

INSTRUCCIONES DE USO

16, 32, 48 y 96 muestras

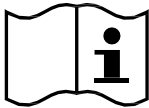
SOPHiA GENETICS™
Dx Universal Library Prep





INFORMACIÓN DE RESUMEN

Nombre de producto	SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep
Tipo de producto	Kit de preparación de bancos
Familia de productos	Kit molecular
Versión del producto	v1.0
Tipo de muestra	ADN genómico (ADNg) aislado de sangre, médula ósea, tejido congelado en fresco (CF), tejido fijado en formol e incluido en parafina (FFPE)
ID del documento	SG-08747
Versión del documento	v1.0
Fecha de modificación	Eneiro de 2026



Lea detenidamente las instrucciones de uso antes de utilizar este producto.



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



Para uso diagnóstico 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



CÓDIGOS DE PRODUCTO

Códigos de producto para SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – Configuración de Stubby Adapters

CÓDIGO COMPLETO DEL PRODUCTO	VERSIÓN DEL PRODUCTO
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

Códigos de producto para SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – Configuración de CUMIN™ Adapters

CÓDIGO COMPLETO DEL PRODUCTO	VERSIÓN DEL PRODUCTO
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 DEL COMPONENTE	NOMBRE DEL COMPONENTE
LIBRARY PREPARATION KIT BOX	SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep
BOX 1	SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box1
BOX 2	SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep - Box2
CUMIN BOX*	SOPHiA GENETICS™ Dx Modular CUMIN Adapters

*Componente suministrado únicamente con configuraciones de CUMIN™ Adapters

Códigos de componentes para SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – Configuración de Stubby Adapters

CÓDIGO COMPLETO DEL PRODUCTO	LIBRARY PREPARATION KIT BOX	BOX 1	BOX 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

Códigos de componentes para SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – configuración de CUMIN™ Adapters

CÓDIGO COMPLETO DEL PRODUCTO	LIBRARY PREPARATION KIT BOX	BOX 1	BOX 2	CUMIN BOX
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



DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

Este documento y su contenido son propiedad de SOPHiA GENETICS SA y sus filiales (en adelante, «SOPHiA GENETICS») y están destinados únicamente al uso contractual por su cliente en relación con el uso de los productos descritos en el presente documento y para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se debe utilizar ni distribuir para ningún otro fin ni comunicar, divulgar, reproducir ni referenciar de ninguna manera sin el consentimiento previo por escrito de SOPHiA GENETICS.

SOPHiA GENETICS no otorga por medio de este documento ninguna licencia en virtud de sus derechos de patentes, marca registrada, derechos de autor o de la legislación común ni similares de terceros. Las instrucciones de este documento se deben seguir de forma rigurosa y explícita por personal cualificado y con la formación adecuada para garantizar el uso correcto y seguro de los productos aquí descritos. Se debe leer y comprender en su totalidad todo el contenido de este documento antes de utilizar dichos productos.

NO LEER COMPLETAMENTE Y SEGUIR EXPLÍCITAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES CONTENIDAS EN EL PRESENTE DOCUMENTO PUEDE PROVOCAR DAÑOS EN LOS PRODUCTOS, LESIONES A LAS PERSONAS, INCLUIDOS LOS USUARIOS U OTRAS PERSONAS, Y DAÑOS MATERIALES.

SOPHiA GENETICS NO ASUMIRÁ NINGUNA RESPONSABILIDAD DERIVADA DEL USO INDEBIDO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS PARTES DE LOS MISMOS O SOFTWARE).

MARCAS REGISTRADAS

Illumina®, HiSeq®, NextSeq® y MiSeq® son marcas comerciales registradas de Illumina, Inc. NovaSeq™ es una marca comercial de Illumina, Inc.

y Agencourt® AMPure® XP son marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. Qubit® y Dynabeads® son marcas comerciales registradas de Thermo Fisher Scientific Inc.

SOPHiA GENETICS™ es una marca comercial de SOPHiA GENETICS SA y/o sus filiales en Estados Unidos y otros países. Todos los demás nombres, logotipos y marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. A MENOS QUE SE IDENTIFIQUE ESPECÍFICAMENTE COMO TAL, EL USO POR PARTE DE SOPHiA GENETICS DE MARCAS DE TERCEROS NO INDICA NINGUNA RELACIÓN, PATROCINIO NI APOYO ENTRE SOPHiA GENETICS Y LOS PROPIETARIOS DE DICHAS MARCAS. Cualquier referencia por parte de SOPHiA GENETICS a marcas de terceros es para identificar los correspondientes bienes y/o servicios de los mismos y se considerará uso justo nominativo según la ley de marcas.



HISTORIAL DE MODIFICACIONES

ID DEL DOCUMENTO/ VERSIÓN	FECHA	Versión de las Instrucciones de Uso equivalente en ingles	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
SG-08747 v1.0	Eneiro de 2026	SG-08540 v3.0	• Versión inicial



Índice

Índice	5
1. Finalidad prevista	6
2. Descripción general de los principios y el procedimiento del ensayo	7
3. Materiales y métodos	8
3.1 Materiales	8
3.1.1 Consideraciones iniciales	8
3.1.2 Contenido del kit (16, 32, 48 y 96 reacciones)	8
3.1.3 Sustancias peligrosas	11
3.1.4 Material requerido (no suministrado)	12
3.1.5 Recomendaciones sobre la muestra	13
3.1.6 Recomendación de aporte de ADN	13
3.2 Preparación de bancos	14
3.2.1 Preparación del material de aporte	14
3.2.2 Preparación de reactivos y premezclas	15
3.2.3 Fragmentación enzimática, Reparación de extremos y formación de picos con colas A	17
3.2.4 Unión	19
3.2.5 Purificación posterior a la unión	21
3.2.6 Amplificación de bancos	22
3.2.7 Purificación post-amplificación	23
3.2.8 Cuantificación de bancos individual y control de calidad	24
3.3 Secuenciación	26
3.3.1 Preparativos para la secuenciación	26
4. Advertencias, limitaciones y precauciones	27
4.1 Advertencias	27
4.2 Limitaciones	27
4.3 Precauciones	27
5. Resolución de problemas	29
6. Características de rendimiento	30
6.1.1 Tipo de muestra	30
6.1.2 Reproducibilidad entre laboratorios	30
6.1.3 Cantidad de aporte de ADN	30
6.1.4 Reproducibilidad utilizando diferentes lotes de reactivos	30
6.1.5 Contaminación entre muestras	30
6.1.6 Sustancias interferentes	31
7. Símbolos	32
8. Asistencia	34
9. Anexos	35
9.1 Anexo I: Placas de cebadores de indexado doble únicas	35
9.1.1 96A Unique Dual Index Primer Plate, formato de placa de 96 pocillos (7 µl cada uno) - Placa A (IPdCUdIpA96)	35
9.1.2 Secuencias indexadas para los cebadores de indexado doble únicos	35
9.1.3 Cargar diluciones para secuenciadores	40
9.2 Anexo II: Flujo de trabajo general de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep	41



1. Finalidad prevista

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep es un kit de reactivos utilizado para la preparación de bancos de secuenciación de nueva generación (SNG) a partir de ADN genómico aislado de células y tejidos humanos. Los bancos generados se pueden utilizar para plataformas de secuenciación posteriores.

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep es un conjunto de reactivos no automatizado destinado a ser utilizado como parte de un examen de diagnóstico in vitro desarrollado por el usuario por profesionales sanitarios con formación.



2. Descripción general de los principios y el procedimiento del ensayo

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep contiene todas las enzimas y los tampones asociados, así como las placas de índice y los adaptadores de unión necesarios para realizar el flujo de trabajo del usuario desde el ADN extraído hasta un banco de genoma completo no enriquecido, apto para el enriquecimiento y la secuenciación (**Figura 1**).

El producto SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep permite realizar los siguientes pasos:

1. Fragmentación, reparación de extremos y formación de picos con colas A: fragmentación enzimática del ADN y preparación de los extremos del ADN para la unión de adaptadores (Frag/ERAT en la **Figura 1**).
2. Unión de Stubby Adapter o SOPHiA GENETICS™ CUMIN Adapters (abreviados como CUMIN™ Adapters): unión de Stubby Adapters o CUMIN™ Adapters a fragmentos de ADN para prepararlos para su indexación y amplificación (unión en la **Figura 1**).
3. Indexación y amplificación: amplificación de los fragmentos de ADN unidos al adaptador con cebadores de PCR con código de barras para preparar el ADN para la secuenciación (PCR en la **Figura 1**).

