

INSTRUCTIONS D'UTILISATION

32 ECHANTILLONS

SOPHiA DDM™ Dx **Homologous Recombination** **Deficiency Solution**



Réservé à l'usage diagnostique in vitro (IVD)
Non destiné au dépistage par autotest





INFORMATIONS RESUMEES

Nom du produit	SOPHiA DDM™ Dx Homologous Recombination Deficiency Solution
Type de produit	Solution tout-en-un
Famille de produits	Application diagnostic moléculaire (kit + analyse)
ID de l'algorithme	ILL1XG1S7_FFPE_CNV_NextSeq_2
Séquenceur	Illumina® - NextSeq® 500/550
ID du panel génétique	HRD_v1
Version du produit	v1.0
Type d'échantillon	ADN somatique isolé dans des échantillons de tissu tumoral fixé au formol et inclus en paraffine (FFPE)
Version du produit	SOPHiA DDM™ Core : v6.4.0 / SOPHiA DDM™ Dx mode : v2.4.0
ID du document	SG-00693
Version du document	v5.0
Date de révision	Janvier 2026

Ce mode d'emploi s'applique à toutes les versions de SOPHiA DDM™.
Veuillez lire attentivement la totalité du mode d'emploi avant d'utiliser ce produit.



SOPHiA GENETICS SA
ZA La Pièce 12
1180 Rolle
Switzerland



BS0121ILLCSMY08-32



SOPHiA GENETICS SAS
Technopole Izarbel
158 allée Fauste d'Elhuyar
F-64210 Bidart, France





CODES PRODUITS

	CODE PRODUIT COMPLET	BOX 1	BOX 2	KIT DE PRÉPARATION DE BIBLIOTHÈQUE
REF	BS0121ILLCSMY08-32	B1.H1.0021.C-32	B2.0021.C-32	5C0232 (x 2)



AVIS DE NON-RESPONSABILITE

Ce document et son contenu sont la propriété de SOPHiA GENETICS SA et de ses sociétés affiliées (« SOPHiA GENETICS ») et doivent uniquement être utilisés à des fins contractuelles par ses clients, conformément à l'utilisation du ou des produits décrits ci-après et à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne doivent être utilisés ou distribués à aucune autre fin et/ou communiqués, divulgués, reproduits ou référencés de quelque façon que ce soit sans le consentement écrit préalable de SOPHiA GENETICS.

SOPHiA GENETICS ne transmettra, par le présent document, aucune licence en vertu de tout brevet, de toute marque, de tout droit d'auteur ou de tout droit commun, ni de tout droit similaire, de quelque partie tierce. Les instructions figurant dans le présent document doivent être strictement et explicitement suivies par un personnel qualifié et parfaitement formé afin de garantir l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits ci-après. L'ensemble du contenu de ce document doit être lu et compris dans son intégralité, préalablement à l'utilisation dudit ou desdits produits.

VEUILLEZ LIRE L'INTÉGRALITÉ ET SUIVRE EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES CI-APRÈS, AU RISQUE D'ENDOMMAGER LE(S) PRODUIT(S), DE BLESSER DES PERSONNES, NOTAMMENT LES UTILISATEURS OU D'AUTRES PERSONNES, ET D'ENTRAÎNER DES DOMMAGES MATÉRIELS.

SOPHiA GENETICS N'ASSUME AUCUNE RESPONSABILITÉ LIÉE À UNE MAUVAISE UTILISATION DU OU DES PRODUITS DÉCRITS CI-APRÈS (Y COMPRIS DES PIÈCES DE CEUX-CI OU LEUR LOGICIEL).

NOMS DE MARQUE

Illumina® et MiSeq® sont des marques déposées d'Illumina, Inc.

AMPure® et Agencourt® sont des marques déposées de Beckman Coulter, Inc.

Qubit® et Dynabeads® sont des marques déposées de Thermo Fisher Scientific Inc.

Agilent Fragment Analyzer™ est une marque de commerce d'Agilent Technologies, Inc.

SOPHiA GENETICS™ et SOPHiA DDM™ Dx sont des marques de commerce de SOPHiA GENETICS SA et/ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Tous les autres noms, logos et noms de marque appartiennent à leurs propriétaires respectifs. SAUF PRÉCISION SPÉCIFIQUE, L'UTILISATION PAR SOPHiA GENETICS DE NOMS DE MARQUE DE TIERS N'INDIQUE AUCUNE RELATION, AUCUN SPONSORING NI AUCUNE VALIDATION ENTRE SOPHiA GENETICS ET LES PROPRIÉTAIRES DE CES NOMS DE MARQUE. Toute référence faite par SOPHiA GENETICS à des noms de marques de tiers vise à identifier les produits et/ou services du tiers concerné et est considérée comme un usage loyal nominatif en vertu du droit des marques.



HISTORIQUE DES REVISIONS

ID DU DOCUMENT/ VERSION	DATE	Version équivalente en anglais des instructions d'utilisation	DESCRIPTION DE LA MODIFICATION
SG-00693 (v5.0)	Janvier 2026	SG-00661 (v11.0)	• Changement du système de numérotation des versions, aucune version supplémentaire entre 2.3 et 5.0. • 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. • Section 2 – Retrait du paragraphe décrivant l'application SOPHiA DDM Desktop App et les fonctionnalités réservées à la recherche. • Section 3 – Retrait de la description des composants réservés à la recherche, ce qui permet d'affiner le champ d'application du produit en matière IVD. • Figure 1 – Modification du nom de la plateforme d'analyse de l'application Web SOPHiA DDM pour SOPHiA DDM Dx Mode, retrait des composants hors champ d'application IVD. • Section 9.1 – Retrait des avertissements relatifs aux équipements hors champ d'application IVD. • La section 9.2.1 a été fusionnée avec la section 9.2, Limitations générales. • Section 9.3.1 – Retrait des procédures de support CDS, SNP/Indel, statut BRCA, SOPHiA DDM HRD proposé et variation du nombre de copies. • Retrait de l'Annexe sur le CDS SOPHiA DDM HRD. • Retrait de l'Annexe sur les coordonnées génomiques des cibles SNP de la solution HRD. • Retrait de l'Annexe sur les coordonnées génomiques des régions cibles CNV de la solution HRD. • Avertissements et précautions – Ajout des numéros CAS et des concentrations pour chaque composant dangereux identifié. • Section 8 – Ajout de la sous-section 8.1.5 sur les interférences endogènes et exogènes. • Section 8 – Ajout de la sous-section 8.1.6 sur le transfert et la contamination croisée. • Section 5.1.1 – Ajout des limites des cycles de congélation/décongélation pour les réactifs contenus dans la Box 1 et le Library Prep Kit III. • Réduction du volume des sondes d'hybridation SOPHiA GENETICS de 20 µl à 18 µl. • Section 5.2.1 – Modification du seuil de longueur de fragment DQN de 300 à 375 pb.



ID DU DOCUMENT/ VERSION	DATE	Version équivalente en anglais des instructions d'utilisation	DESCRIPTION DE LA MODIFICATION
			• Harmonisation du texte dans plusieurs sections et annexes. • Légères modifications de format, de numérotation et changements esthétiques mineurs. • Insertion du symbole TM dans l'ensemble du document, le cas échéant. • Historique des révisions – la version 4.0 a remplacé la qualité de l'ADN par la quantité d'ADN. • Section 5.2.1 – Corrections apportées à la section « Important » concernant la quantité d'ADN. • Section 9.1 – Correction apportée au dernier point de la section « Avertissements ».
SG-00693 (v2.3)	Mars 2025	Mars 2025	• Section 5.1.1. Contenu du kit - BOÎTE 1: Augmentation du volume du tampon d'hybridation 2x de 50 µl à 75 µl ; Augmentation du volume de l'Amplificateur pour tampon d'hybridation de 20 µl à 30 µl.
SG-00693 (v2.2)	Novembre 2024	Novembre 2024	• Mise à jour de l'adresse du REP CE
SG-00693 (v2.1)	Septembre 2024	Septembre 2024	• Section 5.2.1 - Ajout de la référence "DNF-464-0500" pour le kit HS Large Fragment 50kb sur Agilent Fragment AnalyzerTM
SG-00693 (v2.0)	Mai 2022	Mai 2022	• Changement du nom du kit de préparation de bibliothèque • Correction d'une erreur de typographie dans la section 5.2.4 • Mise à jour du tableau des symboles
SG-00693 (v1.0)	Mai 2022	Mai 2022	• Publication initiale



TABLE DES MATIERES

1. FINALITE	9
2. DECLARATION GENERALE DES PRINCIPES ET DE LA PROCEDURE DE TEST	10
3. COMPOSANTS DU PRODUIT	11
4. SOPHiA DDM™ DX MODE	12
5. CONSOMMABLES DU KIT ET METHODES	13
5.1. Considérations initiales	13
5.1.1. Contenu du kit (32 échantillons)	13
5.1.2. Matériel requis (non fourni)	18
5.2. Préparation de bibliothèque	19
5.2.1. Préparation de l'ADN	19
5.2.2. Préparation de pré-mélanges et de réactifs	21
5.2.3. Fragmentation enzymatique, réparation d'extrémité et poly-adénylation	22
5.2.4. Ligature	23
5.2.5. Nettoyage après ligature	24
5.2.6. Amplification de bibliothèque	25
5.2.7. Nettoyage après amplification	26
5.2.8. Quantification et contrôle qualité individuels de la bibliothèque	27
5.2.9. Regroupement de bibliothèques pour séquençage de génome entier (SGE) passe-bas	28
5.3. Capture	29
5.3.1. Regroupement de bibliothèques pour hybridation et capture	29
5.3.2. Hybridation	30
5.3.3. Préparation des billes de streptavidine	32
5.3.4. Liaison de cibles hybridées aux billes	33
5.3.5. Lavage des billes de streptavidine pour retirer l'ADN non lié	34
5.3.6. Amplification post-capture	36
5.3.7. Nettoyage de l'amplification post-capture	37
5.3.8. Quantification et contrôle qualité finals de la bibliothèque	38
5.4. Séquençage	39
5.4.1. Préparation de bibliothèque pour le séquençage	39
6. PROCEDURE D'ANALYSE	41
6.1. Démultiplexage des données NGS	41
6.2. Chargement et analyse des données	41
6.3. Génération du rapport	41
7. DESCRIPTION ET PARAMETRES DE L'ANALYSE	44
7.1. Fichiers de ressource	44
7.2. Prétraitement des données brutes	44
7.3. Analyse d'intégrité génomique	44
7.4. Calcul du statut SOPHiA DDM™ Dx HRD	46
8. ÉVALUATION DES PERFORMANCES	47
8.1. Évaluation des performances analytiques	47



8.1.1. Concordance du statut d'intégrité génomique avec le test NGS de comparaison	47
8.1.2. Limite de détection du contenu tumoral de l'échantillon pour le statut d'intégrité génomique	47
8.1.3. Répétabilité du statut d'intégrité génomique.....	47
8.1.4. Reproductibilité du statut d'intégrité génomique	48
8.1.5. Interférences endogènes et exogènes	48
8.1.6. Transfert et contamination croisée	48
8.2. Évaluation des performances cliniques	49
9. AVERTISSEMENTS, LIMITATIONS ET PRECAUTIONS	50
9.1. Avertissements	50
9.2. Limitations.....	51
9.3. Précautions.....	52
10. SYMBOLES.....	53
11. ASSISTANCE.....	54
ANNEXE I. PLAQUES D'AMORCE UNIQUE DUAL INDEX PRIMER PLATE.....	55
ANNEXE II. WORKFLOW GENERAL – SOPHiA DDM™ CAPTURE SOLUTIONS	57



1. FINALITE

La solution SOPHiA DDM™ Dx Homologous Recombination Deficiency (HRD) est un dispositif médical de diagnostic in vitro utilisable comme aide pour déterminer le statut de déficit de recombinaison homologue (HRD) de tumeurs chez des patientes présentant un cancer de l’ovaire, par détection semi-quantitative du biomarqueur d’instabilité génomique. Le dispositif est destiné à être utilisé par des professionnels de santé et il est basé sur un workflow de séquençage de nouvelle génération (NGS) en utilisant comme entrée de l’ADN génomique extrait de matériau tumoral FFPE.



2. DECLARATION GENERALE DES PRINCIPES ET DE LA PROCEDURE DE TEST

La solution SOPHiA DDM™ Dx HRD est composée d'un kit NGS et d'un pipeline de bio-informatique utilisés en combinaison avec un accessoire d'IVD, la plateforme SOPHiA DDM™ Dx mode basée sur le cloud. Le produit est destiné au traitement et à l'analyse d'échantillons d'ADN extraits d'échantillons de cancer de l'ovaire fixés au formol, inclus en paraffine (FFPE) obtenus par biopsie ou issus d'une résection chirurgicale.

Le kit et le protocole de séquençage nouvelle génération ont été conçus pour permettre aux utilisateurs de traiter 50 à 100 ng d'ADN pour la création d'une bibliothèque de séquençage nouvelle génération, l'enrichissement par capture par hybridation de 28 gènes et le séquençage à l'aide de la plateforme Illumina® NextSeq® 500/550. Les données de séquençage nouvelle génération ainsi obtenues présentent simultanément une faible couverture sur l'ensemble du génome avec une couverture attendue d'environ 1x (données de séquençage de génome entier passe-bas, lpWGS) et une couverture élevée sur les régions de séquençage ciblées (couverture attendue : env. 3 000 x moyenne).

