haut en bas et centrifugez brièvement.

3. Placez les tubes dans le thermocycleur et exécutez le programme Library Amplification.



Conseil : point d'arrêt de sécurité pendant la nuit à 4 °C.



3.3.7 Nettoyage post-amplification

Matériel

- Produits de la réaction PCR dans 50 µl chacun
- Billes Agencourt® AMPure® XP équilibrées à température ambiante
- Éthanol fraîchement préparé à 80%
- Eau exempte de nucléase
- Tubes à faible liaison d'ADN pour le stockage des bibliothèques

Procédure

1. L'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 50 µl de billes Agencourt® AMPure® XP à chaque 50 µl du produit PCR. Mélanger soigneusement en pipettant de haut en bas 10 fois.
2. Incubez à température ambiante pendant 5 minutes et centrifugez pendant quelques instants si nécessaire.
3. Placez les barrettes de 4 ou 8 tubes sur un support magnétique à 96 puits pendant 5 minutes ou jusqu'à ce que le liquide devienne transparent.
4. Eliminer soigneusement 90 µl de surnageant à l'aide d'une pipette multicanaux.

Garder les tubes sur le support magnétique pour les étapes suivantes.

5. Au moyen d'une pipette multicanaux, ajoutez 170 µl d'éthanol à 80 % aux billes. Laisser reposer les tubes pendant 30 secondes à 1 minute.
 6. Éliminez l'éthanol avec précaution en vous servant d'une pipette multicanaux.
 7. Répétez les étapes 5 et 6 une fois.
 8. Retirez l'éthanol résiduel en utilisant une pipette multicanaux P10 ou P20.
 9. Séchez les billes à l'air libre à température ambiante pendant 5 minutes. Ne séchez pas trop les billes, cela pourrait diminuer la quantité d'ADN récupérée.
- Retirer les tubes du support magnétique.**
10. L'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 30 µl d'eau exempte de nucléase aux billes. Mélanger soigneusement en pipettant vers le haut et vers le bas 10 fois. Incubez à température ambiante pendant 5 minutes et centrifugez pendant quelques instants si nécessaire.
 11. Placez la barrette de 4 ou 8 tubes sur un support magnétique à 96 puits pendant 5 minutes ou jusqu'à ce que le liquide devienne transparent.
 12. Transférer avec précaution 28 µl du surnageant dans un nouveau tube étiqueté de

stockage de librairie.  Conseil : point d'arrêt de sécurité pendant la nuit à 4 °C ou -20 °C pour un stockage prolongé.



3.3.8 Quantification des librairies individuelles et contrôle de la qualité

Matériel

- Matériel et réactifs pour la quantification fluorimétrique
- Système d'électrophorèse capillaire
- Eau exempte de nucléase
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

Procédure

1. Préparer une dilution en 4 fois de chaque librairie avec de l'eau exempte de nucléase (par exemple, 2 µl de librairie dans 6 µl d'eau exempte de nucléase).
2. Quantifier les librairies à l'aide d'une méthode fluorométrique (par exemple, quantification Qubit HS en utilisant 2 µl de la dilution 4x de la librairie préparée précédemment).
3. Contrôler la qualité des bibliothèques en analysant leur profil par électrophorèse capillaire. Les fragments d'ADN des librairies doivent avoir une distribution de tailles comprise entre 200 pb et 800 pb.

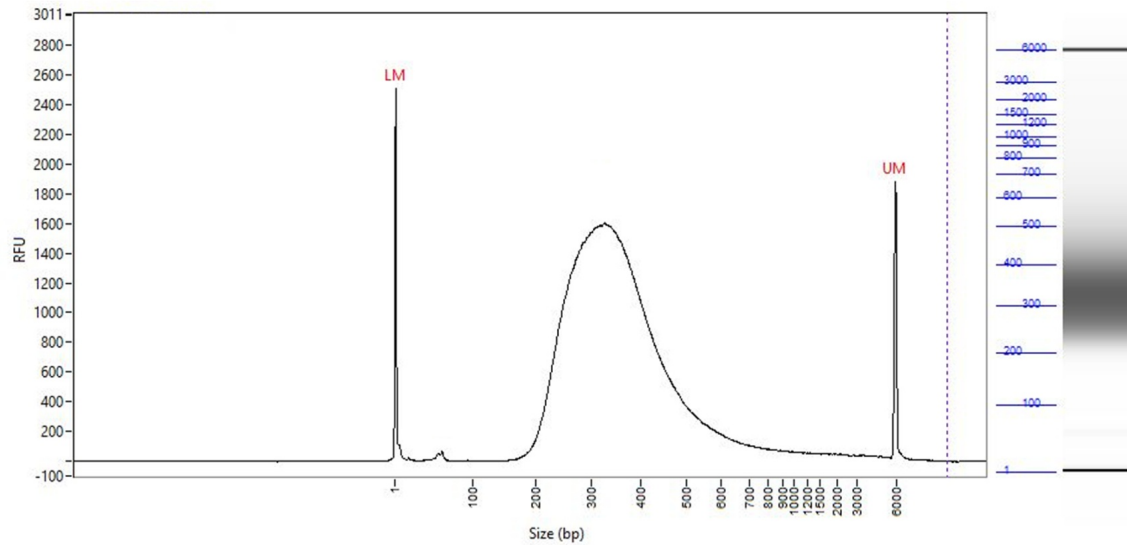


Figure 3. Exemple de distribution d'une librairie d'ADN obtenue avec le système d'électrophorèse capillaire Agilent Fragment Analyzer™ pour des **échantillons de sang frais congelé**. LM : Lower Marker (marqueur inférieur), UM : Upper Marker (marqueur supérieur).