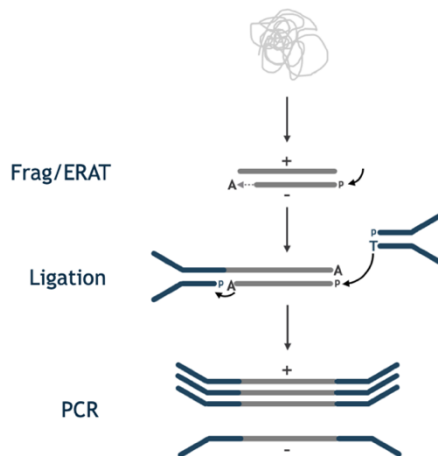


Figura 1: Descripción del flujo de trabajo del SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep.

3. Materiales y métodos

3.1 Materiales

3.1.1 Consideraciones iniciales

Una vez recibidos, asegúrese de que todos los tubos están físicamente intactos y de que se conservan a las temperaturas recomendadas para un rendimiento óptimo del kit. La manipulación y el almacenamiento inadecuados de los componentes del kit en otras condiciones pueden afectar negativamente a su calidad. Póngase en contacto con el fabricante (consulte la sección 8 ASISTENCIA para más detalles) si los componentes del kit llegaron dañados o se agotó el hielo seco.



El paquete de envío contiene hielo seco para la refrigeración. El hielo seco libera dióxido de carbono gaseoso. Asegúrese de que haya una ventilación adecuada durante el desembalaje. Evite el contacto directo con el hielo seco. Utilice equipo de protección que incluya bata de laboratorio, guantes aislantes y protección ocular durante la manipulación.



3.1.2 Contenido del kit (16, 32, 48 y 96 reacciones)



Voltee siempre de forma breve los tubos antes de su uso para recoger todo el líquido.

Dependiendo del formato del kit (número de reacciones que se pretende cubrir con el kit) y de la versión (configuración del kit con adaptadores STUBBY o CUMIN), se suministran los siguientes componentes:

COMPONENTE	NÚMERO DE REACCIONES EN FUNCIÓN DEL FORMATO DEL KIT			
	16 reacciones	32 reacciones	48 reacciones	96 reacciones
SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep	1 x 16 caja de reacciones	2 x 16 caja de reacciones	1 x 48 caja de reacciones	2 x 48 caja de reacciones
<i>Stubby Adapters configuration:</i> * SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep – Box 1	1 x 16 caja de reacciones	1 x 32 caja de reacciones	1 x 48 caja de reacciones	1 x 96 caja de reacciones
<i>CUMIN™ Adapters configuration:</i> SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep – Box 1	1 x 96 caja de reacciones	1 x 96 caja de reacciones	1 x 96 caja de reacciones	1 x 96 caja de reacciones
SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep – Box 2	1 x 16 caja de reacciones	1 x 32 caja de reacciones	1 x 48 caja de reacciones	2 x 48 caja de reacciones
<i>CUMIN™ Adapters configuration only:</i> SOPHiA GENETICS™ Dx Modular CUMIN Adapters	1 x 48 caja de reacciones	1 x 48 caja de reacciones	1 x 48 caja de reacciones	2 x 48 caja de reacciones

* SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep – Box 1 en la configuración de Stubby Adapters contiene 96A Unique Dual Index Primer Plate que admiten 96 reacciones



SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep (almacenar entre -25 °C y -15 °C)*

REACTIVO (COLOR DEL TAPÓN)	FORMATO DEL KIT				INGREDIENTES ACTIVOS
	16 reacciones	32 reacciones*	48 reacciones	96 reacciones*	
PCR Master Mix 2x (tapón blanco)	520 µl	2 x 520 µl	1560 µl	2 x 1560 µl	La Master Mix incluye ADN polimerasa, tampón de reacción, dNTPs y MgCl ₂
Fragmentation Buffer (tapón marrón)	77 µl	2 x 77 µl	231 µl	2 x 231 µl	Solución acuosa tamponada que contiene cloruro de tetrametilamonio
Fragmentation Enzyme Mix (tapón marrón)	116 µl	2 x 116 µl	346 µl	2 x 346 µl	Mezcla de enzimas de fragmentasa y agentes tamponadores
Ligation Enzyme (tapón morado)	192 µl	2 x 192 µl	576 µl	2 x 576 µl	Mezcla de enzimas de unión y agentes tamponadores
Ligation Buffer 5x (tapón morado)	384 µl	2 x 384 µl	1153 µl	2 x 1153 µl	Tampón premezclado para la reacción de unión del ADN

* Para el formato del kit de 32 reacciones (32rx), se suministran dos cajas de 16 reacciones.

* Para el formato del kit de 96 reacciones (96rx), se suministran dos cajas de 48 reacciones.



Consulte la sección 3.1.3 Sustancias peligrosas para más detalles sobre las sustancias peligrosas incluidas en los reactivos.

SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep – Box 1 (almacenar entre +2 °C y +8 °C)

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – Configuración de Stubby Adapters:

REACTIVO (COLOR DEL TAPÓN)	FORMATO DEL KIT				INGREDIENTES ACTIVOS
	16 reacciones	32 reacciones	48 reacciones	96 reacciones	
SU-Adapter (tapón azul)	110 µl	220 µl	320 µl	650 µl	Adaptadores Stubby Universal, grupo de oligonucleótidos
96A Unique Dual Index Primer Plate [Plate A]	Formato de 1 placa de 96 pocillos (7 µl de cebador por pocillo)				Grupo de oligonucleótidos, consulte el Anexo I para obtener información sobre la disposición de las placas y las secuencias de los cebadores

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – Configuración de CUMIN Adapters:

REACTIVO*	FORMATO DEL KIT				INGREDIENTES ACTIVOS
	16 reacciones	32 reacciones	48 reacciones	96 reacciones	
96A Unique Dual Index Primer Plate [Plate A]	Formato de 1 placa de 96 pocillos (7 µl de cebador por pocillo)				Grupo de oligonucleótidos, consulte el Anexo I para obtener información sobre la disposición de las placas y las secuencias de los cebadores

*En caso de configuración con CUMIN™ Adapters, los adaptadores se suministran en una caja aparte



SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Library Prep – Box 2 (almacenar entre +2 °C y +8 °C)

REACTIVO (COLOR DEL TAPÓN)	FORMATO DEL KIT				INGREDIENTES ACTIVOS
	16 reacciones	32 reacciones	48 reacciones	96 reacciones *	
Agencourt® AMPure® XP (tapón transparente)	3 x 1,5 ml	7,2 ml	9,2 ml	2 x 9,2 ml	Gránulos paramagnéticos suspendidos en una solución tamponada.
IDTE Buffer pH 8.0 (tapón transparente)	10 ml	10 ml	10 ml	2 x 10 ml	Solución de Tris-HCl 10 mM, EDTA 0,1 mM
Nuclease Free Water (tapón transparente)	20 ml	20 ml	20 ml	2 x 20 ml	Agua libre de nucleasas

* Para el formato del kit de 96 reacciones (96rx), se suministran dos kits de 48 reacciones.