L'application Web cloud sécurisée SOPHiA DDM™ Dx mode, qui héberge un pipeline de bio-informatique personnalisé, permet aux utilisateurs de charger les données de NGS et d'obtenir un compte rendu de solution SOPHiA DDM™ Dx HRD au format PDF. Le compte rendu décrit le statut de solution SOPHiA DDM™ Dx HRD de l'échantillon sur la base des résultats de l'analyse d'intégrité génomique (GI).

Il est à noter que les résultats d'une analyse génétique ne doivent être interprétés que par un expert qualifié en génétique moléculaire, comme un généticien de laboratoire clinique (ErCLG) certifié par l'European Board of Medical Genetics (EBMG).



3. COMPOSANTS DU PRODUIT

SOPHiA DDM™ Dx HRD est une solution complète qui regroupe le kit d'enrichissement cible, la puissance d'analyse de l'IA et l'accès à l'application Web cloud sécurisée SOPHiA DDM™ Dx mode. Le produit se compose de deux éléments : le kit de préparation et de capture de bibliothèque (SOPHiA GENETICS™ Dx DNA Library Prep Kit III – 32 réactions) et le pipeline de bio-informatique analytique utilisé en combinaison avec le SOPHiA DDM™ Dx mode.

- Le kit se compose de réactifs et de protocoles destinés à faciliter la préparation et l'enrichissement de bibliothèques ciblées et compatibles avec Illumina® issues d'ADN extrait d'échantillons FFPE de cancer de l'ovaire, adaptés pour l'enrichissement et le séquençage sur un séquenceur Illumina® NextSeq® 500/550. Le kit d'enrichissement cible permet de générer, dans un seul run de séquençage, les données de séquençage de génome entier passe-bas (couverture de ~1x) et les données de séquençage en profondeur ciblées (couverture de ~3000x).
- Le pipeline de bio-informatique a principalement pour objectif de traiter les données de séquençage de génome entier passe-bas, via un algorithme d'apprentissage en profondeur capable d'évaluer l'intégrité génomique, et d'établir le statut SOPHiA DDM™ Dx HRD.
- SOPHiA DDM™ Dx mode héberge le pipeline de bio-informatique et l'application Web sert d'interface utilisateur graphique pour le chargement des données de séquençage NGS ainsi que la génération et le téléchargement du compte rendu SOPHiA DDM™ Dx HRD. Consultez SOPHiA DDM™ Dx mode pour connaître les instructions d'utilisation de l'application Web.

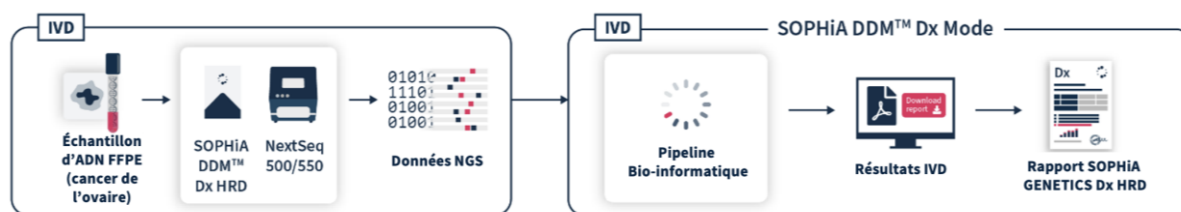


Figure 1. Vue d'ensemble des différents composants de la solution SOPHiA DDM™ Dx HRD



4. SOPHiA DDM™ DX MODE

SOPHiA DDM™ Dx mode est une application Web qui offre une solution destinée à aider les médecins et les chercheurs à prendre des décisions informées et à poser des diagnostics en oncologie et maladies héréditaires, y compris en cas de conditions de diagnostic difficiles, comme pour les maladies rares. Pour cela, elle analyse les données de séquençage nouvelle génération produites à partir de bibliothèques génomiques complètes, de bibliothèques de kits de capture d'ADN ou d'ARN, et de kits de produits d'amplification destinés aux applications de lignée germinale et somatiques. SOPHiA DDM™ est destinée à être utilisée par des professionnels de laboratoire qualifiés, des généticiens cliniques et des pathologistes moléculaires.

Pour accéder à la plateforme pour la première fois, vous devrez vous inscrire. Il vous sera demandé de :

- Sélectionner l'option « *Sign-up now* ».
- Saisir son adresse e-mail. Vous devrez utiliser la même adresse e-mail que celle utilisée pour créer votre compte. En cas de doute, contactez l'administrateur de votre compte.
- Sélectionnez « *Send verification code* ».
- Le code de vérification sera envoyé à votre adresse e-mail. Vous devrez ensuite saisir le code reçu par e-mail et finaliser le processus en tapant votre nom et en créant un nouveau mot de passe.

Les instructions détaillées d'accès à la plateforme et de demande d'analyse génomique figurent dans le manuel d'utilisation de SOPHiA DDM™ Dx mode.



5. CONSOMMABLES DU KIT ET METHODES

5.1. Considérations initiales

Assurez-vous que tous les tubes sont physiquement intacts et stockés conformément aux températures recommandées, dès leur réception, pour garantir des performances optimales. Une manipulation et un stockage inappropriés des composants du kit dans des conditions autres risque de nuire à ses performances.

5.1.1. Contenu du kit (32 échantillons)

Veillez à toujours centrifuger brièvement les tubes avant de les utiliser pour recueillir tout le liquide.

BOX 1 (STOCKER À UNE TEMPÉRATURE COMPRISE ENTRE -25 °C ET -15 °C)[†]

- Universal Blockers - TS Mix (12 µl)
- Human Cot DNA (25 µl)
- HRD_v1 probes by SOPHiA GENETICS (18 µl)
- 2x Hybridization Buffer (75 µl)
- Hybridization Buffer Enhancer (30 µl)
- 2x Bead Wash Buffer (1250 µl)
- 10x Stringent Wash Buffer (200 µl)
- 10x Wash Buffer I (160 µl)
- 10x Wash Buffer II (110 µl)
- 10x Wash Buffer III (110 µl)
- 32 Illumina®-compatible Unique Dual Index Primers V2 in a 96-well plate format (7 µl each): see Appendix II for primers display and sequences.
- Post Capture Illumina® Primers Mix (20 µl)
- PCR Enhancer (20 µl)
- Post Capture PCR Master Mix (122 µl)
- Stubby Universal Adapter (220 µl)

[†] La stabilité des réactifs congelés du Box 1 est garantie pour un maximum de 4 cycles de congélation-décongélation avant utilisation.



BOX 2 (STOCKER À UNE TEMPÉRATURE COMPRISE ENTRE +2 °C ET +8 °C)

- Dynabeads® M-270 Streptavidin (440 µl)
- Agencourt® AMPure® XP (8.7 ml)
- IDTE Low TE Buffer (10 ml)
- Nuclease-free water (20 ml)

SOPHiA GENETICS™ Dx DNA Library Prep Kit III* (STOCKER À UNE TEMPÉRATURE COMPRISE ENTRE -25 °C ET -15 °C)†

- PCR Master Mix 2x (520 µl x 2)
- Fragmentation Buffer (77 µl x 2)
- Fragmentation Enzyme Mix (116 µl x 2)
- Ligation Mix (836 µl x 2)
- Ligation Enhancer (87 µl x 2)

* Pour 32 échantillons, deux kits de 16 échantillons sont fournis.

* SOPHiA GENETICS est le distributeur exclusif de ce kit de préparation de bibliothèque.

†La stabilité des réactifs congelés du SOPHiA GENETICS™ Dx DNA Library Prep Kit III est garantie pour un maximum de 2 cycles de congélation-décongélation avant utilisation.



IMPORTANT : Pour en savoir plus, consultez les avertissements et précautions ci-dessous



AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Nom du produit	PICTOGRAMME E SGH	Mentions de dangers et conseils de prudence	Mot indicateur	Composant dangereux
2X Tampon d'hybridation		• H300 Mortel en cas d'ingestion. • H311 Toxique par contact cutané. • H315 Cause une irritation cutanée. • H370 Cause des dommages aux organes. • H370 Cause des dommages aux organes (système nerveux central). • H411 Toxique pour les organismes aquatiques, avec des effets durables à long terme. • P260 Ne pas respirer les vapeurs/vaporiser. • P264 Laver soigneusement la peau contaminée après manipulation. • P270 Ne pas ingérer, boire ou fumer durant l'utilisation de ce produit. • P273 Éviter de déverser dans l'environnement. • P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux et du visage. • P301+P310 En cas d'ingestion : Appeler immédiatement un centre anti-poison/médecin. • P302+P352 En cas de contact avec la peau : Laver abondamment à l'eau. • P308+P311 En cas d'exposition ou d'inquiétude : Appeler un centre anti-poison ou un médecin. • P321 Traitement spécifique (lire les conseils médicaux sur cette étiquette). • P330 Rincer la bouche. • P332+P313 En cas d'irritation cutanée : Consulter un médecin. • P362+P364 Retirer les vêtements contaminés et les laver avant de les remettre.	Danger	Chlorure de tétraméthylammonium Concentration : 49 % CAS : 75-57-0



Nom du produit	PICTOGRAMME E SGH	Mentions de dangers et conseils de prudence	Mot indicateur	Composant dangereux
		• P391 Recueillir le produit déversé. • P405 Entreposer dans un endroit fermé à clé. • P501 Jeter le contenu/contenant conformément aux réglementations nationales.		
Amplificateur pour tampon d'hybridation		• H351 Potentiellement cancérigène. • H360 Peut nuire à la fertilité ou au fœtus. • H373 Peut causer des dommages aux organes à la suite d'expositions répétées ou prolongées. • P201 Se procurer des instructions spéciales avant l'utilisation. • P202 Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité. • P260 Ne pas respirer les vapeurs/aérosols. • P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux et du visage. • P308+P313 En cas d'exposition ou d'inquiétude : Consulter un médecin. • P314 Appeler un médecin en cas de malaise. • P405 Entreposer dans un endroit fermé à clé. • P501 Jeter le contenu/contenant conformément aux réglementations nationales.	Danger	Formamide Concentration : 100 % CAS : 75-12-7
10x tampon de lavage rigoureux		• H302 Mortel en cas d'ingestion. • H315 Cause une irritation cutanée. • H319 Cause une sévère irritation oculaire	Danger	Sel disodique d'acide éthylènediaminetétraacétique Concentration : 2,5 % CAS : 6381-92-6
10x tampon de lavage I		• H228 Solide inflammable. • H302 Mortel en cas d'ingestion. • H315 Cause une irritation cutanée.	Danger	Dodécylsulfate de sodium Concentration : 4,9 % CAS : 151-21-3



PICTOGRAMM				
Nom du produit	E SGH	Mentions de dangers et conseils de prudence	Mot indicateur	Composant dangereux
		• H318 Cause de graves lésions oculaires. • H332 Mortel en cas d'inhalation. • H401 Toxique pour les organismes aquatiques. • H402 Nocif pour les organismes aquatiques. • H412 Nocif pour les organismes aquatiques, avec des effets durables à long terme. • P273 Éviter de déverser dans l'environnement. • P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux et du visage. • P305+P351+P338 En cas de contact avec les yeux : Rincer avec précaution avec de l'eau pendant plusieurs minutes. Si la personne porte des lentilles de contact, elle doit les enlever, si possible. Continuer de rincer les yeux. • P310 Appeler immédiatement un centre anti-poison/médecin. • P501 Jeter le contenu/contenant conformément aux réglementations nationales.		
Fragmentation Buffer		• H302 - Nocif en cas d'ingestion. • H370 - Risque avéré d'effets graves pour les organes. • H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. • P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. • P260 - Ne pas respirer les vapeurs. • P270 - Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. • P264 - Se laver ... soigneusement après manipulation. • P308 + P311 - En cas d'exposition : Appeler un CENTRE ANTI-POISON ou un médecin.	Danger	Chlorure de tétraméthylammonium Concentration : 1 % - 3 % CAS : 75-57-0



PICTOGRAMM				
Nom du produit	E SGH	Mentions de dangers et conseils de prudence	Mot indicateur	Composant dangereux
		- P301 + P312, P330 - EN CAS D'INGESTION : Appelez un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Rincer la bouche. - P405 - Garder sous clé. - P501 - Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation locale, régionale, nationale et internationale en vigueur.		



Veuillez utiliser

et



comme équipement de protection individuelle.