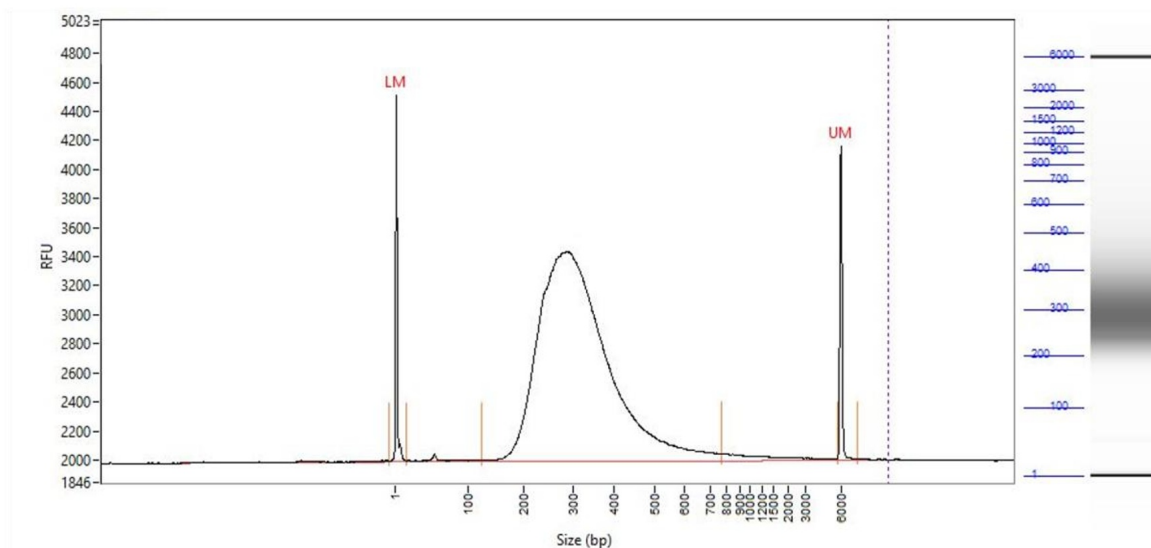


Figure 4. Exemple de distribution d'une librairie d'ADN obtenue avec le système d'électrophorèse capillaire Agilent Fragment Analyzer™ pour les **échantillons FFPE**. LM : Lower Marker (marqueur inférieur), UM : Upper Marker (marqueur supérieur).



3.4 Séquençage

3.4.1 Préparation au Séquençage

Matériel

- Réactifs de séquençage et flow cell Illumina®
- Librairies finales
- Tampon IDTE pH 8.0 ou similaire

Procédure

1. Déterminer la molarité de chaque pool de librairies en utilisant la taille moyenne de la librairie (taille du pic en paires de bases), la concentration de (ng/μl) obtenue lors de l'étape [3.3.8](#) Quantification et contrôle de qualité des librairies individuelles, et la formule suivante :

$$\text{Library molarity (nM)} = \frac{\text{Library concentration (ng/}\mu\text{l)}}{\text{Average size in base pairs} \times 649.5} \times 10^6$$

2. Diluer chaque pool à 4 nM.
3. Si vous traitez plusieurs pools de séquençage, mélangez-les en quantités égales (par exemple, 5 μl de chaque) et utilisez cette dilution à l'adresse conformément aux recommandations de dénaturation standard d'Illumina®.
4. Charger une dilution de X pM* des librairies dénaturées**.

* Pour plus de détails sur les dilutions, voir la section [9.1.3](#)

** La concentration de chargement et la dilution de la bibliothèque dépendent du séquenceur utilisé. Pour plus de détails, voir l'annexe IV .