SOPHiA GENETICS™ Dx Modular CUMIN Adapters (almacenar entre -25 °C y -15 °C)

SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep – Configuración de CUMIN Adapters:

REACTIVO (COLOR DEL TAPÓN)	FORMATO DEL KIT				INGREDIENTES ACTIVOS
	16 reacciones	32 reacciones	48 reacciones	96 reacciones	
CUMIN family "A" (tapón naranja)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos
CUMIN family "B" (tapón rosa)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos
CUMIN family "C" (tapón rojo)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos
CUMIN family "D" (tapón amarillo)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos
CUMIN family "E" (tapón marrón)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos
CUMIN family "F" (tapón verde)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos
CUMIN family "G" (tapón azul)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos
CUMIN family "H" (tapón morado)	36 µl	36 µl	36 µl	2x36 µl	Grupo de oligonucleótidos



3.1.3 Sustancias peligrosas

Ficha de datos de seguridad disponible previa solicitud y en línea en el siguiente sitio web: www.sophiagenetics.com/docs/

NOMBRE DEL REACTIVO	PICTOGRAMA AMA CLP	DECLARACIONES DE PELIGRO	PALABRA DE ADVERTENCIA	SUSTANCIA PELIGROSA
Fragmentation Buffer y PCR Master Mix 2x	 	H302 Nocivo en caso de ingestión. H370 Provoca daños en los órganos. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 Evitar su liberación al medio ambiente. P260 No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P270 No comer, beber ni fumar durante su utilización. P264 Lavarse...concienzudamente tras la manipulación P308 + P311 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P301 + P312, P330 EN CASO DE INGESTIÓN: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico si la persona se encuentra mal. Enjuagarse la boca. P405 Guardar bajo llave. P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con toda la normativa local, regional, nacional e internacional.	Advertencia	Cloruro de tetrametilamonio [CAS 75-57-0] 1-3 %



Utilice equipo de protección, incluida protección ocular, guantes y bata de laboratorio para reducir el riesgo de exposición





3.1.4 Material requerido (no suministrado)

Materiales suministrados por el usuario (se deben adquirir por separado)

Material de plástico de laboratorio

- Tubos de baja unión de ADN de 1,5 ml
- Tubos cónicos de 50 ml
- Puntas con filtro
- Tubos de 1,5 ml
- Tiras de 8 tubos de 0,2 ml sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa

Reactivos

- Etanol (grado de biología molecular)

Otra

- Hielo para garantizar que los reactivos y las premezclas se mantengan a 4 °C
- Reactivos de secuenciación Illumina® y cubetas de lectura

Equipo de laboratorio

Para evitar la contaminación de las muestras, separe el espacio de trabajo en:

- *Área pre-PCR*
 - Equipo y reactivos para la determinación cuantitativa fluorométrica (p. ej., Qubit® o similar)
 - Soporte de separador magnético (de 96 pocillos)
 - Pipetas multicanal (P10 o P20; P100; P200) con puntas con filtro adecuadas
 - Microcentrifugadora de mesa (compatible con tiras de 8 tubos)
 - Termociclador (tapa calefactada programable; compatible con tubos de PCR de 0,2 ml)
 - Agitador tipo vórtex
- *Área post-PCR*
 - Sistema de electroforesis capilar
 - Equipo y reactivos para la determinación cuantitativa fluorométrica (p. ej., Qubit® o similar)
 - Soporte de separador magnético (de 96 pocillos)
 - Pipetas multicanal (P10 o P20; P100; P200) con puntas con filtro adecuadas
 - Microcentrifugadora de mesa (compatible con tiras de 8 tubos)
 - Termociclador (tapa calefactada programable; compatible con tubos de PCR de 0,2 ml)
 - Agitador tipo vórtex



3.1.5 Recomendaciones sobre la muestra

Siga los requisitos de recogida, transporte y almacenamiento de muestras aplicables al tipo de muestra y al método de extracción de ADN elegido. Puede utilizarse cualquier método de extracción validado que permita obtener muestras de ADN que cumplan los requisitos indicados en la recomendación de aporte. El ADN purificado se debe transportar y almacenar en condiciones adecuadas, de acuerdo con las recomendaciones proporcionadas por el fabricante del kit de extracción de ADN. Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.

3.1.6 Recomendación de aporte de ADN

El ADN destinado a SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep debe evaluarse antes de su uso. La integridad, concentración y pureza del ADN son factores críticos que influyen directamente en la calidad del ensayo. Utilice cualquier método validado de extracción de ácidos nucleicos que garantice una recuperación eficaz del ADN y mantenga la calidad de la muestra.

RECOMENDACIONES SOBRE LA CALIDAD DEL APORTE

ADN EXTRAÍDO DE TEJIDO, SANGRE O MÉDULA ÓSEA CONGELADOS EN FRESCO: La pureza del ADN se puede evaluar con un espectrofotómetro UV. La relación de absorbancia recomendada es de entre 1,8-2,0 para la relación 260/280 nm y de 1,6-2,4 para 260/230. Las relaciones de absorbancia fuera de los intervalos mencionados anteriormente pueden dar lugar a un fallo en la preparación de bancos o a reducir su rendimiento.

ADN EXTRAÍDO DE TEJIDO FFPE: La calidad del ADN extraído de FFPE es variable y puede afectar negativamente al rendimiento del ensayo. La exposición a formol daña la integridad de la molécula provocando la fragmentación del ADN. También induce a artefactos de secuenciación debido a eventos de desaminación. Se recomienda confirmar la integridad de la muestra mediante electroforesis capilar o una técnica equivalente.

Evaluación de la calidad del ADN: analice 5-10 ng de ADN genómico en el Agilent Fragment Analyzer™ System con el kit de 50 kb de fragmentos grandes de alta sensibilidad (DNF-464- 0500) o equivalente. La calidad del ADN genómico se evalúa según el número de calidad de ADN (DQN, por sus siglas en inglés). Defina el umbral del DQN en 375 bp y extraiga el DQN para sus muestras de ADN. Procesar una muestra sin medir el DQN o con un DQN inferior a 3 podría derivar en un fallo en la preparación de bancos. Un DQN mayor o igual que 3 no descarta la presencia de otros problemas de calidad en la muestra de ADN.

RECOMENDACIONES SOBRE LA CANTIDAD DEL APORTE

Se recomienda un aporte de 50 ng de ADN; sin embargo, el protocolo admite un rango de 10 a 100 ng, ajustando el número de ciclos de PCR según la siguiente tabla:

CORRELACIÓN ENTRE EL APORTE DE ADN Y LOS CICLOS DE PCR REQUERIDOS (SECCIÓN 3.2.6 AMPLIFICACIÓN DE BANCOS)			
Cantidad de ADN (ng)	$10 \leq n < 50$	50	$50 < n \leq 100$
Número de ciclos de PCR	10	8	8

Para cantidades incorrectas de aporte de ADN, se recomienda utilizar una dilución inicial para obtener una concentración en el intervalo de 10-20 ng/μl. La concentración de ADN se debe confirmar mediante un método de cuantificación fluorométrica (p. ej., Qubit®, Thermo Fisher) y el valor obtenido se debe utilizar para calcular la dilución final.



3.2 Preparación de bancos

3.2.1 Preparación del material de aporte

Materiales

- ADN genómico (ADNg) extraído de sangre, médula ósea, tejido congelado en fresco (CF), tejido fijado en formol e incluido en parafina (ADN de FFPE)
- IDTE Buffer pH 8.0
- Nuclease Free Water
- Tiras de 8 tubos de 0,2 ml sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa

Procedimiento

1. Prepare las siguientes tiras de PCR de acuerdo al número de reacciones:

NÚMERO DE REACCIONES	4	8	12	16	24	32	48
Tipo de tira de PCR	De 4 tubos	De 4 tubos	De 4 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos
Número de tiras	1	2	3	2	3	4	6

2. Prepare una dilución de cada muestra de ADN extraído en el número adecuado de tiras de PCR, de la siguiente manera:

DILUCIÓN DE ADN	
ADN	Cantidad de ADN (véase la tabla anterior sobre recomendaciones de aporte de ADN)
IDTE Buffer pH 8.0	Completo hasta 40 µl

3. Mezcle brevemente pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces, seguido de un breve ciclo en una microcentrifugadora para acumular todo el líquido.



Punto de parada seguro durante la noche a 4 °C.