5.1.2. Matériel requis (non fourni)

CONSOMMABLES FOURNIS PAR L'UTILISATEUR (À ACHETER SÉPARÉMENT)

- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase
- Tubes de 1,5 ml à faible liaison d'ADN
- Tubes de 1,5 ml
- Tubes coniques de 50 ml
- Pointes à filtre
- Éthanol (grade biologie moléculaire)
- Réactifs de séquençage Illumina®

MATÉRIEL DE LABORATOIRE

Pour qualifier les échantillons : Système Agilent Fragment Analyzer™

Pour éviter la contamination de l'échantillon :

- Zone pré-PCR
 - Matériel et réactifs pour la quantification fluorimétrique
 - Support de séparation magnétique (96 puits)
 - Pipettes multicanaux (P10 ou P20 ; P100 ; P200)



- Microcentrifugeuse de table (compatible avec des barrettes de 8 tubes)
- Thermocycleur (couvercle chauffant à température programmable)
- Mélangeur à vortex
- Zone post-PCR
 - Système d'électrophorèse capillaire
 - Concentrateur sous vide d'ADN
 - Matériel et réactifs pour la quantification fluorimétrique
 - Support de séparation magnétique (compatible avec les tubes de 1,5 ml)
 - Support de séparation magnétique (96 puits)
 - Pipettes multicanaux (P10 ou P20 ; P100 ; P200)
 - Microcentrifugeuse de table (compatible avec des barrettes de 8 tubes)
 - Thermocycleur (couvercle chauffant à température programmable)
 - Bloc thermostatique ou bain-marie (compatible avec les tubes de 1,5 ml)
 - Mélangeur à vortex

5.2. Préparation de bibliothèque

5.2.1. Préparation de l'ADN

CONSOMMABLES

- ADN extrait de tissus fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine (ADN FFPE)
- IDTE
- Eau exempte de nucléase
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

IMPORTANT



La solution SOPHiA DDM™ Dx HRD est conçue pour les échantillons présentant un contenu tumoral d'au moins 30 pourcent. Le traitement d'ADN issu d'échantillons ayant un contenu tumoral inférieur à 30 % n'est pas possible avec cette solution.

La qualité de l'ADN extrait de tissus FFPE est variable et risque d'avoir une incidence sur les données de séquençage. L'exposition au formol nuit à l'intégrité de la molécule et génère une fragmentation de l'ADN. Elle entraîne aussi le séquençage d'artéfacts en raison d'évènements de désamination.

L'intégrité de l'ADN des échantillons d'ADN FFPE doit être évaluée avant toute expérience par électrophorèse sur gel haute résolution sur Fragment Analyzer (Agilent).



Évaluation de la qualité de l'ADN : Analyser 5 à 10 ng d'ADN génomique sur le Agilent Fragment Analyzer™ System en utilisant le kit HS Large Fragment 50 kb (DNF-464-0500). La qualité de l'ADN génomique est évaluée avec le DQN (DNA quality number). Fixez le seuil pour le DQN à 375 pb et extrayez le DQN pour vos échantillons d'ADN.



Important : Traiter un échantillon sans mesurer le DQN ou un DQN inférieur à 3 peut entraîner un rendement de préparation de bibliothèque de génome entier sous-optimal et une qualité de données de NGS insuffisante pouvant donner des résultats non concluants (voir la section Avertissements et limites).

En fonction de la qualité de l'ADN, adaptez le protocole comme indiqué dans le *Tableau 1* en page 20.

Tableau 1. Quantités d'ADN recommandées pour l'entrée en fonction de la qualité de l'ADN

RECOMMANDATIONS D'ENTRÉE EN FONCTION DE LA QUALITÉ DE L'ADN			
Qualité de l'ADN	DQN < 3 Moins de 30 % de fragments d'ADN mesurant plus de 375 pb	3 ≤ DQN ≤ 5 30 à 50 % de fragments d'ADN mesurant plus de 375 pb	5 < DQN ≤ 10 Plus de 50 % de fragments d'ADN mesurant plus de 375 pb
Quantité d'ADN (ng)	Ne pas traiter l'échantillon	100 ng*	50 ng

*S'il n'est pas possible d'utiliser 100 ng de matériau d'entrée en raison de quantités insuffisantes de matériau d'origine, nous recommandons d'utiliser 50 ng de matériau d'entrée et d'augmenter le nombre de cycles PCR à 10 cycles à l'étape 5.2.6 afin d'obtenir un rendement de bibliothèque suffisant.

Pour éviter toute erreur avec l'entrée d'ADN, il est recommandé d'obtenir une concentration comprise entre 10 et 20 ng/μl. La concentration de l'ADN doit être confirmée par une détermination fluorimétrique (par ex. : Qubit®, Thermo Fisher) et la valeur obtenue permettra de calculer la dilution finale.

PROCÉDURE

1. Préparez les barrettes PCR suivantes, conformément au nombre de réactions :

NOMBRE DE RÉACTIONS	8	16	24	32
Barrette PCR	4 tubes	8 tubes	8 tubes	8 tubes
Nombre de barrettes	2	2	3	4

2. Préparez une dilution pour chaque échantillon d'ADN extrait dans le nombre approprié de barrettes PCR en procédant comme suit :

DILUTION D'ADN	
ADN	Quantité d'ADN (voir <i>Tableau 1</i> en page 20)
IDTE	Complétez à 40 μl

3. Mélangez brièvement en pipetant doucement 5 fois, puis en centrifugeant brièvement dans une microcentrifugeuse pour recueillir tout le liquide.



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



5.2.2. Préparation de pré-mélanges et de réactifs

COMPOSANTS ET RÉACTIFS

- Fragmentation Enzyme Mix
- Fragmentation Buffer
- Amplificateur pour ligature
- Mélange pour ligature
- PCR Master Mix 2x
- Eau exempte de nucléase
- Billes AMPure® XP
- Éthanol

PRÉPARATION

- Retirez les composants du kit SOPHiA GENETICS™ Dx DNA Library Prep Kit III du congélateur à -20 °C et laissez décongeler sur de la glace.
- Retirez les billes AMPure® XP du réfrigérateur à 2-8 °C et laissez-les atteindre la température ambiante en au moins 30 minutes. Mélangez soigneusement les billes AMPure® XP, afin de garantir une remise en suspension adéquate des billes avant de les utiliser pour toutes les étapes suivantes.
- Préparez de l'éthanol frais à 80 % (volume comme suit, en fonction du nombre de réactions).

80 % ÉTHANOL				
Nombre de réactions	8	16	24	32
80 % éthanol (en ml)	10	20	30	40

- Vérifiez que le Fragmentation Buffer du kit SOPHiA GENETICS™ Dx DNA Library Prep Kit III est entièrement décongelé.
- Mélangez soigneusement et centrifugez tous les réactifs avant de les utiliser et placez-les sur de la glace.

PRÉ-MÉLANGES

- Préparez le **pré-mélange pour fragmentation** comme suit :

PRÉ-MÉLANGE POUR FRAGMENTATION				
Nombre de réactions	8	16	24	32
Fragmentation Buffer (en µl)	38,4	76,8	115,2	153,6
Enzyme de fragmentation (en µl)	57,6	115,2	172,8	230,4

- Conservez sur de la glace.

- Préparer le **pré-mélange pour ligature** comme suit :

PRÉ-MÉLANGE POUR LIGATURE				
Nombre de réactions	8	16	24	32
Mélange pour ligature (en µl)	418	836	1 254	1 672
Amplificateur pour ligature (en µl)	14,4	28,8	43,2	57,6



- Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.
- Conservez sur de la glace.



Important : Le mélange pour ligation est extrêmement visqueux ; pipetez doucement et veillez à obtenir un pré-mélange pour ligation homogène.

5.2.3. Fragmentation enzymatique, réparation d'extrémité et poly-adénylation

CONSOMMABLES

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

PRÉPARATION

- Programmez le thermocycleur pour la fragmentation avec les paramètres suivants :

	TEMPÉRATURE (°C)	DURÉE (MINUTES)
Couvercle	99	
Étape 1	4	1
Étape 2	37	20
Étape 3	65	30
Maintien	4	∞

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

PROCÉDURE



Important : Veillez à toujours conserver les échantillons et le pré-mélange sur de la glace avant et après l'incubation pour bloquer la réaction enzymatique.

1. Pour faciliter le pipetage, créez un réservoir de pré-mélange pour Fragmentation en ajoutant les volumes suivants à un nouvel ensemble de barrettes à 4 ou 8 tubes, comme suit :

NOMBRE DE RÉACTIONS	8	16	24	32
Barrette PCR (1 barrette)	4 tubes	8 tubes	8 tubes	8 tubes
Pré-mélange pour fragmentation (en µl)	23	23	35	46

2. Combinez les résultats comme suit :



- À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 10 µl de pré-mélange pour 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 pipétant 5 fois et en centrifugeant brièvement dans une microcentrifugeuse.
3. Placez les échantillons dans le thermocycleur et continuez le programme Fragmentation.

Passez directement à la section Ligature.

5.2.4. Ligature

CONSOMMABLES

- Produits de la réaction de fragmentation dans 50 µl chacun
- Pré-mélange pour ligature
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

PRÉPARATION

- Pendant la fragmentation, préparez de nouvelles barrettes PCR avec 5 µl d'adaptateur universel Stubby par tube de la manière suivante :

NOMBRE DE RÉACTIONS	8	16	24	32
Barrette PCR (1 barrette)	4 tubes	8 tubes	8 tubes	8 tubes
Nombre de barrettes	2	2	3	4

- Configurez le thermocycleur à une température de 20 °C (couvercle ouvert).

PROCÉDURE



Important : Veillez à toujours conserver les échantillons et le pré-mélange sur de la glace avant et après l'incubation pour bloquer la réaction enzymatique.

1. Pour faciliter le pipetage, créez un réservoir contenant un pré-mélange de ligature dans un nouvel ensemble de barrettes PCR, de la manière suivante :

NOMBRE DE RÉACTIONS	8	16	24	32
Barrette PCR (1 barrette)	4 tubes	8 tubes	8 tubes	8 tubes
Pré-mélange pour ligature (en µl)	100	100	150	200

2. À l'aide d'une pipette multicanaux, transférez les 50 µl de chaque produit de réaction de fragmentation vers les barrettes de 4 ou 8 tubes contenant 5 µl d'adaptateur universel Stubby.



3. Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.
4. À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 45 µl du pré-mélange de ligature à chaque produit de réaction de fragmentation (55 µl dans chaque tube de la barrette de 4 ou 8 tubes).
5. Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.
6. Incubez dans le thermocycleur à 20 °C pendant 15 minutes (couvercle ouvert).

Passez à la section Nettoyage suite à une ligature.



Important : Veillez à ne pas placer la ou les barrettes sur de la glace à la fin de la ligature, au risque d'altérer la liaison de l'ADN aux billes.

5.2.5. Nettoyage après ligature

CONSOMMABLES

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

PROCÉDURE

1. À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 80 µl de billes AMPure® XP dans chacun des 100 µl de produits de réaction de ligature. Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois.
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.

Gardez 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.

Retirez les tubes du support magnétique.

10. À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 20 µl d'IDTE aux billes.



Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.

Passez à la section Amplification de bibliothèque.

5.2.6. Amplification de bibliothèque

CONSOMMABLES

- Produits de la réaction de ligation et billes remises en suspension dans 20 µl d'IDTE chaque
- PCR Master Mix 2x
- 32 Unique Dual Index Primer Plate for Illumina®

PRÉPARATION

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

	TEMPÉRATURE (°C)	DURÉE (SECONDES)	
Couvercle	99	-	
Étape 1 : Dénaturation initiale	98	120	
Étape 2 : Dénaturation	98	20	8 cycles
Étape 3 : Hybridation	60	30	
Étape 4 : Extension	72	30	
Étape 5 : Extension finale	72	60	
Maintien	10	∞	

PROCÉDURE

1. Pour faciliter le pipetage, créez un réservoir de PCR Master Mix 2x en ajoutant les volumes suivants à un nouvel ensemble de barrettes à 4 ou 8 tubes, comme suit :

NOMBRE DE RÉACTIONS	8	16	24	32
Barrette PCR (1 barrette)	4 tubes	8 tubes	8 tubes	8 tubes
PCR Master Mix 2x (en µl)	60	60	85	120



2. Combinez les résultats comme suit :
 - À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 5 µl d'amorce à index double unique différente par tube aux produits de ligature et aux billes, selon votre stratégie d'indexation.
 - Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.
 - À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 25 µl de PCR Master Mix 2x aux produits de ligature et aux billes (50 µl dans des barrettes de 4 ou 8 tubes). Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.
3. Placez les tubes dans le thermocycleur et exécutez le programme Amplification de bibliothèque.



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

5.2.7. Nettoyage après amplification

CONSOMMABLES

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

PROCÉDURE

1. À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 50 µl de billes AMPure® XP dans chacun des 50 µl de produit PCR. Mélangez soigneusement en pipetant 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. Éliminez avec précaution 90 µl de surnageant à l'aide d'une pipette multicanaux.

Gardez 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. Laissez les tubes reposer verticalement entre 30 secondes et 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.

Retirez les tubes du support magnétique.



10. À l'aide d'une pipette multicanaux, ajoutez 30 µl d'eau exempte de nucléase aux billes. Mélangez soigneusement en pipetant 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. Transférez soigneusement 28 µl de surnageant vers un nouveau tube de stockage de bibliothèque étiqueté.