4. Avertissements, limitations et précautions

4.1 Avertissements

1. Toutes les procédures de diagnostic développées pour être utilisées avec SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep doivent faire l'objet d'une validation complète couvrant tous les aspects de la performance. La validation doit porter sur le kit d'extraction d'ADN choisi, les réactifs supplémentaires éventuels, l'équipement, la plateforme de séquençage sélectionnée et le logiciel d'analyse.
2. Il a été observé que les appareils d'électrophorèse sur gel à haute résolution autres que le système Agilent Fragment Analyzer™ (par exemple, Agilent TapeStation) conduisaient à une estimation biaisée du DQN sur les échantillons d'ADN FFPE.
3. Les utilisateurs doivent vérifier que la qualité de leurs échantillons d'ADN répond aux critères minimaux de qualification, tels qu'ils sont énumérés à la section 3.2.2 Recommandation relative aux données d'entrée de l'ADN :
 - Pour les échantillons FFPE, DQN supérieur ou égal à 3 mesuré à l'aide du système Agilent Fragment Analyzer™
 - Pour les échantillons FF, les rapports d'absorbance entre 1,8 et 2,0 pour le rapport 260/280 nm et entre 1,6 et 2,4 pour le rapport 260/230
4. Un DQN supérieur ou égal à 3 et des rapports d'absorbance compris dans les fourchettes mentionnées au point 3 ne permettent pas d'exclure la présence d'autres problèmes de qualité dans les échantillons d'ADN.
5. Le traitement d'échantillons non qualifiés peut entraîner une qualité insuffisante des librairies de séquençage générées et des résultats erronés de la procédure de diagnostic.
6. Tout incident grave survenu en relation avec le SOPHiA GENETICS Dx Universal Library Prep doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

4.2 Limitations

1. Même si les recommandations relatives au multiplexage des échantillons sont suivies, la couverture de lecture obtenue dans la région d'intérêt peut être insuffisante pour une utilisation diagnostique sélectionnée pour diverses raisons, notamment : mauvaise qualité de l'échantillon, mauvaise qualité des données NGS, réactifs en aval de mauvaise qualité ou incompatibles, répartition inégale significative des lectures entre les échantillons multiplexés dans le même cycle et répartition biaisée de la profondeur de lecture dans les régions génomiques évaluées (par exemple, profondeur de lecture systématiquement plus faible dans les régions riches en AT).
2. La préparation des librairies a été validée pour l'ADN extrait du sang, de moelle osseuse, de culots cellulaires frais congelés et FFPE, et d'échantillons de tissu FFPE et séquencés sur Illumina® MiSeq®, NextSeq® 550, NextSeq® 2000 et NovaSeq 6000™.
3. Le séquençage des librairies NGS générées à l'aide de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep doit être effectué en utilisant une configuration de lecture 2x150 pb paired-end pour garantir une qualité de données et des performances de dosage optimales.
4. La stabilité des réactifs congelés a été vérifiée jusqu'à quatre cycles de congélation-décongélation

4.3 Précautions

1. Les normes et procédures de bonnes pratiques de laboratoire, en plus du respect strict de l'IFU, sont



nécessaires pour assurer une performance adéquate du produit. Tout écart par rapport aux instructions concernant la manipulation des échantillons, le protocole du laboratoire, le multiplexage et le séquençage peut avoir une incidence négative sur la qualité des données brutes de la NGS.

2. Des pièces distinctes pré- et post-PCR doivent être utilisées afin d'empêcher la contamination des échantillons d'ADN.
3. Utilisez des pipettes correctement étalonnées et un équipement de laboratoire approprié pour réaliser l'expérience.
4. Utiliser des pointes de pipette munies de filtres pour réduire le risque de contamination des échantillons et des réactifs.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs lors du prélèvement d'aliquotes dans les flacons de réactifs.
6. Ne pas mélanger des numéros de lots différents de réactifs.
7. Conserver et manipuler les réactifs conformément aux instructions figurant sur les boîtes des kits et dans le présent mode d'emploi. Les réactifs sont stables lorsqu'ils sont conservés comme indiqué jusqu'à la date de péremption spécifiée sur les étiquettes du kit. Ne pas utiliser de réactifs après la date de péremption.
8. Certains réactifs nécessitent des précautions de sécurité. Voir la section substances dangereuses pour plus de détails. Pour des informations plus spécifiques relatives à la sécurité, veuillez vous référer aux fiches de données de sécurité (FDS) correspondantes pour chaque composant du produit, disponibles sur le site web suivant : www.sophiagenetics.com/docs/
9. Les réactifs contenant des substances chimiques potentiellement dangereuses doivent être éliminés conformément aux directives de votre institution et aux réglementations locales et nationales.
10. L'utilisation, le stockage et l'élimination des composants du kit et des échantillons doivent être effectués conformément aux directives et réglementations nationales et locales en matière de sécurité contre les risques biologiques. Veiller au respect de toutes les procédures de sécurité et exigences réglementaires pertinentes afin de protéger le personnel et l'environnement.
11. Pour des raisons de sécurité, tous les échantillons humains, y compris le sang total, doivent être manipulés comme des échantillons potentiellement infectieux.
12. Évitez de toucher les surfaces chaudes des instruments utilisés pendant la procédure afin d'éviter les brûlures.
13. Stockez et utilisez tous les réactifs inflammables comme l'éthanol loin des flammes nues et des sources de chaleur afin d'éviter les risques d'incendie.
14. Les réactifs sont expédiés avec de la glace sèche (dioxyde de carbone solide) pour maintenir des températures basses. Manipulez la glace sèche avec précaution, en utilisant toujours des gants isolés et des lunettes de protection pour éviter les gelures en cas de contact. Ne pas toucher la glace sèche avec la peau nue. Veiller à une bonne ventilation lors de l'ouverture de conteneurs contenant de la glace carbonique. Ne pas inhaler le gaz libéré par la glace sèche. Conservez la glace sèche uniquement dans des récipients isolés qui ne sont pas hermétiques afin de permettre au gaz de s'échapper en toute sécurité.
15. N'utilisez pas des composants endommagés. Veuillez contacter le service d'assistance (voir les détails dans la section 8 Support) dès que vous recevez des composants endommagés.
16. La concentration d'EDTA recommandée dans le tampon de stockage de l'ADN est de 0,1 mM. Tout excédent d'EDTA dans les tampons de stockage d'échantillons peut affecter le traitement des échantillons.