3.2.2 Preparación de reactivos y premezclas

Componentes y reactivos

- Fragmentation Enzyme Mix
- Fragmentation Buffer
- Ligation Enzyme
- Ligation Buffer 5x
- SU-Adapter - Configuración de Stubby Adapters
- SOPHiA GENETICS™ CUMIN Adapters (denominados CUMIN™ Adapters) - Configuración de CUMIN Adapters
- 96A Unique Dual Index Primer Plate en formato de placa de 96 pocillos
- PCR Master Mix 2x
- Nuclease Free Water
- Gránulos Agencourt® AMPure® XP
- Etanol

Preparación

1. Retire los componentes de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep del lugar de almacenamiento a -20 °C y descongélelos en hielo.
2. Retire la 96A Unique Dual Index Primer Plate del lugar de almacenamiento a -20 °C y colóquela en el frigorífico a 4 °C para su uso posterior.
3. Retire los gránulos Agencourt® AMPure® XP del almacenamiento a 2-8 °C y deje que se equilibren a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos. Mezcle bien con una agitadora tipo vórtex los gránulos Agencourt® AMPure® XP a fin de garantizar la resuspensión adecuada de los gránulos antes de su uso en todos los pasos posteriores.
4. Prepare etanol puro al 80 % (volumen según el siguiente esquema en función del número de reacciones):

VOLÚMENES DE ETANOL AL 80 %							
Número de reacciones	4	8	12	16	24	32	48
Etanol al 80 % (ml)	10	10	20	20	30	40	50

5. Asegúrese de que el Fragmentation Buffer del componente SOPHiA GENETICS™ Dx Modular Universal Library Prep está completamente descongelado.
6. Una vez descongelados los componentes de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep, mezcle los reactivos invirtiendo el tubo de 5 a 10 veces para garantizar que no queden precipitados y hágalo girar brevemente en una microcentrifugadora. Colóquelo en hielo.



Premezclas

1. Prepare la **premezcla de fragmentación** de la siguiente manera:

PREMEZCLA DE FRAGMENTACIÓN							
Número de reacciones	4	8	12	16	24	32	48
Fragmentation Buffer (µl)	19,2	38,4	57,6	76,8	115,2	153,6	230,4
Fragmentation Enzyme Mix (µl)	28,8	57,6	86,4	115,2	172,8	230,4	345,6

- Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces y haga girar brevemente.
- Conserve en hielo.

2. Prepare la **premezcla de unión** de la siguiente forma:

PREMEZCLA DE UNIÓN							
Número de reacciones	4	8	12	16	24	32	48
Ligation Buffer 5x (µl)	96	192	288	384	576	768	1152
Ligation Enzyme (µl)	48	96	144	192	288	384	576
Nuclease Free Water (µl)	72	144	216	288	432	576	864

- Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces y haga girar brevemente.
- Conserve en hielo.



El Ligation Buffer 5x es muy viscoso, pipetee suavemente y asegúrese de obtener una premezcla de unión homogénea.



3.2.3 Fragmentación enzimática, Reparación de extremos y formación de picos con colas A

Materiales

- ADN bicatenario diluido en 40 µl
- Premezcla de fragmentación
- Tiras de 8 tubos de 0,2 ml sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa

Preparación

1. Programe el termociclador para la fragmentación con los siguientes ajustes:

	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (MINUTOS)
Tapa	99	-
Paso 1	4	1
Paso 2	37	20
Paso 3	65	30
Espera	4	∞

2. Inicie el programa de fragmentación. Cuando el bloque alcance el paso 1 (4 °C), pause el programa.

Procedimiento



Conserve siempre en hielo las muestras y la premezcla antes y después de la incubación para bloquear la reacción enzimática.



1. En función del número de muestras, proceda de la siguiente manera:

- Si se procesan **4 muestras**, continúe con el paso 2.
- Si se procesan **8 o más muestras**, para facilitar el pipeteo, cree un reservorio de la premezcla de fragmentación añadiendo los siguientes volúmenes a un nuevo conjunto de tiras de 4 u 8 tubos de acuerdo al siguiente esquema:

NÚMERO DE REACCIONES	8	12	16	24	32	48
Tipo de tira de PCR	De 4 tubos	De 4 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos
Premezcla de fragmentación (μl)	23	35	23	35	46	70

2. Componga la reacción de la siguiente forma:

- Con una pipeta multicanal, añada 10 μl de la premezcla de fragmentación a cada 40 μl de muestras de ADN (en total, 50 μl en tiras de 4 u 8 tubos).
- Con una pipeta multicanal ajustada a 35 μl, mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 5 veces y hágalas girar brevemente en una microcentrifugadora.

3. Colóquelas en un termociclador y continúe con el programa de fragmentación.

4. Continúe de inmediato con la unión.



3.2.4 Unión

Materiales

- Productos de reacción de fragmentación en 50 µl cada uno
- Premezcla de unión
- SOPHiA GENETICS™ CUMIN Adapters *O BIEN* SU-Adapter (Stubby Adapters)
- Tiras de 8 tubos de 0,2 ml sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa

Recomendaciones de los SOPHiA GENETICS™ CUMIN Dx Adapters

Los CUMIN™ Adapters permiten la lectura de códigos de barras moleculares de las moléculas de aporte de ADN. Deben utilizarse (o, como alternativa, los Stubby Adapters) durante el paso de unión de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep. La caja SOPHiA GENETICS™ Dx Modular CUMIN Adapters contiene 8 familias de adaptadores en tubos individuales. Estas familias deben utilizarse de forma específica para cada banco, es decir, solo se debe unir una familia de CUMIN™ Adapters a cada muestra. El esquema de la Figura 1 que aparece a continuación ilustra el uso recomendado de los CUMIN™ Adapters.



Figura 2: Esquema que ilustra la estrategia de utilización de los CUMIN™ Adapters en función del número de reacciones necesarias para el kit de 48 reacciones. Los cuadrados rosas representan las familias CUMIN que se recomiendan en función del número de muestras que se procesen.

Cuando utilice CUMIN™ Adapters en un producto de solución combinada, las estadísticas específicas de la muestra incluirán el porcentaje de lecturas compatibles con cada familia CUMIN™.



Es esencial que, en una misma secuenciación, las 8 familias CUMIN™ estén presentes al menos una vez en el grupo de bancos. Cualquier desviación de esto provocará un fallo en la secuenciación. El procesamiento de un menor número de muestras con CUMIN™ Adapters requiere la adición de un 20 % del banco PhiX a la secuenciación para garantizar la diversidad de nucleótidos necesaria para la formación satisfactoria de clústeres. Por lo tanto, al configurar 12, 24 o 48 preparaciones de bancos, debe tenerse en cuenta el uso equitativo de los CUMIN™ Adapters en todos los experimentos para evitar la reducción de las existencias individuales. El rendimiento de la densidad de clústeres y la calidad de las bases se verificaron con un secuenciador NextSeq® 2000. Durante el desarrollo del producto se probaron satisfactoriamente otros secuenciadores (consulte la sección 4.2 Limitaciones).

Preparación

1. Durante la reacción Frag/ERAT, prepare nuevas tiras de PCR con 5 µl de Stubby Adapters *O BIEN* CUMIN™ Adapters por tubo según el siguiente esquema:

NÚMERO DE REACCIONES	4	8	12	16	24	32	48
Tipo de tira de PCR	De 4 tubos	De 4 tubos	De 4 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos
Número de tiras	1	2	3	2	3	4	6



- Ajuste el termociclador a 20 °C (con la tapa abierta).

Procedimiento



Conserve siempre en hielo las muestras y la premezcla antes y después de la incubación para bloquear la reacción enzimática.

- En función del número de muestras, proceda de la siguiente manera:
 - Si se procesan **4 muestras**, continúe con el paso 2.
 - Si se procesan **8 o más muestras**, para facilitar el pipeteo, cree un reservorio de la premezcla de unión añadiendo los siguientes volúmenes a un nuevo conjunto de tiras de 4 u 8 tubos de acuerdo al siguiente esquema:

NÚMERO DE REACCIONES	8	12	16	24	32	48
Tipo de tira de PCR	De 4 tubos	De 4 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	2 x 8 tubos
Premezcla de unión (µl)	100	150	100	150	200	150

- Con una pipeta multicanal, transfiera los 50 µl de cada producto de reacción de fragmentación a las tiras de 4 u 8 tubos con 5 µl de Stubby Adapters O BIEN CUMIN™ Adapters de acuerdo con la Figura 2.
- Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces y haga girar brevemente.
- Con una pipeta multicanal, añada 45 µl de la premezcla de unión a cada producto de reacción de fragmentación (55 µl en cada tubo de la tira de 4 u 8 tubos).
- Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces y haga girar brevemente.
- Deje incubar en el termociclador a 20 °C durante 15 minutos (con la tapa abierta). Proceda a la limpieza posterior a la unión.



No coloque las tiras en hielo al final de la unión, ya que puede disminuir la unión del ADN a los gránulos.