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

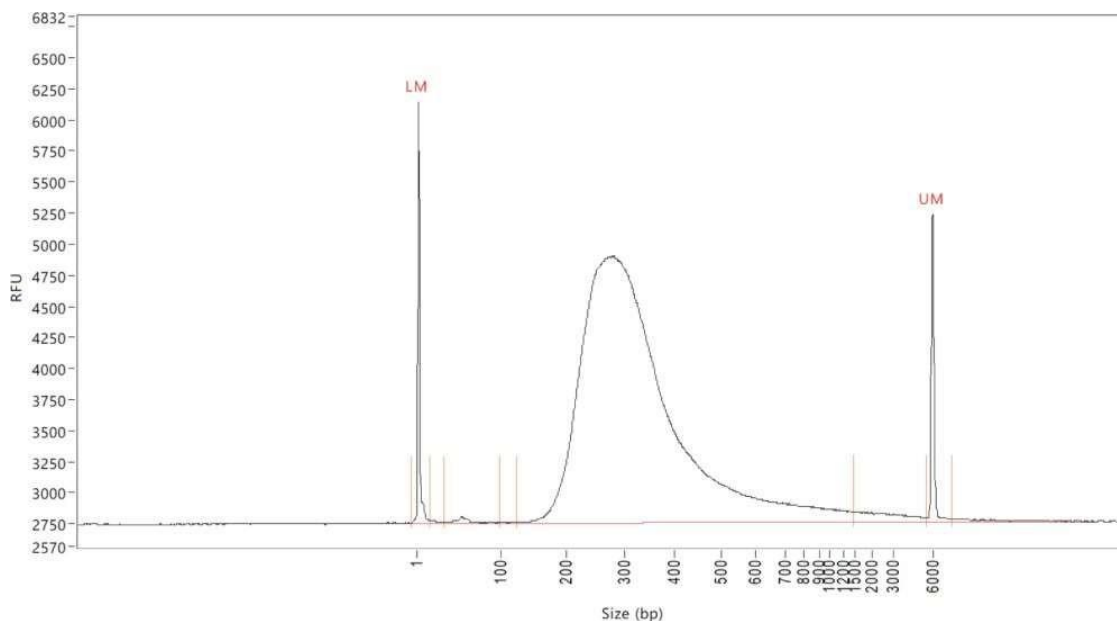
5.2.8. Quantification et contrôle qualité individuels de la bibliothèque

CONSOMMABLES

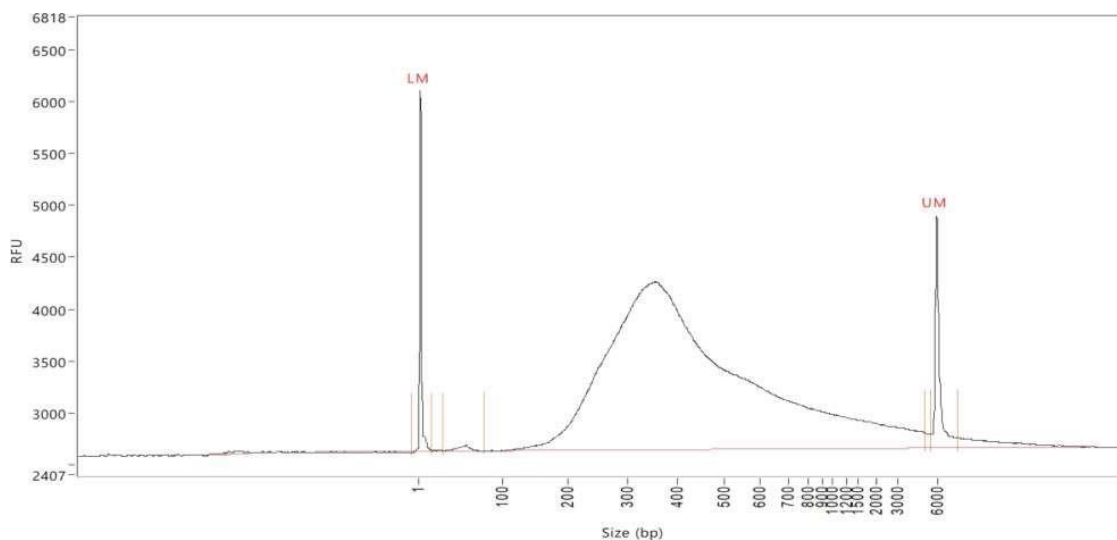
- Matériel et réactifs pour la quantification fluorimétrique
- Système d'électrophorèse capillaire
- Eau exempte de nucléase
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase

PROCÉDURE

1. Préparer une dilution quadruple de chaque bibliothèque avec de l'eau exempte de nucléase (p. ex., 2 µl de bibliothèque dans 6 µl d'eau exempte de nucléase).
2. Quantifier les bibliothèques par une méthode fluorimétrique (p. ex., quantification Qubit HS utilisant 2 µl de la dilution quadruple de bibliothèque mentionnée ci-dessus).
3. Contrôler la qualité des bibliothèques en analysant leur profil par électrophorèse capillaire. Les fragments d'ADN des bibliothèques doivent avoir une distribution de tailles comprise entre 200 pb et 800 pb.



Exemple d'une distribution de bibliothèques d'ADN obtenue avec le système d'électrophorèse capillaire Agilent Fragment Analyzer™. LM désigne le marqueur bas, UM le marqueur haut.



Exemple d'une distribution de bibliothèques d'ADN obtenue avec le système d'électrophorèse capillaire Agilent Fragment Analyzer™. LM désigne le marqueur bas, UM le marqueur haut.

5.2.9. Regroupement de bibliothèques pour séquençage de génome entier (SGE) passe-bas

CONSOMMABLES

- Bibliothèques individuelles
- IDTE
- Tubes de 1,5 ml à faible liaison d'ADN



PROCÉDURE

1. Déterminez la molarité de chaque bibliothèque avec la taille moyenne de la bibliothèque (taille du pic en paires de bases) et la concentration (ng/μl) obtenue à l'étape 5.2.8 comme suit :

$$\text{Molarité de la bibliothèque (nM)} = \frac{\text{Concentration de la bibliothèque (ng/μl)}}{\text{Taille moyenne en paires de bases} \times 649,5} \times 10^6$$

2. Transférez 2 μl de chaque bibliothèque individuellement dans un nouveau tube et diluez à 10 nM avec de l'IDTE.
3. Regroupez les bibliothèques individuelles à 10 nM en combinant 5 μl de chaque dilution de bibliothèque. Combinez les mêmes bibliothèques dans un regroupement qui sera combiné dans le groupe de capture. Lors du traitement de plusieurs captures, créez le même nombre de groupes de séquençage de génome entier qu'il y a de groupes de captures.

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

5.3. Capture

5.3.1. Regroupement de bibliothèques pour hybridation et capture

CONSOMMABLES

- Bibliothèques individuelles
- Human Cot DNA
- Universal Blockers - TS Mix
- Tubes de 1,5 ml à faible liaison d'ADN

PROCÉDURE

1. Préparez le pré-mélange suivant dans un tube à faible liaison d'ADN :

NOMBRE DE CAPTURES	1	2	3	4
Human Cot DNA (en μl)	5	11	16,5	22
Universal Blockers – TS Mix (en μl)	2	4,4	6,6	8,8

2. Dans le cas de deux captures ou plus, pipetez 7 μl du pré-mélange ci-dessus dans des tubes individuels à faible liaison d'ADN.
3. Ajoutez un regroupement de 8 bibliothèques individuelles en utilisant 200 ng de chaque (total de 1 600 ng) par capture dans les tubes individuels contenant le pré-mélange ci-dessus.
4. Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.



- Faites sécher chaque mélange en utilisant un concentrateur d'ADN sous vide jusqu'à ce que le mélange soit complètement lyophilisé. Chauffez modérément (45 - 50 °C) pour accélérer la lyophilisation.



Conseil : Point d'arrêt de sécurité pendant la nuit à -20 °C.

5.3.2. Hybridation

CONSOMMABLES

- Bibliothèques lyophilisées
- 2x tampon d'hybridation
- Amplificateur pour tampon d'hybridation
- Sondes HRD_v1
- Eau exempte de nucléase
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase
- Tubes de 1,5 ml
- 10x tampon de lavage I
- 10X tampon de lavage II
- 10X tampon de lavage III
- 10x tampon de lavage rigoureux
- 2x tampon de lavage de billes

PRÉPARATION

- Préchauffez le thermocycleur à 95 °C (couvercle à 99 °C).
- Après une dénaturation de 10 minutes, passez directement à une température de 65 °C (couvercle à 75 °C).



Important : Il est recommandé d'utiliser différents thermocycleurs pour les incubations à 95 °C et 65 °C, si possible.

PROCÉDURE

- Préparez un pré-mélange d'hybridation conformément au nombre de réactions de capture :

NOMBRE DE CAPTURES	1	2	3	4
2x tampon d'hybridation (en µl)	8,5	18,7	28,05	37,4
Amplificateur pour tampon d'hybridation (en µl)	3,4	7,48	11,22	14,96
Eau exempte de nucléase (en µl)	1,1	2,42	3,63	4,84

- Resuspendez la pastille lyophilisée dans 13 µl du pré-mélange d'hybridation.
- Transférez la pastille resuspendue vers un nouveau tube PCR (un tube par réaction de capture).
- Incubez dans le thermocycleur à 95 °C pendant 10 minutes.



Important : Veillez à maintenir la température du tube à 65 °C des étapes 4 à 6, afin d'éviter une mauvaise hybridation des sondes.

- Transférez le tube PCR du thermocycleur à 95 °C vers celui à 65 °C, puis ajoutez 4 µl de sondes au mélange. À l'aide d'une pipette configurée à 13 µl, mélangez soigneusement en pipetant 5 fois.
- Incubez dans le thermocycleur à 65 °C pendant 4 à 16 heures.



7. Préparez préalablement les 1x solutions de travail des différents tampons de lavage, comme expliqué dans les pages suivantes, afin qu'ils puissent s'équilibrer pendant la réaction d'hybridation.

PRÉPARATION D'UN TAMPON DE LAVAGE POUR 1 RÉACTION

TAMPON	STOCK TAMPON (μl)	EAU (μl)	1X VOLUME FINAL (μl)
10x tampon de lavage I	33	297	330
10x tampon de lavage II	22	198	220
10x tampon de lavage III	22	198	220
10x tampon de lavage rigoureux	44	396	440
2x tampon de lavage de billes	275	275	550



Important : Préchauffez 1x tampon de lavage rigoureux et une aliquote de 110 μl de 1x tampon de lavage I à 65 °C dans un bloc thermostatique ou au bain-marie pendant au moins 2 heures. Conservez le tampon de lavage I restant à température ambiante.

PRÉPARATION D'UN TAMPON DE LAVAGE POUR 2 RÉACTIONS

TAMPON	STOCK TAMPON (μl)	EAU (μl)	1X VOLUME FINAL (μl)
10x tampon de lavage I	66	594	660
10x tampon de lavage II	44	396	440
10x tampon de lavage III	44	396	440
10x tampon de lavage rigoureux	88	792	880
2x tampon de lavage de billes	550	550	1 100



Important : Préchauffez 1x tampon de lavage rigoureux et une aliquote de 220 μl de 1x tampon de lavage I à 65 °C dans un bloc thermostatique ou au bain-marie pendant au moins 2 heures. Conservez le tampon de lavage I restant à température ambiante.



PRÉPARATION D'UN TAMPON DE LAVAGE POUR 3 RÉACTIONS

TAMPON	STOCK TAMPON (μl)	EAU (μl)	1X VOLUME FINAL (μl)
10x tampon de lavage I	99	891	990
10x tampon de lavage II	66	594	660
10x tampon de lavage III	66	594	660
10x tampon de lavage rigoureux	132	1 188	1 320
2x tampon de lavage de billes	825	825	1 650



Important : Préchauffez 1x tampon de lavage rigoureux et une aliquote de 330 μl de 1x tampon de lavage I à 65 °C dans un bloc thermostatique ou au bain-marie pendant au moins 2 heures. Conservez le tampon de lavage I restant à température ambiante.

PRÉPARATION D'UN TAMPON DE LAVAGE POUR 4 RÉACTIONS

TAMPON	STOCK TAMPON (μl)	EAU (μl)	1X VOLUME FINAL (μl)
10x tampon de lavage I	132	1 188	1 320
10x tampon de lavage II	88	792	880
10x tampon de lavage III	88	792	880
10x tampon de lavage rigoureux	176	1 584	1 760
2x tampon de lavage de billes	1 100	1 100	2 200



Important : Préchauffez 1x tampon de lavage rigoureux et une aliquote de 440 μl de 1x tampon de lavage I à 65 °C dans un bloc thermostatique ou au bain-marie pendant au moins 2 heures. Conservez le tampon de lavage I restant à température ambiante.

5.3.3. Préparation des billes de streptavidine

CONSOMMABLES

- Billes de streptavidine équilibrées à température ambiante
- 1x tampon de lavage de billes
- Tubes de 1,5 ml
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase



PROCÉDURE

Exécutez ces étapes juste avant la fin de l'incubation d'hybridation.