5. Résolution des problèmes

Veillez vous référer au tableau suivant pour résoudre les problèmes potentiels qui peuvent survenir pendant le déroulement des opérations.

OBSERVATION	CAUSE POTENTIELLE	MESURES RECOMMANDÉES
Faible rendement de la bibliothèque	Quantité de matériel utilisé inférieure à celle recommandée Mauvaise qualité de l'échantillon d'ADN Réduction des performances de la réaction de fragmentation et de la réaction ERAT Réduction de la performance de la réaction de ligation Réduction de la performance de la réaction PCR Nettoyage inefficace des billes	Utiliser les quantités d'ADN recommandées et suivre les lignes directrices pour la qualification Vérifier l'exactitude des méthodes de quantification de l'ADN Vérifier que les réactifs ont été stockés et manipulés conformément aux recommandations du fabricant Remettre en suspension les billes paramagnétiques avant utilisation Utiliser de l'éthanol frais Travailler sur de la glace pour les étapes appropriées et utiliser des pipettes multicanaux comme indiqué
Distribution de la taille des librairies en dehors de la plage ciblée (200 pb - 800 pb)	Mauvaise qualité de l'échantillon d'ADN ADN source utilisée en dehors de la plage recommandée L'ADN et/ou les réactifs n'ont pas été préparés ou maintenus à 4 °C avant leur utilisation Mélange inadéquat des réactifs de fragmentation avec l'échantillon d'ADN	Suivre les recommandations pour la qualification de l'ADN Conserver l'ADNg dilué et les réactifs sur de la glace jusqu'à utilisation Vérifier que les réactifs sont bien décongelés avant utilisation Vérifier que les réactifs ont été stockés et manipulés conformément aux recommandations du fabricant Travailler sur de la glace pour les étapes appropriées et utiliser des pipettes multicanaux comme indiqué
Présence de dimères d'adaptateurs	Quantité de matériel ADN inférieure à celle recommandée Mauvaise qualité de l'échantillon d'ADN Nettoyage inefficace des billes	Utiliser les quantités d'ADN recommandées et suivre les lignes directrices pour la qualification Éviter de remettre en suspension les adaptateurs de ligation avec le pré-mélange de ligation avant de les mélanger avec le produit de la réaction de fragmentation Effectuer une étape de nettoyage supplémentaire (remarque : cela peut réduire le rendement de la librairie)



6. Caractéristiques de performance

6.1.1 Type de spécimen

Pour vérifier que SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep génère des librairies de séquençage de haute qualité pour tous les types d'échantillons prévus, la taille moyenne des fragments, le rendement des librairies et l'uniformité de la couverture ont été mesurés sur des librairies générées à l'aide de différents types d'échantillons. Les bibliothèques ont été préparées à partir de matériel ADN extrait du sang ou de divers tissus frais congelés (68 spécimens), tissus FFPE (83 spécimens) et tissus de moelle osseuse (12 spécimens). Pour tous les types d'échantillons utilisés, SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep a généré avec succès des librairies satisfaisant aux seuils d'acceptation prédéfinis.

6.1.2 Reproductibilité entre laboratoires

La reproductibilité inter-laboratoire a été évaluée à l'aide d'échantillons de référence caractérisés, d'origine germinale ou somatique, traités à l'aide du logiciel SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep par 6 et 3 sites indépendants respectivement. L'uniformité de la couverture et la taille des inserts ont été utilisées comme données analytiques pour ce test. Pour les deux types d'échantillons utilisés, SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep a satisfait aux seuils d'acceptation prédéfinis.

6.1.3 Quantité d'ADN d'entrée

Pour vérifier la performance de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep lors de l'utilisation de la plus faible quantité d'entrée recommandée, 24 échantillons ont été générés en utilisant 10 ng de matériel d'entrée isolé à partir d'un échantillon de référence FFPE. La préparation a été réalisée par 2 opérateurs sur un même site et effectuée sur 2 jours différents pour tenir compte de la reproductibilité intra-laboratoire. Le rendement, la taille et l'uniformité de la couverture de la librairie ont été utilisés comme indicateurs analytiques pour ce test. Tous les échantillons ont satisfait aux exigences de performance. Aucune réduction des performances n'a été observée lors de l'utilisation de la plus petite quantité d'ADN recommandée.