3.2.5 Purificación posterior a la unión

Materiales

- Productos de reacción de unión en 100 µl cada uno
- **Gránulos Agencourt® AMPure® XP** equilibrados a temperatura ambiente
- Etanol 80 % recién preparado
- IDTE Buffer pH 8.0
- Tiras de 8 tubos de 0,2 ml sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa

Procedimiento

1. Con una pipeta multicanal, añada 80 µl de gránulos Agencourt® AMPure® XP a cada 100 µl de productos de reacción de unión. Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces.
2. Deje incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos y haga girar brevemente, si es necesario.
3. Coloque la tira de 4 u 8 tubos en un soporte magnético con formato de placa de 96 pocillos durante 5 minutos o hasta que el líquido sea transparente.
4. Deseche con cuidado 170 µl de sobrenadante con una pipeta multicanal.

Mantenga los tubos en el soporte magnético durante los siguientes pasos.

5. Con una pipeta multicanal, añada a los gránulos 170 µl de etanol al 80 %. Deje incubar entre 30 segundos y 1 minuto.
6. Deseche con cuidado el etanol con una pipeta multicanal.
7. Repita una vez los pasos 5 y 6.
8. Retire el etanol remanente con una pipeta multicanal P10 o P20.
9. Deje secar al aire los gránulos a temperatura ambiente durante 5 minutos. No seque en exceso los gránulos porque podría disminuir la cantidad de ADN recuperado.

Retire los tubos del soporte magnético.

10. Con una pipeta multicanal, añada a los gránulos 20 µl de IDTE Buffer pH 8.0. Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces y haga girar brevemente.
11. Continúe con la amplificación de bancos.



3.2.6 Amplificación de bancos

Materiales

- Productos de la reacción de unión y gránulos resuspendidos en 20 µl de IDTE Buffer pH 8.0 cada uno
- PCR Master Mix 2x
- 96A Unique Dual Index Primer Plate

Preparación

1. Programe el termociclador para la amplificación de bancos con los siguientes ajustes:

	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (SEGUNDOS)	
Tapa	99	-	n* ciclos
Paso 1: Desnaturalización inicial	98	120	
Paso 2: Desnaturalización	98	20	
Paso 3: Hibridación	60	30	
Paso 4: Extensión	72	30	
Paso 5: Ampliación final	72	60	
Espera	10	∞	

* Siga la tabla de la sección 3.1.6 Recomendación de aporte de ADN para determinar el número de ciclos de PCR en función de la cantidad de material de partida.

Procedimiento

1. En función del número de muestras, proceda de la siguiente manera:
 - Si se procesan **4 muestras**, continúe con el paso 2.
 - Si se procesan **8 o más muestras**, para facilitar el pipeteo, cree un reservorio de la PCR Master Mix 2x añadiendo los siguientes volúmenes a un nuevo grupo de tiras de 4 u 8 tubos de acuerdo al siguiente esquema:

NÚMERO DE REACCIONES	8	12	16	24	32	48
Tipo de tira de PCR	De 4 tubos	De 4 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos	De 8 tubos
PCR Master Mix 2x (µl)	60	85	60	85	120	170

2. Componga la reacción de la siguiente forma:
 - Con una pipeta multicanal, añada 5 µl de diferentes cebadores de indexado doble únicos por tubo a los productos de unión y gránulos, según su estrategia de indexado.
 - Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces y haga girar brevemente.
 - Con una pipeta multicanal, añada 25 µl de PCR Master Mix 2x a los productos de unión y gránulos (50 µl en tiras de 4 u 8 tubos).
 - Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces y haga girar brevemente.
3. Coloque los tubos en el termociclador y ejecute el programa Amplificación de bancos.



Punto de parada seguro durante la noche a 4 °C.



3.2.7 Purificación post-amplificación

Materiales

- Productos de reacción de PCR en 50 µl cada uno
- **Gránulos Agencourt® AMPure® XP** equilibrados a temperatura ambiente
- Etanol 80 % recién preparado
- Nuclease Free Water
- Tubos de baja unión de ADN para el almacenamiento de bancos

Procedimiento

1. Con una pipeta multicanal, añada 50 µl de gránulos Agencourt® AMPure® XP a cada 50 µl de producto PCR. Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces.
2. Deje incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos y haga girar brevemente, si es necesario.
3. Coloque las tiras de 4 u 8 tubos en un soporte magnético con formato de placa de 96 pocillos durante 5 minutos o hasta que el líquido sea transparente.
4. Deseche con cuidado 90 µl de sobrenadante con una pipeta multicanal.

Mantenga los tubos en el soporte magnético durante los siguientes pasos.

5. Con una pipeta multicanal, añada a los gránulos 170 µl de etanol al 80 %. Deje reposar los tubos entre 30 segundos y 1 minuto.
 6. Deseche con cuidado el etanol con una pipeta multicanal.
 7. Repita una vez los pasos 5 y 6.
 8. Retire el etanol remanente con una pipeta multicanal P10 o P20.
 9. Deje secar al aire los gránulos a temperatura ambiente durante 5 minutos. No seque en exceso los gránulos porque podría disminuir la cantidad de ADN recuperado.
- Retire los tubos del soporte magnético.**
10. Con una pipeta multicanal, añada a los gránulos 30 µl de Nuclease Free Water. Mezcle bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces. Deje incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos y haga girar brevemente, si es necesario.
 11. Coloque la tira de 4 u 8 tubos en un soporte magnético con formato de placa de 96 pocillos durante 5 minutos o hasta que el líquido sea transparente.
 12. Transfiera con cuidado 28 µl del sobrenadante a un nuevo tubo de almacenamiento de bancos etiquetado.



Punto de parada seguro durante la noche a 4 °C o a -20 °C para un almacenamiento prolongado.



3.2.8 Cuantificación de bancos individual y control de calidad

Materiales

- Equipo y reactivos para determinación cuantitativa fluorométrica
- Sistema de electroforesis capilar
- Nuclease Free Water
- Tiras de 8 tubos de 0,2 ml sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa

Procedimiento

1. Prepare una dilución a 1:4 de cada banco con Nuclease Free Water (p. ej., 2 µl de un banco en 6 µl de Nuclease Free Water).
2. Cuantifique los bancos con un método fluorométrico (p. ej., cuantificación Qubit HS con 2 µl de la dilución de bancos a 1:4 preparada anteriormente).
3. Controle la calidad de los bancos analizando su perfil mediante electroforesis capilar. Los fragmentos de ADN de bancos deben tener una distribución de tamaño entre 200 pb y 800 pb.

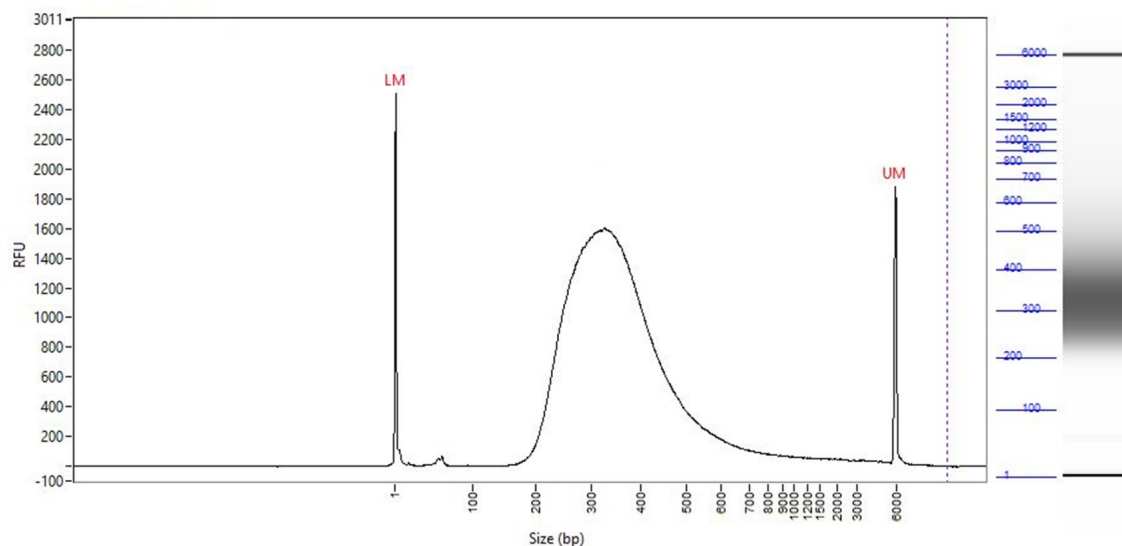


Figura 3. Ejemplo de distribución de bancos de ADN obtenida con el sistema de electroforesis capilar Agilent Fragment Analyzer™ para **muestras de sangre congeladas en fresco**. LM: marcador inferior, UM: marcador superior.