1. Mélangez les billes au vortex pendant 15 secondes.
2. Transférez 100 µl de billes par capture (200 µl pour 2 réactions, 300 µl pour 3 réactions, 400 µl pour 4 réactions) dans un seul tube de 1,5 ml.
3. Placez le tube sur un support magnétique et laissez-le reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.
4. Ajoutez 200 µl de 1x tampon de lavage de billes par capture (400 µl pour 2 réactions, 600 µl pour 3 réactions, 800 µl pour 4 réactions) dans le tube. Agitez au vortex pendant 10 secondes.
5. Placez le tube sur un support magnétique et laissez-le reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.
6. Répétez les étapes 4 et 5 une fois.
7. Ajoutez 100 µl de 1x tampon de lavage de billes par capture (200 µl pour 2 réactions, 300 µl pour 3 réactions, 400 µl pour 4 réactions) dans le tube. Agitez au vortex pendant 10 secondes.
8. Transférez 100 µl de billes nettoyées dans un nouveau tube PCR (un tube par réaction de capture).
9. Placez le(s) tube(s) sur un support magnétique à 96 puits et laissez-le(s) reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.



Important : Veillez à ce que les billes ne s'assèchent pas.

Passez immédiatement à la section Liaison de cibles hybridées aux billes.

5.3.4. Liaison de cibles hybridées aux billes

CONSOMMABLES

- Billes de streptavidine nettoyées dans un ou plusieurs tubes PCR
- Réaction(s) d'hybridation

PROCÉDURE



Important : Travaillez avec diligence pour maintenir une température proche de 65 °C.

1. Retirez la ou les réactions d'hybridation du thermocycleur et ralentissez brièvement la rotation du ou des tubes, puis replacez-le(s) dans le thermocycleur.
2. Placez les tubes de billes de streptavidine lavés dans le thermocycleur (pas plus de deux tubes à la fois pour éviter l'assèchement des billes).
3. Pour chaque réaction d'hybridation, transférez 17 µl de solution à la réaction d'hybridation dans un tube PCR contenant des billes nettoyées. Resuspendez les billes en pipetant jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.



4. Liez l'ADN aux billes en plaçant le(s) tube(s) dans un thermocycleur à 65 °C (couvercle à 75 °C). Incubez pendant 45 minutes.
5. Pendant l'incubation, pipetez doucement le(s) tube(s) toutes les 15 minutes pour maintenir les billes en suspension.

Passez directement à la section Lavage des billes de streptavidine pour retirer l'ADN non lié.

5.3.5. Lavage des billes de streptavidine pour retirer l'ADN non lié

CONSOMMABLES

- Cibles hybridées sur des billes
- Barrettes de 8 tubes de 0,2 ml exempts de RNase/DNase
- Tubes de 1,5 ml à faible liaison d'ADN
- 1x tampon de lavage I (1/3 à 65 °C et 2/3 à température ambiante)
- 1x tampon de lavage II
- 1x tampon de lavage III
- 1x tampon de lavage rigoureux (à 65 °C)
- Eau exempte de nucléase
- IDTE

PROCÉDURE



Veillez à maintenir une température proche de 65 °C pour les étapes 1 à 7.

Remarque : Si 2 tubes de capture ou plus sont utilisés, travaillez de manière échelonnée entre les étapes 2 et 8, notamment :

1. Lorsque le premier tube est placé dans le bloc thermostatique à 65 °C pour la première incubation de 5 min (étape 5), activez une minuterie.
2. Commencez le traitement du second tube.
3. Lors du placement du second tube à 65 °C, notez le temps séparant les différents tubes et veillez à respecter cet écart tout au long des étapes 2 à 8 afin de garantir un temps d'incubation exact de 5 min à 65 °C pour chaque tube avec un lavage rigoureux.

1. Ajoutez 100 µl de 1x tampon de lavage I (à 65 °C) dans chaque tube de billes de streptavidine/cible hybridé.
2. Pour chaque tube, resuspendez et transférez le mélange vers un nouveau tube de 1,5 ml à faible liaison d'ADN. Si deux tubes de capture ou plus sont utilisés, travaillez de manière échelonnée comme indiqué ci-dessus.
3. Placez le tube sur un support magnétique et laissez-le reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.



4. Ajoutez 200 µl de 1x tampon de lavage rigoureux (à 65 °C) dans le tube. Resuspendez doucement les billes en pipetant.

5.



Un mélange vigoureux des billes avec le tampon de lavage rigoureux pourrait altérer la qualité de la capture.

6. Incubez à 65 °C pendant 5 minutes.
7. Placez le tube sur un support magnétique et laissez-le reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.
8. Répétez les étapes 4 et 6 une fois.

Travaillez à température ambiante.

9. Ajoutez 200 µl de 1x tampon de lavage I (à température ambiante) dans votre tube. Resuspendez doucement les billes en pipetant.

Remarque : Si 2 tubes de capture ou plus sont utilisés pour effectuer le travail ; à partir de cette étape, traitez tous les tubes simultanément.

10. Agitez au vortex pendant 2 minutes.
11. Placez le(s) tube(s) sur un support magnétique et laissez-le(s) reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.
12. Ajoutez 200 µl de 1x tampon de lavage II dans chaque tube. Agitez au vortex pendant 1 minute.
13. Placez le(s) tube(s) sur un support magnétique et laissez-le(s) reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.
14. Ajoutez 200 µl de 1x tampon de lavage III dans chaque tube. Agitez au vortex pendant 30 secondes. Centrifugez brièvement pour recueillir tout le liquide.
15. Placez le(s) tube(s) sur un support magnétique et laissez-le(s) reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.
16. Ajoutez 200 µl de 1x IDTE dans chaque tube. Resuspendez les billes. Centrifugez brièvement pour recueillir tout le liquide.
17. Placez le(s) tube(s) sur un support magnétique et laissez-le(s) reposer verticalement jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Retirez avec précaution le surnageant et jetez-le.
18. Retirez tout le liquide restant à l'aide d'une pipette P10 ou P20.
19. Ajoutez 20 µl d'eau exempte de nucléase dans chaque tube, resuspendez et transférez le mélange billes/eau vers un nouveau tube PCR.



5.3.6. Amplification post-capture

CONSOMMABLES

- Suspension de billes de streptavidine/d'eau exempte de nucléase (20 µl)
- Master Mix pour PCR post-capture 2X
- Post Capture Illumina® Primers Mix
- Amplificateur PCR
- Eau exempte de nucléase

PRÉPARATION

- Programmez le thermocycleur pour une amplification post-capture avec les paramètres suivants :

	TEMPÉRATURE (°C)	DURÉE (SECONDES)	
Couvercle	99	-	15 cycles
Étape 1 : Dénaturation initiale	98	120	
Étape 2 : Dénaturation	98	20	
Étape 3 : Hybridation	60	30	
Étape 4 : Extension	72	30	
Étape 5 : Extension finale	72	60	
Maintien	10	∞	

PROCÉDURE

1. Préparez le pré-mélange pour PCR comme suit :

PRÉ-MÉLANGE POUR PCR				
Nombre de réaction(s)	1	2	3	4
Master Mix pour PCR post-capture 2X (en µl)	25	55	82,5	110
Post Capture Illumina® Primers Mix (en µl)	2,5	5,5	8,25	11
Amplificateur PCR (en µl)	2,5	5,5	8,25	11

2. Ajoutez 30 µl de pré-mélange pour PCR à chaque suspension de billes. Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois et centrifugez brièvement.



- Placez le(s) tube(s) dans le thermocycleur et exécutez le programme Amplification post-capture.



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

5.3.7. Nettoyage de l'amplification post-capture

CONSOMMABLES

- Produits de la réaction de ligation dans 50 µl chacun
- Billes AMPure® XP équilibrées à température ambiante
- Éthanol frais à 80 %
- IDTE
- Tubes à faible liaison d'ADN pour le stockage des bibliothèques

PROCÉDURE

- Ajoutez 50 µl de billes AMPure® XP dans chacun des 50 µl de produits de la réaction PCR. Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois.
- Incubez à température ambiante pendant 5 minutes et centrifugez brièvement si nécessaire pour éliminer le liquide des parois du tube.
- Placez le(s) tube(s) sur un support magnétique pendant 5 minutes ou jusqu'à ce que le liquide devienne transparent.
- Éliminez avec précaution 90 µl de surnageant à l'aide d'une pipette multicanaux.

Gardez le(s) tube(s) sur le support magnétique pour les étapes suivantes.

- Au moyen d'une pipette multicanaux, ajoutez 170 µl d'éthanol à 80 % aux billes. Laissez le(s) tube(s) reposer verticalement entre 30 secondes et 1 minute.
- Éliminez l'éthanol avec précaution.
- Répétez les étapes 5 et 6 une fois.
- Retirez l'éthanol résiduel en utilisant une pipette P10 ou P20.
- 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.

Retirez le(s) tube(s) du support magnétique.

- Ajoutez 20 µl d'IDTE aux billes. Mélangez soigneusement en pipetant 10 fois. Incubez à température ambiante pendant 5 minutes et centrifugez brièvement pour éliminer le liquide des parois du tube.
- Placez le(s) tube(s) sur un support magnétique pendant 5 minutes ou jusqu'à ce que le liquide devienne transparent.
- Transférez soigneusement 18 µl de surnageant (il est recommandé de transférer deux fois 9 µl dans cette étape) vers un nouveau tube de stockage de bibliothèque étiqueté.



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



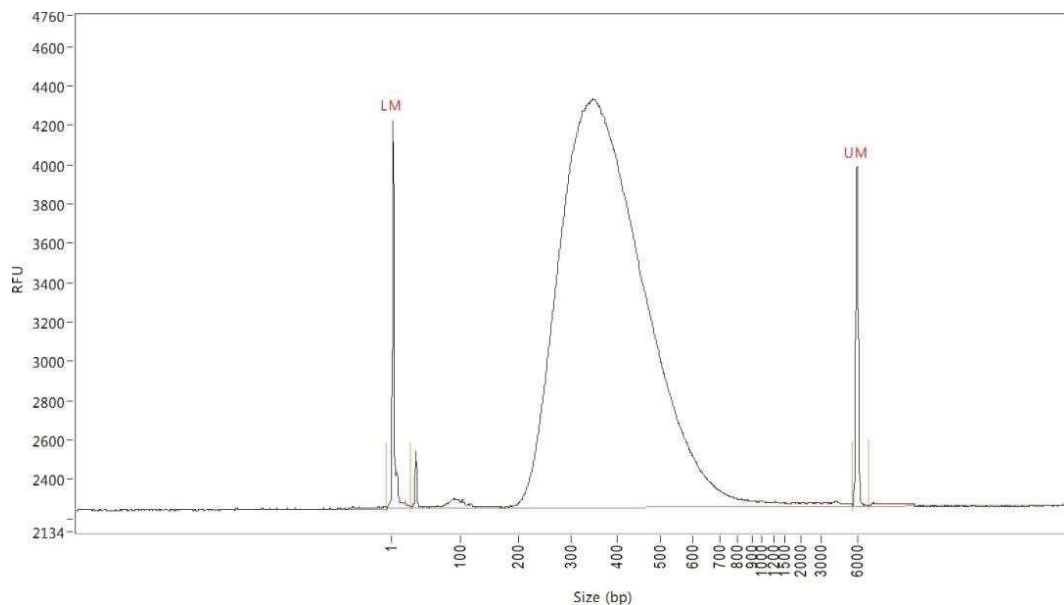
5.3.8. Quantification et contrôle qualité finals de la bibliothèque

CONSOMMABLES

- Matériel et réactifs pour la quantification fluorimétrique
- Système d'électrophorèse capillaire

PROCÉDURE

1. Quantifier chaque regroupement de bibliothèques capturé par une méthode fluorimétrique (p. ex., quantification Qubit HS utilisant 2 µl de la bibliothèque).
2. Contrôler la qualité du regroupement de bibliothèques capturé en analysant leur profil par électrophorèse capillaire. Les fragments d'ADN des bibliothèques doivent avoir une distribution de tailles comprise entre 200 pb et 800 pb.



Exemple de distribution de tailles d'un regroupement de bibliothèques post-capture obtenue avec le système d'électrophorèse capillaire Agilent Fragment Analyzer™. LM désigne le marqueur bas, UM le marqueur haut.



5.4. Séquençage

5.4.1. Préparation de bibliothèque pour le séquençage

CONSOMMABLES

- Kit de séquençage Illumina® NextSeq®
- Bibliothèques capturées finales
- Tampon EBT ou similaire

PROCÉDURE

1. Déterminez la molarité de chaque regroupement capturé avec la taille moyenne de la bibliothèque (taille du pic en paires de bases) et la concentration (ng/μl) obtenue à l'étape 5.3.8 comme suit :

$$\text{Molarité de la bibliothèque (nM)} = \frac{\text{Concentration de la bibliothèque (ng/μl)}}{\text{Taille moyenne en paires de bases} \times 649,5} \times 10^6$$

2. Diluez chaque regroupement capturé à 10 nM.
3. Décongelez le regroupement de séquençage de génome entier généré en 5.3.1.
4. Pour générer le groupe de séquençage, combinez chaque regroupement capturé avec son groupe de séquençage de génome entier correspondant en mélangeant 3,3 μl de regroupement capturé avec 6,7 μl de groupe de séquençage de génome entier.
5. En cas de traitement de plusieurs groupes de séquençage, mélangez-les en quantités égales (ex. : 5 μl de chaque) en suivant le tableau de recommandations de séquençage ci-dessous :

TYPE DE KIT POUR SYSTÈME NEXTSEQ 500/ 550	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS PAR RUN
Mid-Output	8 échantillons (1 regroupement)
High-Output	24 échantillons (3 regroupements)

6. Mélangez soigneusement et utilisez cette dilution conformément aux recommandations de dénaturation standard Illumina®.
7. Pour charger la dilution, voir le tableau ci-dessous :

TYPE DE KIT POUR SYSTÈME NEXTSEQ 500/ 550	CHARGEMENT DE LA DILUTION
Mid-Output	1,3 pM
High-Output	1,4 pM
[Ajustez la dilution (1,1 pM à 1,5 pM) selon le nombre de clusters obtenus lors du premier run]	

8. Pour connaître le nombre de lectures recommandé par échantillon, voir le tableau ci-dessous :



LONGUEUR DE LECTURE (EN PB)	NOMBRE TOTAL DE LECTURES RECOMMANDÉ PAR ÉCHANTILLON	PAIRES DE LECTURES RECOMMANDÉES (FRAGMENTS) PAR ÉCHANTILLON
2 X 150	32 millions	16 millions

Remarque : L'augmentation du nombre de lectures par échantillon devrait fournir des appels de variants plus sûrs et plus sensibles, plus particulièrement dans les régions qui présentent une profondeur de lecture relativement faible. Consultez la section 9. *Avertissements, limitations et précautions*.