6.1.4 Reproductibilité en utilisant différents lots de réactifs

Pour vérifier la qualité et la robustesse de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep lors de l'utilisation de différents lots de réactifs, la reproductibilité d'un lot à l'autre a été évaluée. Les échantillons ont été traités avec 5 lots différents de réactifs de préparation de bibliothèques. Le rendement, la taille et l'uniformité de la couverture de la bibliothèque ont été utilisés comme indicateurs analytiques pour ce test. Tous les lots de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep ont satisfait aux exigences. Les variations entre les lots se sont révélées inférieures aux seuils acceptables prédéfinis pour tous les critères de contrôle de qualité.

6.1.5 Contamination croisée des échantillons

Pour évaluer la contamination croisée potentielle dans le SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep, des échantillons féminins ont été traités dans des puits adjacents d'une barrette de 8 tubes comme configuration de base. Deux autres bandes de 8 tubes, contenant chacune un mélange d'échantillons mâles et femelles répartis en damier, ont été traitées selon la même méthode que les configurations d'essai. Pour garantir une rigueur maximale dans l'évaluation de la contamination, l'apport le plus élevé recommandé pour l'ADN génomique a été utilisé pour chaque échantillon. La couverture du chromosome Y dans les échantillons féminins des plaques de test a été comparée à celle de la plaque de référence réservée aux femmes, et un échantillon a été considéré comme accepté si sa couverture du chromosome Y se situait dans la moyenne ± 3 écarts-types (ET) de la moyenne de référence. Tous les échantillons ont satisfait aux critères d'acceptation et aucune variation significative de la couverture du chromosome Y n'a été détectée entre les échantillons féminins de l'ensemble de test de contamination croisée et ceux de l'ensemble de base réservé aux femmes.



6.1.6 Substances interférentes

L'impact des interférents potentiels a été évalué en évaluant la performance du SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep en présence de substances interférentes endogènes et exogènes en utilisant à la fois des échantillons d'ADN dérivés du sang et du FFPE. Les concentrations d'essai ont été sélectionnées conformément à la norme CLSI EP37-ED1:2018, avec un supplément de 20 % pour garantir une marge de sécurité de l'essai. Le rendement, la taille et l'uniformité de la couverture de la bibliothèque ont été utilisés comme indicateurs analytiques pour ce test. Tous les échantillons ont satisfait aux exigences de performance, sans qu'aucune interférence n'affecte l'essai.

INTERFÉRANT (CONCENTRATION)	TYPE	TYPE D'ÉCHANTI LLON	NOMBRE DE RÉPLICATS	NOMBRE DE RÉPLICATS ÉCHOUÉES	RÉSULTATS
Albumine (72 mg/ml)	Endogène	Sang	10	0	Pas d'interférence
Hémoglobine (12 mg/ml)	Endogène	Sang	10	0	Pas d'interférence
Bilirubine conjuguée (0,5 mg/ml)	Endogène	Sang	10	0	Pas d'interférence
Triglycérides (18 mg/ml)	Endogène	Sang	10	0	Pas d'interférence
EDTA (9 mg/ml)	Exogène	Sang	10	0	Pas d'interférence
Hémoglobine (0,5 mg/ml)	Endogène	FFPE	10	0	Pas d'interférence
Éthanol (5 % du volume total)	Exogène	FFPE	10	0	Pas d'interférence
Protéinase K (0,6 mg/ml)	Exogène	FFPE	10	0	Pas d'interférence
Tampon de lavage 2 (1,875% du volume total)	Exogène	FFPE	10	0	Pas d'interférence



7. Symboles

SYMBOLE	TITRE
	Consulter le mode d'emploi
	Numéro de référence
	Code du lot (Numéro de lot)
	Attention
	Fabricant
	Date de fabrication
	Limite de température
	Date de péremption
	Marquage CE : Conformité européenne
	Dispositif médical pour diagnostic in vitro
	Importateur
	Représentant autorisé dans la Communauté Européenne/Union Européenne
	Contient suffisamment de réactifs pour <n> tests
	Porter des gants de protection
	Porter des lunettes de protection



	Porter une blouse de laboratoire
	Voir la section Avertissements et précautions
	Voir la section Avertissements et précautions



8. Assistance

En cas de difficulté d'utilisation du SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep , veuillez consulter la section dépannage du document ou contacter notre support en ligne par téléphone au +41 21 694 10 60, e-mail support@sophiagenetics.com ou notre [portail d'assistance à la clientèle](#). Veuillez consulter le site www.sophiagenetics.com pour plus d'informations. N'utilisez pas des composants endommagés. Contactez notre équipe d'assistance en cas de problème avec les kits.