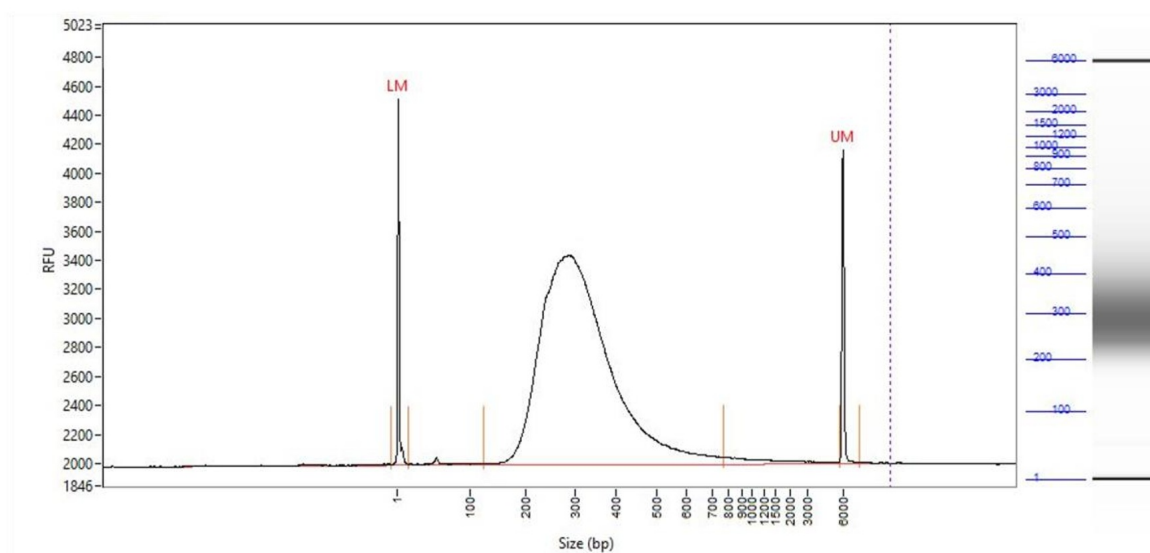


Figura 4. Ejemplo de distribución de bancos de ADN obtenida con el sistema de electroforesis capilar Agilent Fragment Analyzer™ para **muestras FFPE**. LM: marcador inferior, UM: marcador superior.



3.3 Secuenciación

3.3.1 Preparativos para la secuenciación

Materiales

- Reactivos de secuenciación Illumina® y cubeta de lectura
- Bibliotecas finales
- IDTE Buffer pH 8.0 o similar

Procedimiento

1. Determine la molaridad de cada grupo de bancos con el tamaño medio del banco (tamaño del pico en pares de bases) y la concentración (ng/μl) obtenidos durante el paso 3.2.8 Cuantificación de bancos individual y control de calidad de la siguiente manera:

$$\text{Molaridad de la librería} = \frac{\text{Concentración de la librería } \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{l}}\right)}{\text{Tamaño medio en pares de bases} \times 649.5} \times 10^6$$

2. Diluya cada grupo a 4 nM.
3. Si procesa varios grupos de secuenciación, mézclelos en cantidades iguales (p. ej., 5 μl de cada) y utilice esta dilución de acuerdo con las recomendaciones de desnaturalización estándar de Illumina®.
4. Cargue una dilución de X pM* de los bancos desnaturalizados**.

* Para conocer los detalles de la dilución, consulte la sección 9.1.3 Cargar diluciones para secuenciadores.

** La concentración de carga y la dilución del banco dependen del instrumento de secuenciación utilizado. Consulte el Anexo IV para obtener más detalles.



4. Advertencias, limitaciones y precauciones

4.1 Advertencias

1. Todos los procedimientos de diagnóstico desarrollados para su uso con SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep deben someterse a una validación completa que abarque todos los aspectos de rendimiento. La validación debe incluir el kit de extracción de ADN elegido, cualquier reactivo adicional, el equipo, la plataforma de secuenciación seleccionada y el software de análisis.
2. Se vigilan los dispositivos para la electroforesis en gel de alta resolución distintos del Agilent Fragment Analyzer™ System (p. ej., Agilent TapeStation) en caso de que derivasen en una estimación sesgada del DQN en muestras de ADN de FFPE.
3. Los usuarios deben verificar que la calidad de sus muestras de ADN cumple los criterios mínimos de cualificación, que aparecen en la sección 3.1.6 Recomendación de aporte de ADN:
 - Para muestras FFPE, DQN mayor o igual a 3 medido con el Agilent Fragment Analyzer™ System
 - Para las muestras CF, relaciones de absorbancia entre 1,8-2,0 para la relación 260/280 nm y de 1,6-2,4 para 260/230
4. Un DQN mayor o igual a 3 y unas relaciones de absorbancia dentro de los intervalos mencionados en el punto 3 no pueden excluir la presencia de otros problemas de calidad en las muestras de ADN.
5. El procesamiento de muestras no aptas podría derivar en una calidad insuficiente de los bancos de secuenciación generados y a resultados erróneos del procedimiento de diagnóstico.
6. Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el SOPHiA GENETICS Dx Universal Library Prep deberá comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro donde se encuentre el usuario o paciente.

4.2 Limitaciones

1. Incluso si se siguen las recomendaciones de multiplexación de las muestras, la cobertura de lectura obtenida en la región de interés puede ser insuficiente para el uso diagnóstico seleccionado, y por varias razones, entre ellas: calidad deficiente de la muestra, calidad deficiente de los datos de la SNG, reactivos posteriores de baja calidad o incompatibles, asignación de lectura desigual significativa entre las muestras multiplexadas en la misma secuenciación y asignación sesgada de la profundidad de lectura entre las regiones genómicas evaluadas (p. ej., baja profundidad de lectura sistemática en regiones con abundancia de AT).
2. La preparación de bancos se ha validado para ADN extraído de sangre, médula ósea, sedimentos de células congeladas en fresco y FFPE, así como muestras de tejido FFPE y secuenciado en Illumina® MiSeq®, NextSeq® 550, NextSeq® 2000 y NovaSeq 6000™.
3. La secuenciación de los bancos de SNG generados con SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep debe realizarse utilizando una configuración de lectura de ambos extremos de 2×150 pb para garantizar una calidad de datos y un rendimiento del ensayo óptimos.
4. La estabilidad de los reactivos congelados se verificó en hasta tres ciclos de congelación-descongelación

4.3 Precauciones

1. Los estándares y procedimientos de buenas prácticas de laboratorio, además de seguir rigurosamente las IdU, se requieren para una calidad adecuada del producto. Cualquier variación respecto a las instrucciones en



relación con el manejo de las muestras, el protocolo del laboratorio, la multiplexación y la secuenciación podría afectar negativamente a la calidad de los datos de SNG sin procesar.