6. PROCEDURE D'ANALYSE

6.1. Démultiplexage des données NGS

L'utilisateur doit effectuer un démultiplexage des données NGS en suivant les instructions contenues dans le guide d'utilisation du séquenceur Illumina® NextSeq® 500/550 (ex. : Guide des systèmes NextSeq® 550, Document # 15069765 v07). Comme cela est indiqué par Illumina®, un démultiplexage autonome d'analyses de tiers peut être effectué avec bcl2fastq v2.0 ou au-delà (Guide du logiciel de conversion bcl2fastq2 v2.20, Document #15051736 v03).



Remarque : Les utilisateurs doivent noter que l'usage de l'option de séparation sans trajectoire dans bcl2fastq ou l'usage d'autres workflows de démultiplexage automatisés peut provoquer des noms de fichiers incompatibles avec SOPHiA DDM™ Dx mode. Consultez le manuel d'utilisation de SOPHiA DDM™ Dx mode pour prendre connaissance des instructions.

6.2. Chargement et analyse des données

L'utilisateur se connecte à SOPHiA DDM™ Dx mode et sélectionne la SOPHiA DDM™ Dx Homologous Recombination Deficiency Solution dans la fenêtre « My product(s) » pour lancer le chargement des données de NGS. Pour créer une nouvelle demande d'analyse génomique, veuillez consulter la section « Créer une demande d'analyse » du manuel d'utilisation des IVD SOPHiA DDM™ Dx mode pour plus d'instructions. Une fois l'analyse achevée, les utilisateurs reçoivent une notification par courrier électronique. Si aucune notification n'est reçue dans les 24 heures suivant le lancement du processus de chargement des données, les utilisateurs doivent contacter l'assistance.



Remarque : Tous les échantillons de la nouvelle demande d'analyse doivent avoir été traités dans le même run de séquençage et avoir été préparés avec les mêmes réactifs de test.

6.3. Génération du rapport

Une fois que les fichiers de séquençage (FASTQ) ont été téléchargés, l'évolution de l'analyse peut être suivie dans le widget « My Genomic Analysis Requests » du tableau de bord ou dans le navigateur. Une fois l'opération terminée, le compte rendu de solution SOPHiA DDM™ Dx HRD généré pour chaque échantillon de la demande est accessible et peut être téléchargé au format PDF. Le Manuel d'utilisation de SOPHiA DDM™ Dx mode peut être utilisé pour obtenir des instructions détaillées concernant l'analyse.



CE-IVD Report
 2022, Mar 18

SOPHiA DDM Dx Homologous Recombination Deficiency Solution Report

Patient ID
patient1

Sample ID
HRD-70

// Homologous Recombination Deficiency

SOPHiA DDM Dx HRD status
POSITIVE

// Genomic Integrity

Genomic Integrity Status
Positive

Genomic Integrity Index
16.6

Genomic Integrity QA Status
High

// Analysis

Request name
Trial

CE-IVD Product
SOPHiA DDM Dx Homologous Recombination Deficiency Solution

SOPHiA DDM Dx version
0.0.0

Signature _____

// Intended purpose

The SOPHiA DDM Dx Homologous Recombination Deficiency Solution is an in vitro diagnostic medical device that can be used as an aid to determine the Homologous Recombination Deficiency (HRD) status of tumors in patients with ovarian cancer by the semi-quantitative detection of the Genomic Instability biomarker. The device is intended to be used by healthcare professionals and is based on a next generation sequencing (NGS) workflow taking genomic DNA extracted from FFPE treated tumor material as input.

Request number: 12345 Patient ID: patient1
 Report date: 2022, Mar 18 10:00:12 Sample ID: HRD-70

1 / 1

Figure 2. Exemple de compte rendu de solution SOPHiA DDM™ Dx HRD.

Le compte rendu de solution SOPHiA DDM™ Dx HRD présente : le statut SOPHiA DDM™ Dx HRD, le statut d'intégrité génomique, l'indice d'intégrité génomique, le statut d'AQ d'intégrité génomique. Le tableau 2 de la page 43 contient une vue d'ensemble des résultats possibles.



Tableau 2. Résultats possibles de compte rendu de solution SOPHiA DDM™ Dx HRD

Statut SOPHiA DDM™ Dx HRD	Statut d'intégrité génomique	Statut d'AQ d'intégrité génomique	Description
Positive	Positive	High	Appel positif à niveau de confiance élevé.
Positive	Positive	Medium	Appel positif à niveau de confiance élevé. Les données NGS satisfont les critères de qualité nécessaires pour juger un échantillon comme positif. Cependant, les données NGS sont de qualité sous-optimale et/ou le contenu tumoral de l'échantillon est faible.
Negative	Negative	High	Appel négatif à niveau de confiance élevé.
Negative	Negative	Medium	Appel négatif à niveau de confiance élevé. Les données NGS satisfont les critères de qualité nécessaires pour juger un échantillon comme négatif. Cependant, les données NGS sont de qualité sous-optimale et/ou le contenu tumoral de l'échantillon est faible.
Negative	Negative*	Medium	Appel négatif à niveau de confiance moyen avec risque accru de faux-négatif. Les données NGS ne satisfont pas les critères de qualité nécessaires pour juger un échantillon comme négatif avec un niveau de confiance élevé. Le rapport signal/bruit au sein des données NGS est faible, ce qui peut refléter un contenu tumoral insuffisant de l'échantillon. Nous recommandons de vérifier que l'échantillon d'ADN satisfait les exigences de qualité de contenu tumoral et d'ADN.
Undetermined	Inconclusive	Medium	Le statut SOPHiA DDM™ Dx HRD ne peut pas être déterminé en raison d'un rapport signal/bruit insuffisant au sein des données NGS utilisées pour l'analyse d'intégrité génomique. Ce résultat peut refléter soit l'absence d'importantes altérations du nombre de copies au sein de l'échantillon, soit un contenu tumoral insuffisant de l'échantillon. Nous recommandons de répéter l'expérience avec un nouvel échantillon d'ADN et de vérifier que son contenu tumoral et sa qualité sont suffisants.
Undetermined	Rejected	Low	Le statut SOPHiA DDM™ Dx HRD ne peut pas être déterminé car les données NGS utilisées pour l'analyse d'intégrité génomique sont de qualité insuffisante. Nous recommandons de répéter l'expérience en vérifiant que le contenu tumoral de l'échantillon et la qualité de l'ADN sont suffisants et que les instructions du protocole sont bien respectées.



7. DESCRIPTION ET PARAMETRES DE L'ANALYSE

7.1. Fichiers de ressource

L'alignement est effectué par rapport au génome de référence GRCh37 (aussi nommé hg19). Les sources disponibles publiquement de toutes ces exigences se trouvent à l'adresse suivante :

Génome de référence GRCh37 - hg19 :

https://storage.googleapis.com/genomics-public-data/references/b37/Homo_sapiens_assembly19.fasta.gz

7.2. Prétraitement des données brutes

Prétraitement

- Collectez les mesures de la qualité sur la base des fichiers bruts fastq.
- Tronquez les fichiers fastq à une taille maximum de 2 500 MB.

Alignement

- Coupez les adaptateurs et réduisez les extrémités de qualité basse des lectures (qualité de base inférieure à 20).
- Alignez les lectures sur le génome de référence hg19 en mode extrémités associées.
- Calculez les statistiques d'alignement et les mesures de couverture sur les fichiers d'alignement bruts.
- Réduisez les séquences d'adaptateurs saillantes.

7.3. Analyse d'intégrité génomique

L'analyse d'intégrité génomique vise à détecter le HRD en évaluant le degré d'instabilité génomique. Une réparation fonctionnelle de la recombinaison homologue est nécessaire pour réparer sans erreur les cassures de double brin et pour maintenir l'intégrité génomique. L'une des conséquences du HRD est la perte d'intégrité génomique via l'accumulation d'aberrations génomiques dues à l'incapacité de la cellule à réparer les cassures de double brin. Notre analyse de l'intégrité génomique vise à évaluer ces aberrations génomiques à l'aide du séquençage de génome entier (SGE). Plus particulièrement, notre méthode utilise un algorithme d'apprentissage en profondeur qui a été spécifiquement formé pour reconnaître les types d'instabilité génomique au sein du profil de couverture de séquençage de génome entier. L'algorithme analyse les données de séquençage de génome entier passe-bas (lpWGS) et produit un indice d'intégrité génomique (IG) qui reflète le niveau d'intégrité génomique. Un indice d'intégrité génomique supérieur à 0 indique une faible intégrité génomique. Un indice d'intégrité génomique inférieur à 0 indique une intégrité génomique élevée.

Pendant l'analyse d'intégrité génomique, les étapes algorithmiques suivantes sont exécutées successivement pour chaque échantillon : les premières données de séquençage de génome entier passe-bas (lpWGS) sont prétraitées et subissent une évaluation de qualité, puis l'indice d'intégrité génomique est calculé, et un statut d'intégrité génomique est affecté à l'échantillon. Ces étapes sont décrites dans les sections ci-dessous.



Étape 1 : Prétraitement des données et évaluation de la qualité de l'échantillon :

1. Les lectures de séquençage de génome entier à extrémités associées sont cartographiées par rapport au génome de référence humain et traitées afin de restreindre les adaptateurs et les appels de base de mauvaise qualité. Le profil de couverture de séquençage de génome entier est calculé et normalisé.
2. Le profil de couverture de séquençage de génome entier normalisé subit une assurance qualité sur la base des mesures définies à la fin de cette section. L'un des statuts d'assurance qualité d'intégrité génomique suivants est affecté à l'échantillon :
 - « High quality » : la qualité des données est suffisante pour calculer en toute confiance un indice et un statut d'intégrité génomique.
 - « Medium quality » : la qualité des données est moins bonne (par rapport à la qualité élevée) et, par conséquent, l'algorithme d'apprentissage en profondeur ne peut calculer d'indice d'intégrité génomique.
 - « Low quality » : la qualité des données ne satisfait pas les critères requis pour calculer un indice d'intégrité génomique.

Étape 2 : Calcul de l'indice d'intégrité génomique :

L'indice d'intégrité génomique est obtenu en traitant le profil de couverture de séquençage du génome entier normalisé à l'aide d'un algorithme d'apprentissage en profondeur exclusif qui a été formé afin de reconnaître les types d'instabilité génomique.

Étape 3 : Détermination du statut d'intégrité génomique :

Un statut d'intégrité génomique qui s'applique à des échantillons de cancer ovarien est déterminé en combinant le statut d'assurance qualité de l'échantillon et l'indice d'intégrité génomique. Cinq résultats sont possibles :

- « **GI positive** » : échantillons à indice d'intégrité génomique supérieur ou égal à 0.
- « **GI negative** » : échantillons à indice d'intégrité génomique inférieur à 0.
- « **GI negative*** » : échantillons à indice d'intégrité génomique inférieur à 0 mais présentant un risque accru d'appels faux-négatifs en raison du faible rapport signal/bruit.
- « **GI inconclusive** » : échantillons de qualité moyenne pour lesquels l'algorithme d'apprentissage en profondeur n'a pas réussi à calculer d'indice d'intégrité génomique en raison d'un rapport signal/bruit insuffisant.
- « **GI rejected** » : échantillons de mauvaise qualité éliminés de l'analyse d'intégrité génomique. Les échantillons sont rejetés si le nombre de fragments d'ADN disponibles pour le calcul du profil de couverture de séquençage de génome entier est insuffisant, si le bruit du profil de couverture de séquençage de génome entier est excessif, ou si la part de valeurs aberrantes de couverture est excessive.

Définition des mesures d'assurance qualité et d'intégrité génomique

- **Nombre total de fragments** : Nombre total de fragments d'ADN (lectures à extrémités associées) correctement cartographiés.
- **Nombres de Fragments SGE** : Nombre total de fragments d'ADN disponibles pour le calcul du profil de couverture de séquençage de génome entier brut. Les fragments d'ADN cartographiés par rapport aux régions génomiques enrichies pour l'appel de variant sont exclus. Cette mesure d'assurance qualité est comparée avec un seuil de 4 millions afin de déterminer le statut d'assurance qualité d'intégrité génomique.