9. Annexes

9.1 Annexe I : Plaques Unique Double Index Primer

9.1.1 96A Plaque d'amorçage unique à double index, 96- puits Plaque Format (7 µl Chacun) - Plaque A (IPdCUdIpA96)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	sgU DI- 1	sgU DI- 9	sgU DI- 17	sgU DI- 25	sgU DI- 33	sgU DI- 41	sgU DI- 49	sgU DI- 57	sgU DI- 65	sgU DI- 73	sgU DI- 81	sgU DI- 89
B	sgU DI- 2	sgU DI- 10	sgU DI- 18	sgU DI- 26	sgU DI- 34	sgU DI- 42	sgU DI- 50	sgU DI- 58	sgU DI- 66	sgU DI- 74	sgU DI- 82	sgU DI- 90
C	sgU DI- 3	sgU DI- 11	sgU DI- 19	sgU DI- 27	sgU DI- 35	sgU DI- 43	sgU DI- 51	sgU DI- 59	sgU DI- 67	sgU DI- 75	sgU DI- 83	sgU DI- 91
D	sgU DI- 4	sgU DI- 12	sgU DI- 20	sgU DI- 28	sgU DI- 36	sgU DI- 44	sgU DI- 52	sgU DI- 60	sgU DI- 68	sgU DI- 76	sgU DI- 84	sgU DI- 92
E	sgU DI- 5	sgU DI- 13	sgU DI- 21	sgU DI- 29	sgU DI- 37	sgU DI- 45	sgU DI- 53	sgU DI- 61	sgU DI- 69	sgU DI- 77	sgU DI- 85	sgU DI- 93
F	sgU DI- 6	sgU DI- 14	sgU DI- 22	sgU DI- 30	sgU DI- 38	sgU DI- 46	sgU DI- 54	sgU DI- 62	sgU DI- 70	sgU DI- 78	sgU DI- 86	sgU DI- 94
G	sgU DI- 7	sgU DI- 15	sgU DI- 23	sgU DI- 31	sgU DI- 39	sgU DI- 47	sgU DI- 55	sgU DI- 63	sgU DI- 71	sgU DI- 79	sgU DI- 87	sgU DI- 95
H	sgU DI- 8	sgU DI- 16	sgU DI- 24	sgU DI- 32	sgU DI- 40	sgU DI- 48	sgU DI- 56	sgU DI- 64	sgU DI- 72	sgU DI- 80	sgU DI- 88	sgU DI- 96



9.1.2 Index Séquences pour Les Unique Dual Index Primers

Le tableau ci-dessous liste les séquences de chaque index. Veuillez noter que lorsque vous utilisez les Sample Sheets manuelles, les instruments Illumina® suivants nécessitent l'**orientation inverse du complément** de la séquence i5 :

- NextSeq® 500/550
- NextSeq® 1000/2000 en mode autonome (feuille d'échantillons v1)
- HiSeq® 3000/4000/X
- NovaSeq™ 6000 avec kits de réactifs v1.5 et NovaSeq™ X/X Plus
- MiniSeq™ (sauf en cas d'utilisation avec des kits de réactifs rapides)
- iSeq™ 100

Tous les autres instruments Illumina® (par exemple, MiSeq®) et toutes les configurations d'instruments requièrent l'orientation **vers l'avant** i5.



Ces informations sont susceptibles d'être modifiées. Veuillez toujours consulter les pages d'assistance Illumina® pour obtenir les informations les plus récentes sur les systèmes de séquençage qui requièrent la séquence d'index i5 en orientation complémentaire directe ou inverse.

<https://support-docs.illumina.com/SHARE/AdapterSequences/Content/SHARE/AdapterSeq/Overview.htm>

INDEX	i5 SÉQUENCE (ORIENTATION SUPERIEURE)	SEQUENCE i5 (ORIENTATION COMPLEMENTAIRE INVERSE)	SEQUENCE i7
sgUDI-1	CGGTTCAA	TTGAACCG	GACTTCCT
sgUDI-2	TTCGTGAA	TTCACGAA	AGTCGATG
sgUDI-3	ATACCTGC	GCAGGTAT	CTGTCCAC
sgUDI-4	TGTAACCG	CGGTTACA	GCGAATTG
sgUDI-5	GCTTCGCT	AGCGAAGC	GGTGCTTA
sgUDI-6	GAACGATC	GATCGTTC	TCATAGGT
sgUDI-7	TGGCACCT	AGGTGCCA	ATGTCGCA
sgUDI-8	GACTGGCT	AGCCAGTC	CTCAAGTG
sgUDI-9	TCGGTTAT	ATAACCGA	TGAATCGT
sgUDI-10	ATGATCAC	GTGATCAT	TCGCCTTA
sgUDI-11	CATGACGA	TCGTCATG	GATGGAAC
sgUDI-12	CCAGCATG	CATGCTGG	ACGGTGGA
sgUDI-13	CGAGCATA	TATGCTCG	TCCTTGCG
sgUDI-14	CACTCGCA	TGCGAGTG	CTGCATGT
sgUDI-15	TCTAGTAC	GTACTIONA	AGCGGCAA
sgUDI-16	GTGCACGT	ACGTGCAC	CAAGTCGA
sgUDI-17	GGCATAGA	TCTATGCC	GCTACATC
sgUDI-18	AATCTTGG	CCAAGATT	TGAAGCAA
sgUDI-19	GATGCAAG	CTTGATC	GGTGGATA



sgUDI-20	GACTACTG	CAGTAGTC	TTGATGGC
sgUDI-21	CACGTGGA	TCCACGTG	GTGCATCT
sgUDI-22	CCGATGAG	CTCATCGG	CACTCAGC
sgUDI-23	ATGCGTCT	AGACGCAT	AGATCTGG