2. Se deben utilizar áreas separadas físicamente de pre-PCR y post-PCR para evitar la contaminación de las muestras de ADN.
3. Se deben utilizar pipetas calibradas correctamente y equipos de laboratorio adecuados para llevar a cabo el experimento.
4. Utilice puntas de pipeta con filtro para reducir el riesgo de contaminación de las muestras y los reactivos.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos al extraer las alícuotas de los viales de reactivos.
6. No mezcle diferentes números de lote de reactivos.
7. Almacene y manipule los reactivos de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en las cajas de los kits y en estas instrucciones de uso. Los reactivos son estables si se almacenan como se indica hasta la fecha de caducidad especificada en las etiquetas del kit. No utilice reactivos después de la fecha de caducidad.
8. Algunos reactivos requieren precauciones de seguridad. Consulte la sección de sustancias peligrosas para más detalles. Para obtener más información específica relacionada con la seguridad, consulte las correspondientes fichas de datos de seguridad (FDS) de cada componente del producto disponibles en el siguiente sitio web: www.sophiagenetics.com/docs/
9. Deseche los reactivos que contengan sustancias químicas potencialmente peligrosas de acuerdo con las directrices establecidas por su institución, así como con la normativa local y nacional.
10. El uso, el almacenamiento y la eliminación de los componentes del kit y de las muestras deben llevarse a cabo de acuerdo con las directrices y normativas nacionales y locales de seguridad ante riesgos biológicos. Garantice el cumplimiento de todos los procedimientos de seguridad y requisitos normativos pertinentes para proteger al personal y al medio ambiente.
11. Manipule siempre todas las muestras humanas, incluida la sangre completa, como potencialmente infecciosas para garantizar la seguridad.
12. Evite tocar cualquier superficie caliente de los instrumentos calentados utilizados durante el procedimiento para evitar quemaduras.
13. Almacene y utilice todos los reactivos inflamables, como etanol, lejos de llamas abiertas y fuentes de calor para evitar riesgos de incendio.
14. Los reactivos se envían con hielo seco (dióxido de carbono sólido) para mantener temperaturas bajas. Manipule el hielo seco con cuidado, utilizando siempre guantes aislantes y gafas protectoras para evitar la congelación por contacto. No toque el hielo seco con la piel desnuda. Asegúrese de que haya una ventilación adecuada al abrir los recipientes con hielo seco. No inhale el gas liberado por el hielo seco. Almacene el hielo seco únicamente en recipientes aislados que no sean herméticos para permitir que el gas escape de forma segura.
15. No utilice componentes dañados. Póngase en contacto con el servicio de asistencia (consulte los detalles en la sección 8 Asistencia) si recibe componentes dañados.
16. La concentración recomendada de EDTA en el tampón de almacenamiento de ADN es de 0,1 mM. Un exceso de EDTA en los tampones de almacenamiento de la muestra podrían perjudicar al procesamiento de las muestras.



5. Resolución de problemas

Consulte la siguiente tabla para solucionar los posibles problemas que puedan surgir durante el flujo de trabajo.

OBSERVACIÓN	POSIBLE CAUSA	ACCIÓN RECOMENDADA
Bajo rendimiento del banco	Cantidad de material utilizado inferior a la recomendada Calidad deficiente de la muestra de ADN Reducción del rendimiento de la reacción de fragmentación y ERAT Reducción del rendimiento de la reacción de unión Reducción del rendimiento de la reacción de PCR Limpieza ineficaz de los gránulos	Utilice las cantidades recomendadas de ADN y siga las directrices de cualificación Verifique la exactitud de los métodos de cuantificación del ADN Verifique que los reactivos se hayan almacenado y manipulado según las recomendaciones del fabricante Resuspenda bien los gránulos paramagnéticos antes del uso Utilice etanol recién preparado Trabaje sobre hielo durante los pasos adecuados y utilice pipetas multicanal como se indica
Distribución del tamaño del banco fuera del intervalo objetivo (200 pb-800 pb)	Calidad deficiente de la muestra de ADN Aporte de ADN utilizado fuera del intervalo recomendado El ADN y/o los reactivos no se prepararon o no se mantuvieron a 4 °C antes de su utilización Mezcla inadecuada de los reactivos de fragmentación con la muestra de ADN	Siga las directrices para la cualificación del ADN Mantenga el ADNg diluido y los reactivos en hielo hasta su uso Verifique que los reactivos estén bien descongelados antes de utilizarlos Verifique que los reactivos se hayan almacenado y manipulado según las recomendaciones del fabricante Trabaje sobre hielo durante los pasos adecuados y utilice pipetas multicanal como se indica
Presencia de dímeros adaptadores	Cantidad de material de ADN inferior a la recomendada Calidad deficiente de la muestra de ADN Limpieza ineficaz de los gránulos	Utilice las cantidades recomendadas de ADN y siga las directrices de cualificación Evite resuspender los adaptadores de unión con la premezcla de unión antes de mezclarlos con el producto de reacción de fragmentación Realice un paso de limpieza adicional (tenga en cuenta que puede reducir el rendimiento del banco)



6. Características de rendimiento

6.1.1 Tipo de muestra

Para verificar que SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep genera bancos de secuenciación de alta calidad para todos los tipos de muestras previstos, se midieron el tamaño medio de los fragmentos, el rendimiento del banco y la uniformidad de la cobertura en bancos generados utilizando diferentes tipos de muestras. Los bancos se prepararon a partir de material de ADN extraído de sangre o de diversos tejidos congelados en fresco (68 muestras), tejidos FFPE (83 muestras) y tejidos de médula ósea (12 muestras). Para todos los tipos de muestras utilizados, SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep generó satisfactoriamente bancos que satisficieron los umbrales de aceptación predefinidos.

6.1.2 Reproducibilidad entre laboratorios

La reproducibilidad entre laboratorios se evaluó utilizando muestras de referencia caracterizadas de origen germinal o somático procesadas con el kit SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep en 6 y 3 centros independientes, respectivamente. La uniformidad de la cobertura y el tamaño de las inserciones se utilizaron como lecturas analíticas para este ensayo. Para ambos tipos de muestras utilizados, SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep satisfizo los umbrales de aceptación predefinidos.

6.1.3 Cantidad de aporte de ADN

Para verificar el rendimiento de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep cuando se utiliza la cantidad de aporte más baja recomendada, se generaron 24 muestras utilizando 10 ng de material de aporte aislado de una muestra de referencia de FFPE. La preparación fue realizada por 2 operadores en un único centro y se llevó a cabo en 2 días diferentes para tener en cuenta la reproducibilidad dentro del mismo laboratorio. El rendimiento del banco, el tamaño y la uniformidad de la cobertura se utilizaron como lecturas analíticas para este ensayo. Todas las muestras cumplieron los requisitos de rendimiento. No se observó ninguna reducción del rendimiento cuando se utilizó la cantidad de aporte de ADN más baja recomendada.

6.1.4 Reproducibilidad utilizando diferentes lotes de reactivos

Para verificar la calidad y solidez de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep al utilizar diferentes lotes de reactivos, se evaluó la reproducibilidad entre lotes. Las muestras se procesaron con 5 lotes diferentes de reactivos de preparación de bancos. El rendimiento del banco, el tamaño y la uniformidad de la cobertura se utilizaron como lecturas analíticas para este ensayo. Todos los lotes de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep superaron los requisitos. Se observó que las variaciones entre lotes estaban por debajo de los umbrales aceptables predefinidos para todos los criterios de control de calidad.

6.1.5 Contaminación entre muestras

Para evaluar la posible contaminación cruzada en el SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep, se procesaron muestras de mujeres en pocillos adyacentes de una tira de 8 tubos como configuración de referencia. Dos tiras adicionales de 8 tubos, cada una de las cuales contenía una mezcla de muestras de hombres y mujeres distribuidas en disposición de damero, se procesaron utilizando el mismo método que las configuraciones de prueba. Para garantizar el máximo rigor en la evaluación de la contaminación, se utilizó para cada muestra el mayor aporte recomendado de ADN genómico. La cobertura del cromosoma Y en las muestras de mujeres de las placas de prueba se comparó con la de la placa de referencia exclusivamente con muestras de mujeres, y se consideró que una muestra era válida si su cobertura del cromosoma Y estaba dentro de la media $\pm$ 3 desviaciones estándar (DE) de la media de referencia. Todas las muestras cumplieron los criterios de aceptación y no se detectó ninguna variación significativa en la cobertura del cromosoma Y entre las muestras de mujeres del conjunto de pruebas de contaminación cruzada y las del conjunto de referencia exclusivamente con muestras de mujeres.



6.1.6 Sustancias interferentes

El impacto de los posibles interferentes se valoró evaluando el rendimiento del SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep en presencia de sustancias interferentes endógenas y exógenas utilizando muestras de ADN derivadas tanto de sangre como de FFPE. Las concentraciones de ensayo se seleccionaron de acuerdo con CLSI EP37-ED1:2018, con un 20 % adicional para garantizar un margen de seguridad del ensayo. El rendimiento del banco, el tamaño y la uniformidad de la cobertura se utilizaron como lecturas analíticas para este ensayo. Todas las muestras cumplieron los requisitos de rendimiento, sin que se observaran interferencias que afectaran al ensayo.