- **Pourcentage de fragments SGE** : Fraction du nombre total de fragments de séquençage du génome entier par rapport au nombre total de fragments.
- **Proportion des valeurs aberrantes de couverture** : Pourcentage de régions de séquençage du génome entier pris en considération pour l'analyse d'intégrité génomique et qui présentent une couverture localisée artificielle et excessive qui est compensée par l'algorithme de normalisation de couverture. Cette mesure d'assurance qualité est comparée avec un seuil de 20 % afin de déterminer le statut d'assurance qualité d'intégrité génomique.
- **Rapport pureté/ploïdie** : Rapport entre le contenu tumoral de l'échantillon et la ploïdie de l'échantillon, estimé en mesurant l'intensité du signal induit dans le profil de couverture de séquençage du génome entier normalisé par un changement de nombre de copies. Cette mesure d'assurance qualité d'intégrité génomique est comparée avec un seuil de 0,1 (suggérant un faible contenu tumoral) afin de déterminer le statut d'assurance qualité d'intégrité génomique. L'incapacité à mesurer le rapport pureté/ploïdie à partir des données est également utilisée pour déterminer le statut d'assurance qualité d'intégrité génomique.
- **Bruit résiduel** : Le bruit résiduel est calculé en mesurant l'écart-type du profil de couverture de séquençage du génome entier normalisé par rapport au profil de couverture lissé. Cette mesure d'assurance qualité est comparée avec un seuil de 0,17 afin de déterminer le statut d'assurance qualité d'intégrité génomique.
- **SNR** : Intensité du signal induit dans le profil de couverture de séquençage du génome entier normalisé par toutes les aberrations de nombre de copies présentes dans l'échantillon, divisée par le bruit résiduel. Cette mesure d'assurance qualité d'intégrité génomique est comparée avec un seuil de 0,55 afin de déterminer le statut d'assurance qualité d'intégrité génomique. Le SNR est également pris en considération par l'algorithme afin d'affecter le statut « GI Negative* » et « GI Inconclusive ».
- **Statut QA** : Statut d'évaluation de qualité d'intégrité génomique d'un échantillon.
- **Indice GI** : L'indice d'intégrité génomique est une valeur scalaire, comprise entre -20 et 20, qui reflète le niveau d'intégrité génomique. Des indices d'intégrité génomique élevés reflètent de faibles niveaux d'intégrité génomique. Des indices d'intégrité génomique faibles reflètent des niveaux d'intégrité génomique élevés.
- **Statut GI** : Statut d'intégrité génomique d'un échantillon.

7.4. Calcul du statut SOPHiA DDM™ Dx HRD

Le pipeline de bio-informatique calcule le statut SOPHiA DDM™ Dx HRD sur la base du statut d'intégrité génomique conformément au tableau suivant.

Statut d'intégrité génomique	Statut SOPHiA DDM™ Dx HRD
Positive	Positive
Negative	Negative
Negative*	Negative
Inconclusive	Undetermined
Rejected	Undetermined



8. ÉVALUATION DES PERFORMANCES

8.1. Évaluation des performances analytiques

8.1.1. Concordance du statut d'intégrité génomique avec le test NGS de comparaison

Les performances analytiques du statut d'intégrité génomique ont été évaluées sur 238 échantillons d'ADN extraits d'échantillons FFPE de cancer de l'ovaire ayant un DQN ≥ 3 , séquencés sur Illumina® NextSeq® 550, pour lesquels un résultat d'instabilité génomique concluant avait été obtenu avec le test NGS de comparaison.

Sur les 238 échantillons inclus à l'analyse, 5 ont donné un statut d'intégrité génomique non concluant (taux de rejet : 2,1 %). Le tableau suivant montre les performances calculées des 233 échantillons restant pour lesquels un statut d'intégrité génomique concluant a été obtenu.

Mesure	Valeur
Pourcentage de concordance positive (PPA)	92,9 %
Pourcentage de concordance négative (NPA)	95,8 %
Pourcentage de concordance globale (OPA)	94,4 %

8.1.2. Limite de détection du contenu tumoral de l'échantillon pour le statut d'intégrité génomique

La limite de détection pour le statut d'intégrité génomique en relation avec le contenu tumoral de l'échantillon a été établie en mesurant le contenu tumoral le plus faible pour lequel la sensibilité est supérieure ou égale à 95 %. La limite de détection mesurée est de 28,5 % de contenu tumoral.

8.1.3. Répétabilité du statut d'intégrité génomique

La répétabilité du statut d'intégrité génomique a été établie sur la base des résultats obtenus lors d'expériences indépendantes réalisées avec plusieurs échantillons.

Caractéristique	Répétabilité du statut GI	Écart-type de l'index d'intégrité génomique (moyenne/plage des échantillons)
Répétabilité	100 %	0,26 / [0,23 - 0,32]



8.1.4. Reproductibilité du statut d'intégrité génomique

La reproductibilité du statut d'intégrité génomique a été établie sur la base des résultats obtenus par des laboratoires indépendants auxquels avaient été fournies des aliquotes des mêmes échantillons de référence.

Caractéristique	Reproductibilité du statut GI	Écart-type de l'index d'intégrité génomique (moyenne/plage des échantillons)
Reproductibilité inter-tests	100 %	0,47 / [0,00 - 1,48]
Reproductibilité inter-sites	100 %	1,00 / [0,43 - 2,14]
Reproductibilité inter-lots	100 %	-

8.1.5. Interférences endogènes et exogènes

Une analyse de risques a été effectuée pour déterminer l'incidence possible d'interférents endogènes et exogènes sur les performances du test. Une recherche documentaire et l'étude de produits NGS similaires ont permis d'identifier les interférents potentiels.

Certaines substances, comme la protéinase K, la formaline, l'hémoglobine, les colorants de marquage des tissus et l'éthanol, sont des inhibiteurs reconnus des réactions enzymatiques intervenant dans la préparation de banques d'ADN. Si leur concentration est assez élevée, elles peuvent réduire l'efficacité des enzymes et faire échouer l'analyse (« pas de résultat »), sans pour autant générer d'appels de variants erronés ou une mauvaise classification du statut GI. Les autres substances évaluées (notamment les triglycérides, la paraffine, et le xylène) n'ont pas interféré avec le déroulement du test.

Aucun mécanisme n'a été mis en évidence permettant aux interférents d'être à l'origine de faux positifs ou de faux négatifs dans la détermination du statut GI. En conclusion, la présence d'interférents pourrait accroître la probabilité d'un échec du test, mais n'influe pas sur la spécificité analytique ni sur la détermination du statut GI.

8.1.6. Transfert et contamination croisée

Le risque de transfert d'un run à l'autre ou d'un échantillon à l'autre, ainsi que les réactions croisées potentielles, ont été traités et réduits par des stratégies expérimentales et informatiques.

Les risques associés au transfert ont été évalués en étudiant le fonctionnement du séquenceur NextSeq550, en appliquant les procédures de contrôle qualité existantes, et en analysant des ensembles de données simulant des processus de transfert. En parallèle, les risques de réactions croisées ont été maîtrisés grâce à l'algorithme de la solution SOPHiA DDM Dx HRD pour le calcul de l'indice GI et du statut GII qui garantit la fiabilité face à des modèles de couverture génomique qui risqueraient sinon de fausser les attributions. La fiabilité de cet algorithme a été validée par des analyses portant sur des valeurs de couverture aberrantes, ciblées ou aléatoires, démontrant l'absence d'impact sur la précision du diagnostic du statut GII. Globalement, les résultats de cette évaluation des risques montrent que les événements de transfert et de réactions croisées ne représentent pas un risque significatif pour les fonctions d'appel de variants et de statut GII de la solution SOPHiA DDM Dx HRD.



8.2. Évaluation des performances cliniques

Les performances cliniques de la solution SOPHiA DDM™ Dx HRD ont été établies dans une étude clinique observationnelle rétrospective sur 110 extraits d'ADN de matériau tumoral dérivés de FFPE. Tous les échantillons ont été dérivés de cancers de l'ovaire. Le contenu tumoral défini de tous les échantillons était compris entre 30 et 90 %. La qualité des extraits d'ADN a été évaluée par détermination du DQN sur Fragment Analyzer (Agilent Technologies, Inc.) en utilisant comme seuil 300 pb. Tous les extraits d'ADN avaient un DQN >3, 105 extraits d'ADN avaient un DQN >5, 5 extraits d'ADN avaient un DQN ≤5.

Le statut HRD de référence de tous les échantillons avait été établi par un test génomique de DIV du commerce combinant l'analyse de l'instabilité génomique et de la mutation de BRCA1/BRCA2. La comparaison de ce statut HRD de référence avec le statut SOPHiA DDM™ Dx HRD défini dans l'étude clinique a permis de calculer la sensibilité diagnostique, la spécificité diagnostique, les valeurs prédictives positives et négatives et les ratios de probabilité positifs et négatifs. Sur les 110 échantillons, 15 ont été exclus des calculs en raison de résultats invalides : 8 échantillons avaient un statut SOPHiA DDM™ Dx HRD indéterminé, 12 un échec pour le statut HRD de référence, et 5 un statut invalide avec les deux méthodes.

Mesure	Valeur (IC 95 %)
Sensibilité diagnostique	80,9 % [67,5 %-89,6 %]
Spécificité diagnostique	93,7 % [83,2 %-97,9 %]
Valeur prédictive positive	92,7 %
Valeur prédictive négative	83,3 %
Ratio de probabilité positif	12,9
Ratio de probabilité négatif	0,2



9. AVERTISSEMENTS, LIMITATIONS ET PRECAUTIONS

9.1. Avertissements

- Pour les diagnostics in-vitro uniquement. Toute décision relative à la prise en charge et au traitement de patients doit être fondée sur l'avis médical indépendant du médecin traitant, en tenant compte de toutes les informations applicables concernant l'état du patient, comme ses antécédents personnels et familiaux, les examens physiques, les informations apportées par d'autres tests diagnostiques et les préférences du patient, conformément aux normes de soins en vigueur dans une communauté donnée.
- La solution SOPHiA DDM™ Dx HRD a été validée sur de l'ADN extrait d'échantillons FFPE de cancer de l'ovaire avec un DQN ≥ 3 (mesuré à l'aide du système Agilent Fragment Analyzer™), un contenu tumoral ≥ 30 %, et séquencé sur Illumina® NextSeq® 500/550.
- Une mauvaise qualité des données de séquençage nouvelle génération brutes peut perturber l'analyse des données et donner des résultats faux-positifs, faux-négatifs et non concluants.
- Les utilisateurs doivent vérifier que la qualité de leurs échantillons d'ARN satisfait les critères minimum de qualification :
 - Contenu tumoral ≥ 30 %
 - DQN ≥ 3 , mesuré à l'aide du système Agilent Fragment Analyzer™
 - 50 ng ou 100 ng d'ADN d'entrée selon le DQN (voir protocole)
- Les dispositifs d'électrophorèse sur gel haute résolution autres que le système Agilent Fragment Analyzer™ (comme Agilent TapeStation) se sont avérés provoquer une estimation biaisée du DQN sur des échantillons d'ADN FFPE. Le système Agilent Fragment Analyzer™ est le seul dispositif adéquat pour qualifier les échantillons pour la solution SOPHiA DDM™ Dx HRD.
- Le traitement d'échantillons disqualifiés peut aboutir à des résultats erronés. SOPHiA GENETICS n'est pas responsable des résultats et des décisions ensuite prises sur la base de ces résultats.
- Un DQN supérieur ou égal à 3 ne peut exclure la présence d'autres problèmes de qualité au sein de l'échantillon d'ADN. Étant donné que la précision d'analyse dépend de la qualité et de la quantité d'ADN, les utilisateurs doivent s'assurer que le workflow complet utilisé pour obtenir l'ADN d'entrée est compatible avec le dosage, avant de passer aux analyses cliniques.
- Le statut SOPHiA DDM™ Dx HRD repose exclusivement sur les résultats de l'analyse d'intégrité génomique et ne prend pas en considération le statut mutationnel des autres gènes. Un statut SOPHiA DDM™ Dx HRD négatif n'exclut pas la présence de mutations d'autres gènes.