INDEX	SEQUENCE i5 (ORIENTATION SUPERIEURE)	SEQUENCE i5 (ORIENTATION COMPLÉMENTAIRE INVERSE)	SEQUENCE i7
sgUDI-24	TGATGCTC	GAGCATCA	TCTTGCAA
sgUDI-25	GTTAACGG	CCGTTAAC	CTCATTCA
sgUDI-26	ATACGGTA	TACCGTAT	TTCGAGCT
sgUDI-27	TTGCCATC	GATGGCAA	GCTCATAG
sgUDI-28	AGCCGTAC	GTACGGCT	AGAACCTC
sgUDI-29	CCGGTCTT	AAGACCGG	TTGACCGA
sgUDI-30	GAGTAACA	TGTTACTC	GACTGACA
sgUDI-31	CCAGGTTA	TAACCTGG	CACGTATC
sgUDI-32	CGTTAATG	CATTAACG	TCGAGCGA
sgUDI-33	GTTGGAAG	CTTCCAAC	TGCCACTC
sgUDI-34	AGGCTCGT	ACGAGCCT	AGTGCTGG
sgUDI-35	TACTCGAA	TTCGAGTA	GCATAGCT
sgUDI-36	TTCAGACC	GGTCTGAA	CTAGCGAG
sgUDI-37	TGAGTTCT	AGAACTCA	TACCGACC
sgUDI-38	TCATGATG	CATCATGA	ATGCTTGG
sgUDI-39	GAGGTCGA	TCGACCTC	GATCGGTT
sgUDI-40	CTGCATCG	CGATGCAG	CCGACTCA
sgUDI-41	AGTACAAG	CTTGTAAT	GGATACAT
sgUDI-42	TACTAGTC	GACTAGTA	ATGGTAGG
sgUDI-43	GTCGTATG	CATACGAC	ACCATAGC
sgUDI-44	CAAGGTAT	ATACCTTG	TGCGTCCA
sgUDI-45	ACGCAGGA	TCCTGCGT	AGACCTAT
sgUDI-46	TCGTGGCT	AGCCACGA	TCTTGCTG
sgUDI-47	ATTATCGC	GCGATAAT	CATCACTC
sgUDI-48	CGTACCAG	CTGGTACG	GTGAAGTA
sgUDI-49	GCTCACTG	CAGTGAGC	ACCAAGGA
sgUDI-50	CAGGATTG	CAATCCTG	CAGACCTG
sgUDI-51	GTCTAGTT	AACTAGAC	CGAGCAAC
sgUDI-52	TGAATGGC	GCCATTCA	TCTTGACT
sgUDI-53	ACGACAAT	ATTGTCGT	GACAATGG
sgUDI-54	GAACGCCA	TGGCGTTC	GTTCTACG



INDEX	i5 SÉQUENCE (ORIENTATION SUPERIEURE)	SEQUENCE i5 (ORIENTATION COMPLEMENTAIRE INVERSE)	SEQUENCE i7
sgUDI-55	CTGTCCTG	CAGGACAG	AACGCTGC
sgUDI-56	ATAAGGAC	GTCCTTAT	GGACATCA
sgUDI-57	TACATTCC	GGAATGTA	TTGAGCTC
sgUDI-58	GGTTAGCT	AGCTAACC	ACGTTGAG
sgUDI-59	CCTGCTGA	TCAGCAGG	CTTCAGGA
sgUDI-60	CCTCAATC	GATTGAGG	TGCCAACT
sgUDI-61	CGAAGAAT	ATTCTTCG	AGGTCATG
sgUDI-62	TAGTCGAG	CTCGACTA	TACTAGCA
sgUDI-63	ATCCTCAC	GTGAGGAT	GTAAGTGT
sgUDI-64	GCTGCAGT	ACTGCAGC	TGAGTTGA
sgUDI-65	GGCAATCG	CGATTGCC	CCTTAGAC
sgUDI-66	GCATCTTA	TAAGATGC	TATCGCCA
sgUDI-67	GTGCTGAA	TTCAGCAC	GCAGAACA
sgUDI-68	ATTGACGC	GCGTCAAT	AGGAATGC
sgUDI-69	GCCGCATT	AATGCGGC	CGTGAGGT
sgUDI-70	TGTAGTCA	TGACTACA	CAATTGAG
sgUDI-71	TCCTCCGA	TCGGAGGA	GGTCCTTC
sgUDI-72	CAATCGAG	CTCGATTG	TTCCGGCA
sgUDI-73	TAAGTCCG	CGGACTTA	ATGCCTGA
sgUDI-74	GGACAGTT	AACTGTCC	TCCAGGAC
sgUDI-75	TTGAGTGA	TCACTCAA	GCTGTCAC
sgUDI-76	CGTAACAT	ATGTTACG	CGACGATT
sgUDI-77	TACGCAGT	ACTGCGTA	TCGCAACG
sgUDI-78	ACCTGACC	GGTCAGGT	GAGTTGTA
sgUDI-79	CCACCTGA	TCAGGTGG	CGCTAAGG
sgUDI-80	TCACCGTG	CACGGTGA	TTGCGTGC
sgUDI-81	GTCTGGAA	TTCCAGAC	CAAGACTA
sgUDI-82	CGAACTCC	GGAGTTCG	CAATTGGT
sgUDI-83	AAGCTCAT	ATGAGCTT	ACTAGCAA
sgUDI-84	CTTGAACG	CGTTCAAG	GATCCACG
sgUDI-85	ATCGTAGA	TCTACGAT	GTCGCTTC