INTERFERENTE (CONCENTRACIÓN)	TIPO	TIPO DE MUESTRA	NÚMERO DE RÉPLICAS	NÚMERO DE RÉPLICAS ERRÓNEAS	RESULTADO
Albúmina (72 mg/ml)	Endógena	Sangre	10	0	Sin interferencias
Hemoglobina (12 mg/ml)	Endógena	Sangre	10	0	Sin interferencias
Bilirrubina conjugada (0,5 mg/ml)	Endógena	Sangre	10	0	Sin interferencias
Triglicéridos (18 mg/ml)	Endógenos	Sangre	10	0	Sin interferencias
EDTA (9 mg/ml)	Exógeno	Sangre	10	0	Sin interferencias
Hemoglobina (0,5 mg/ml)	Endógena	FFPE	10	0	Sin interferencias
Etanol (5 % del volumen total)	Exógeno	FFPE	10	0	Sin interferencias
Proteinasa K (0,6 mg/ml)	Exógena	FFPE	10	0	Sin interferencias
Tampón de lavado 2 (1,875 % del volumen total)	Exógeno	FFPE	10	0	Sin interferencias



7. Símbolos

SÍMBOLO	TÍTULO
	Consultar las instrucciones de uso
	Número de catálogo
	Código de lote (Número de lote)
	Precaución
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Marcado CE: Conformidad europea
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Importador
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea
	Contiene suficiente para <n> ensayos
	Utilizar guantes protectores
	Utilizar protección ocular



	Llevar bata de laboratorio
	Consultar la sección Advertencias y precauciones
	Consultar la sección Advertencias y precauciones



8. Asistencia

En caso de dificultad para utilizar el SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep, consulte la sección de resolución de problemas de este documento o póngase en contacto con nuestra línea de asistencia por teléfono en el +41 21 694 10 60, en el correo electrónico support@sophiagenetics.com o en nuestro [portal de asistencia al cliente](#). Visite www.sophiagenetics.com para obtener más información.

No utilice componentes dañados. Póngase en contacto con nuestro equipo de asistencia si tiene alguna duda con los kits.



9. Anexos

9.1 Anexo I: Placas de cebadores de indexado doble únicas

9.1.1 96A Unique Dual Index Primer Plate, formato de placa de 96 pocillos (7 µl cada uno) - Placa 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 Secuencias indexadas para los cebadores de indexado doble únicos

En la tabla siguiente, se enumeran las secuencias indexadas. Tenga en cuenta que cuando utilice hojas de muestras manuales, los siguientes instrumentos de Illumina® requieren la **orientación inversa del complemento** de la secuencia i5:

- NextSeq® 500/550
- NextSeq® 1000/2000 en modo autónomo (hoja de muestras v1)
- HiSeq® 3000/4000/X
- NovaSeq™ 6000 con kits de reactivos v1.5 y NovaSeq™ X/X Plus
- MiniSeq™ (excepto cuando se utiliza con kits de reactivos rápidos)
- iSeq™ 100



Todos los demás instrumentos de Illumina® (por ejemplo, MiSeq®) y configuraciones de instrumentos requieren la orientación **hacia delante** de i5.



Esta información está sujeta a cambios. Consulte siempre las páginas de asistencia de Illumina® para obtener la información más reciente sobre los sistemas de secuenciación que requieren la secuencia indexada i5 en orientación del complemento hacia delante o inversa:

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

ÍNDICE	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN HACIA DELANTE)	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN INVERSA DEL COMPLEMENTO)	SECUENCIA 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	GTAAGTAGA	AGCGGCAA
sgUDI-16	GTGCACGT	ACGTGCAC	CAAGTCGA
sgUDI-17	GGCATAGA	TCTATGCC	GCTACATC
sgUDI-18	AATCTTGG	CCAAGATT	TGAAGCAA
sgUDI-19	GATGCAAG	CTTGCATC	GGTGGATA
sgUDI-20	GACTACTG	CAGTAGTC	TTGATGGC
sgUDI-21	CACGTGGA	TCCACGTG	GTGCATCT
sgUDI-22	CCGATGAG	CTCATCGG	CACTCAGC
sgUDI-23	ATGCGTCT	AGACGCAT	AGATCTGG



ÍNDICE	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN HACIA DELANTE)	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN INVERSA DEL COMPLEMENTO)	SECUENCIA 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	CATTACG	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



ÍNDICE	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN HACIA DELANTE)	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN INVERSA DEL COMPLEMENTO)	SECUENCIA 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	CGTTC AAG	GATCCACG
sgUDI-85	ATCGTAGA	TCTACGAT	GTCGCTTC



ÍNDICE	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN HACIA DELANTE)	SECUENCIA i5 (ORIENTACIÓN INVERSA DEL COMPLEMENTO)	SECUENCIA 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

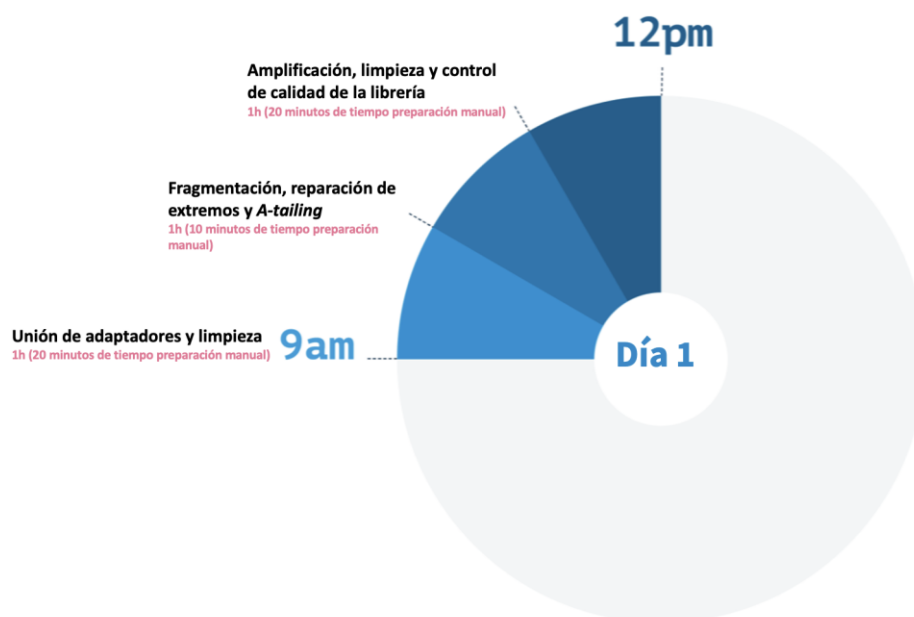


9.1.3 Cargar diluciones para secuenciadores

TIPO DE SECUENCIADOR	DILUCIÓN DE CARGA
Illumina® NextSeq® 500/550	1.3 pM (kit de rendimiento medio) 1.4 pM (kit de alto rendimiento) <i>Nota:</i> Ajuste la dilución (intervalo de 1,1 pM a 1,5 pM) según el número de clústeres obtenidos en la primera tanda
Illumina® NextSeq® 1000/2000	1000 pM (desnaturalización/dilución incluida) 100 pM (desnaturalización/dilución manual) <i>Nota:</i> La desnaturalización/dilución manual no ha sido probada internamente por SOPHiA GENETICS
Illumina® HiSeq®	10 pM
Illumina® MiSeq®	10 pM
Illumina® MiniSeq™	1,4 pM (kit estándar) 1,6 pM (kit rápido)
Illumina® NovaSeq™ 6000	300 pM



9.2 Anexo II: Flujo de trabajo general de SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep



Preparación de bancos con SOPHiA GENETICS™ Dx Universal Library Prep



© SOPHiA GENETICS 2026. RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS.

Document Approvals
Approved Date: 27 Jan 2026

Approval Verdict: Approve	Jonathan Day, (jday@sophiagenetics.com) Regulatory Approval 27-Jan-2026 08:34:03 GMT+0000
QA Approval Verdict: Approve	Nora Kormos, Quality Specialist (nkormos@sophiagenetics.com) Quality Assurance Approval 27-Jan-2026 08:53:56 GMT+0000