9.2. Limitations

- Le produit a été conçu pour traiter le volume de données produit par un seul run de Illumina® NextSeq® 500/550 (cellules de débit MidOutput et HighOutput). La taille maximale de la demande ne peut dépasser 200 Go. La taille maximale de fichier par échantillon ne peut dépasser 50 Go. Le pipeline effectue un sous-échantillonnage aléatoire des lectures pour tous les échantillons qui dépassent 5 Go de fichiers fastq compressés.
- Même si les recommandations de multiplexage des échantillons sont respectées, le nombre total de lectures peut être insuffisant pour pouvoir donner des résultats concluants, pour différentes raisons, comme une mauvaise qualité de l'échantillon, une mauvaise qualité des données NGS, une affectation de lectures très irrégulière entre les bibliothèques WGS et les bibliothèques capturées, ou une affectation de lectures très irrégulière les échantillons multiplexés au cours du même run.
- Le produit ne détecte ni ne signale les événements de contamination croisée d'échantillons.
- L'exécution incorrecte de l'extraction de l'ADN, de la préparation de la bibliothèque et/ou du séquençage peut mener au rejet de l'échantillon et à des résultats faux positifs ou faux négatifs.
- L'exécution incorrecte de l'étape de capture peut mener au rejet de l'échantillon en raison d'une couverture de lecture hors cible excessive.
- Le produit ne mesure ni ne signale le contenu tumoral des échantillons.
- La limite de détection pour la détermination du statut SOPHiA DDM™ Dx HRD et du statut d'intégrité génomique est un contenu tumoral de 30 %. Traiter des échantillons présentant un contenu tumoral <30 % entraînera probablement l'obtention de résultats GI non concluants ou négatifs*, mais peut aussi donner des résultats faux négatifs.
- Les échantillons avec statut SOPHiA DDM™ Dx HRD négatif et statut d'intégrité génomique négatif* sont associés à une valeur prédictive négative plus faible.
- Les données de séquençage de génome entier passe-bas ne permettent pas de distinguer de manière fiable les échantillons sans altérations importantes du nombre de copies des échantillons dont le contenu tumoral est insuffisant. Traiter des échantillons ne présentant pas d'altérations importantes du nombre de copies donnera des résultats GI non concluants.
- Les paramètres de QA GI et l'indice GI communiqués aux utilisateurs sont arrondis à partir des valeurs de pleine précision (utilisées pour définir les statuts QA et GI) à la première ou deuxième décimale selon le paramètre concerné.



9.3. Précautions

- Les normes et procédures des bonnes pratiques de laboratoire ainsi que le strict respect des instructions du mode d'emploi sont nécessaires pour obtenir de bonnes performances du produit. Tout écart par rapport aux instructions relatives à la manipulation des échantillons, au protocole de laboratoire, au multiplexage et au séquençage peut affecter négativement la qualité des données NGS brutes.
- Des pièces distinctes pré- et post-PCR doivent être utilisées afin d'empêcher la contamination des échantillons d'ADN.
- Utilisez des pipettes correctement étalonnées et un équipement de laboratoire approprié pour réaliser l'expérience.
- Ne mélangez pas des réactifs portant des numéros de lot différents.
- Conservez et manipulez les réactifs conformément aux instructions qui figurent sur les boîtes des kits, et ne les réutilisez pas si leur date d'expiration est dépassée.
- Certains réactifs peuvent nécessiter des précautions de sécurité. Pour des informations spécifiques relatives à la sécurité, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) correspondantes pour chaque composant du produit.
- La concentration en EDTA recommandée dans le tampon de stockage d'ADN est de 0,1 mM. Tout excédent d'EDTA dans les tampons de stockage d'échantillons peut affecter le traitement des échantillons.
- Pour des instructions détaillées sur le logiciel, consultez le manuel d'utilisation de SOPHiA DDM™ Dx mode.



10. SYMBOLES

Symbole	Titre
	Consulter le mode d'emploi
	Numéro de référence
	Code du lot (Numéro de lot)
	Attention
	Fabricant
	Limite de température
	Date de péremption
	Conformité européenne
	Représentant agréé au sein de la communauté européenne
	Contient suffisamment de réactifs pour <n> tests
	Importateur
	Consultez la Section 5 - Avertissements et précautions.
	Consultez la Section 5 - Avertissements et précautions.
	Consultez la Section 5 - Avertissements et précautions.
	Consultez la Section 5 - Avertissements et précautions.
	Consultez la Section 5 - Avertissements et précautions.
	Box 1
	Box 2



11. ASSISTANCE

En cas de difficulté lors de l'utilisation de SOPHiA DDM™, consultez la section « Dépannage » du Manuel d'utilisation de SOPHiA DDM™ Dx mode ou contactez notre assistance téléphonique au +41 21 694 10 60 ou envoyez-nous un e-mail à l'adresse support@sophiagenetics.com. Consultez le site www.sophiagenetics.com pour plus de détails. Vous pouvez aussi contacter l'assistance par demande sur le Web sur l'écran Dashboard de la section Support de SOPHiA DDM™.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif doit être signalé rapidement à SOPHiA GENETICS et aux autorités compétentes de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.



ANNEXE I. PLAQUES D'AMORCE UNIQUE DUAL INDEX PRIMER PLATE

32 amorces compatibles avec Illumina® Unique Dual Index Primers V2 dans une plaque à 96 puits (7 µl chacun)

	1	2	3	4	5	6	7	...	12
A	sgUDI-49	sgUDI-57	sgUDI-65	sgUDI-73					
B	sgUDI-50	sgUDI-58	sgUDI-66	sgUDI-74					
C	sgUDI-51	sgUDI-59	sgUDI-67	sgUDI-75					
D	sgUDI-52	sgUDI-60	sgUDI-68	sgUDI-76					
E	sgUDI-53	sgUDI-61	sgUDI-69	sgUDI-77					
F	sgUDI-54	sgUDI-62	sgUDI-70	sgUDI-78					
G	sgUDI-55	sgUDI-63	sgUDI-71	sgUDI-79					
H	sgUDI-56	sgUDI-64	sgUDI-72	sgUDI-80					

Séquences d'indices pour les amorces compatibles avec Illumina® Unique Dual Index Primers

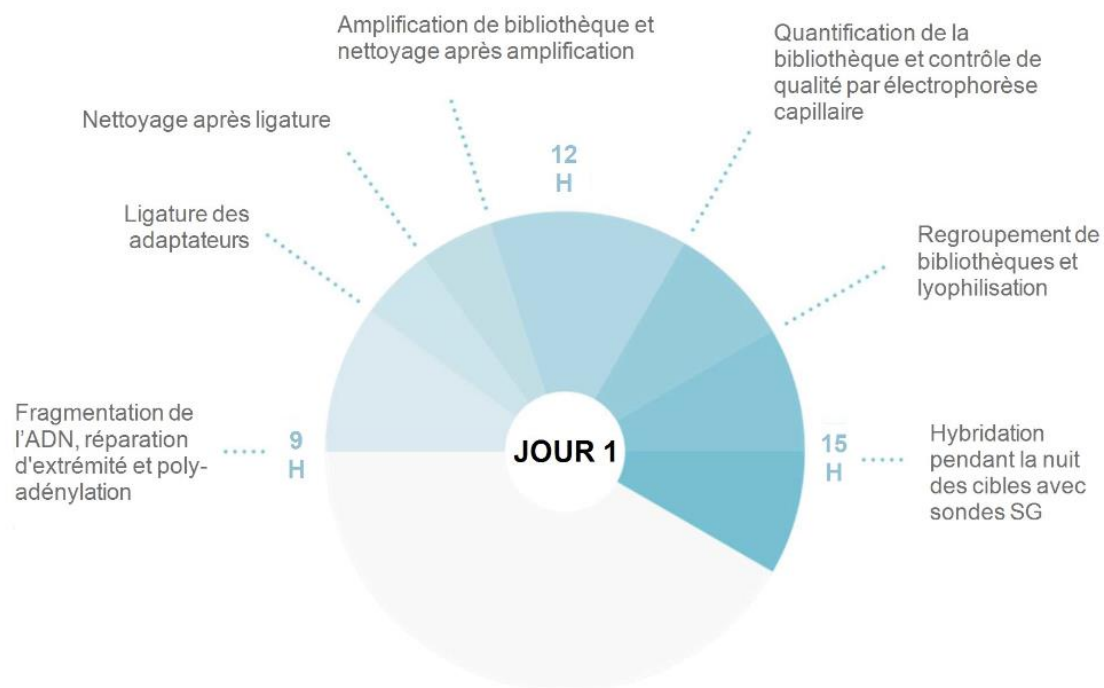
Index	Séquences i5 pour la feuille d'échantillon NextSeq	i7
sgUDI-49	CAGTGAGC	ACCAAGGA
sgUDI-50	CAATCCTG	CAGACCTG
sgUDI-51	AACTAGAC	CGAGCAAC
sgUDI-52	GCCATTCA	TCTTGACT
sgUDI-53	ATTGTCGT	GACAATGG
sgUDI-54	TGGCGTTC	GTTCTACG
sgUDI-55	CAGGACAG	AACGCTGC
sgUDI-56	GTCCTTAT	GGACATCA
sgUDI-57	GGAATGTA	TTGAGCTC
sgUDI-58	AGCTAACC	ACGTTGAG
sgUDI-59	TCAGCAGG	CTTCAGGA
sgUDI-60	GATTGAGG	TGCCAACT
sgUDI-61	ATTCTTCG	AGGTCATG
sgUDI-62	CTCGACTA	TACTAGCA
sgUDI-63	GTGAGGAT	GTAAGTGT
sgUDI-64	ACTGCAGC	TGAGTTGA



Index	Séquences i5 pour la feuille d'échantillon NextSeq	i7
sgUDI-65	CGATTGCC	CCTTAGAC
sgUDI-66	TAAGATGC	TATCGCCA
sgUDI-67	TTCAGCAC	GCAGAACA
sgUDI-68	GCGTCAAT	AGGAATGC
sgUDI-69	AATGCGGC	CGTGAGGT
sgUDI-70	TGACTACA	CAATTCAG
sgUDI-71	TCGGAGGA	GGTCCTTC
sgUDI-72	CTCGATTG	TTCCGGCA
sgUDI-73	CGGACTTA	ATGCCTGA
sgUDI-74	AACTGTCC	TCCAGGAC
sgUDI-75	TCACTCAA	GCTGTCAC
sgUDI-76	ATGTTACG	CGACGATT
sgUDI-77	ACTGCGTA	TCGCAACG
sgUDI-78	GGTCAGGT	GAGTTGTA
sgUDI-79	TCAGGTGG	CGCTAAGG
sgUDI-80	CACGGTGA	TTGCGTGC

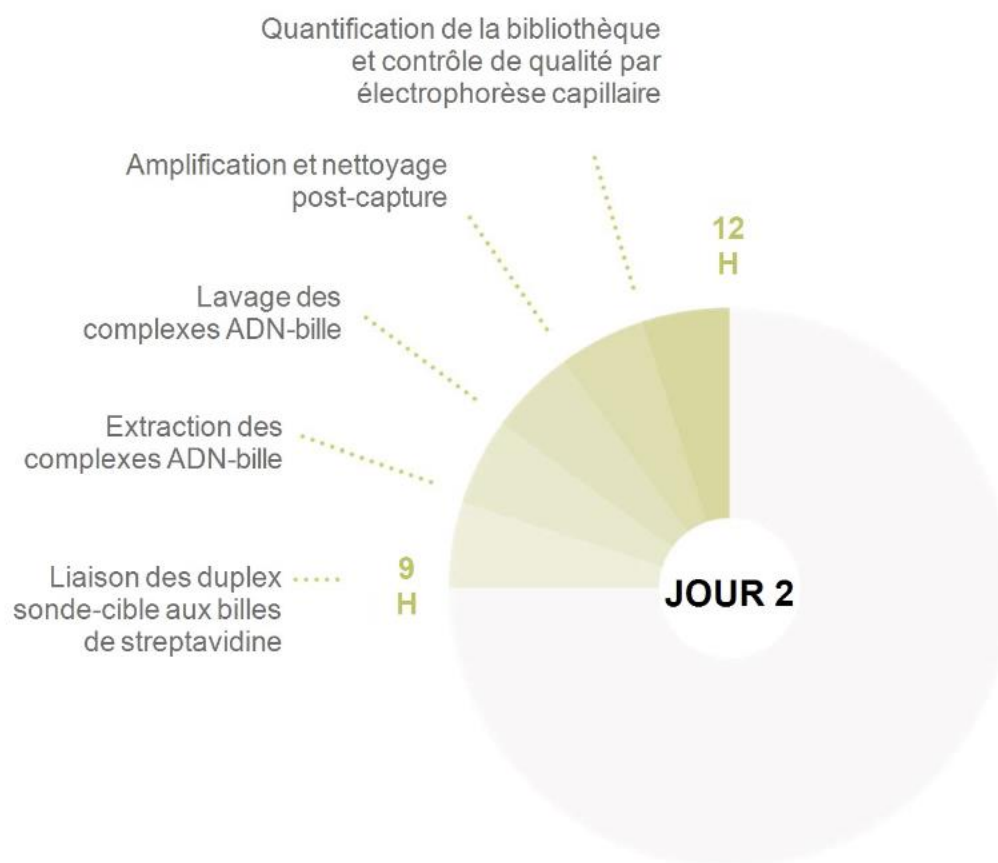


ANNEXE II. WORKFLOW GENERAL – SOPHiA DDM™ CAPTURE SOLUTIONS



PRÉPARATION DE BIBLIOTHÈQUE

Avec SOPHiA GENETICS™ Dx DNA Library Prep Kit III



CAPTURE

FLUX DE TRAVAIL SIMPLE

- 1-2 TUBES SEULEMENT À MANIPULER (BIBLIOTHÈQUES REGROUPEES MULTIPLEX)
- 3 HEURES DE PRÉSENCE SEULEMENT



Document Approvals
Approved Date: 28 Jan 2026

Approval Verdict: Approve	Coleman Spence, (cspence@sophiagenetics.com) Regulatory Approval 28-Jan-2026 01:08:55 GMT+0000
QA Approval Verdict: Approve	Claire Mullane, (cmullane@sophiagenetics.com) Quality Assurance Approval 28-Jan-2026 09:01:17 GMT+0000