INDEX	i5 SÉQUENCE (ORIENTATION SUPERIEURE)	SEQUENCE i5 (ORIENTATION COMPLEMENTAIRE INVERSE)	SEQUENCE i7
sgUDI-86	TGACGATG	CATCGTCA	CCTAACGA
sgUDI-87	GCTGATAA	TTATCAGC	TGGCCACT
sgUDI-88	CTCATGTC	GACATGAG	ACAAGGTG
sgUDI-89	CGATGCGT	ACGCATCG	GACAGCAA
sgUDI-90	AAGACTCA	TGAGTCTT	AAGTTCGA
sgUDI-91	CGGTTGTC	GACAACCG	ACTCGCTC
sgUDI-92	ATCGCTAC	GTAGCGAT	GACGTAAAC
sgUDI-93	GATAGACG	CGTCTATC	TTGCCTGT
sgUDI-94	TGATCCGA	TCGGATCA	GGAGTCGA
sgUDI-95	CCTATTAG	CTAATAGG	CGGAATCG
sgUDI-96	CGCCACTT	AAGTGGCG	ACGTCGGT

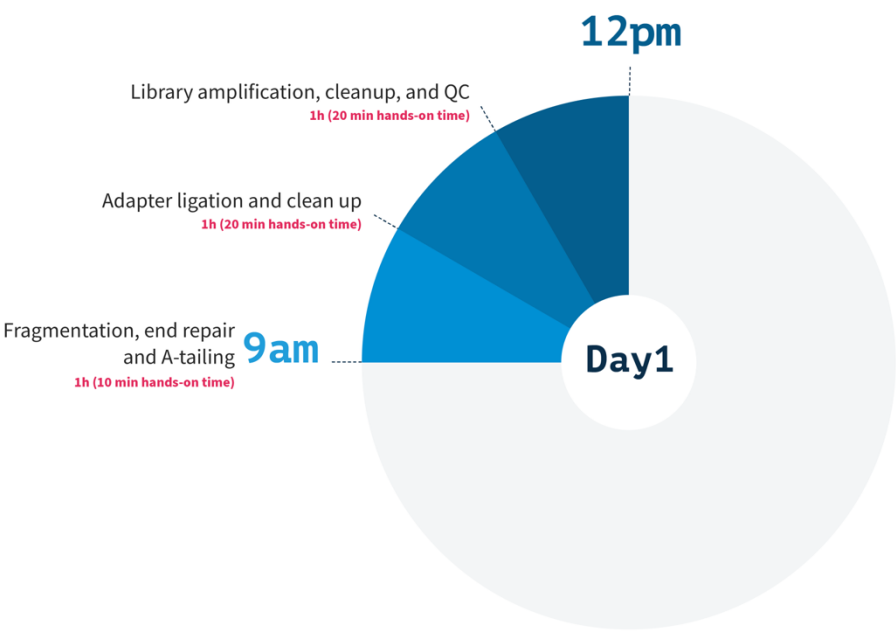


9.1.3 Chargement des Dilutions Pour Séquenceurs

TYPE DE SÉQUENCEUR	DILUTION DE CHARGEMENT
Illumina® NextSeq® 500/550	1.3 pM (Kit Mid-Output) 1.4 pM (kit haut débit) <i>Note : Ajuster la dilution (de 1,1 pM à 1,5 pM) en fonction du nombre de clusters obtenus lors du premier passage</i>
Illumina® NextSeq® 1000/2000	1000 pM (Dénaturation/dilution embarquée) 100 pM (Dénaturation/dilution manuelle) <i>Note : La dénaturation/dilution manuelle n'a pas été testée par SOPHiA : La dénaturation/dilution manuelle n'a pas été testée en interne par SOPHiA GENETICS</i>
Illumina® HiSeq®	10 pM
Illumina® MiSeq®	10 pM
Illumina® MiniSeq™	1.4 pM (kit standard) 1.6 pM (kit rapide)
Illumina® NovaSeq™ 6000	300 pM



9.2 Annexe II : Flux de travail général de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep



Préparation de librairies avec SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep



© SOPHiA GENETICS 2026. TOUS DROITS RÉSERVÉS.

Document Approvals
Approved Date: 27 Jan 2026

Approval Verdict: Approve	Jonathan Day, (jday@sophiagenetics.com) Regulatory Approval 27-Jan-2026 08:26:44 GMT+0000
QA Approval Verdict: Approve	Nora Kormos, Quality Specialist (nkormos@sophiagenetics.com) Quality Assurance Approval 27-Jan-2026 08:50:59 GMT+0000