



SeqOne platform

Használati utasítás

Érvényes a SeqOne Platform v2.1 verziótól

1. Bevezetés	7
2. Vegye fel a kapcsolatot a gyártóval és a svájci képviselővel	8
3. Orvostechikai eszközökkel kapcsolatos eljárások	8
4. A platform rendeltetése	8
4.1. Rendeltetésszerű használat	8
4.2. Javallat	9
4.3. Leírás	9
4.4. Betegpopuláció	10
4.5. Célcsoport	10
4.6. Jellemzők	10
4.6.1. Analitikai teljesítmény	12
4.6.1.1. Bioinformatikai modulok	13
4.6.1.2. Annotációs modulok	21
4.6.2. Klinikai teljesítmény	23
5. Óvintézkedések	24
5.1. Megfelelő használat	24
5.2. Figyelmeztetések	24
5.3. Korlátozások	26
5.4. Működési zavarok	26
6. Minimális követelmények	27
6.1. Hardver	27
6.2. Hálózat	27
7. Hitelesítés	28
7.1. Bejelentkezés	28
7.2. Kijelentkezés	29
7.3. Főoldal	29
7.4. Felhasználói fiókok kezelése	30
7.4.1. "My Account" kezelése	31
7.4.2. A felhasználói beállítások kezelése – meghatározások	31
Entitás	31
Users	31
Munkakészletek	31
Manifest	31
Panels - Transzkript	32
Panels - Gének	32
Marker	32
Protocols	32
Reporting - Global settings	33
Reporting - Template list	33

Tags	33
API Keys	33
7.4.3. Adminisztrátori felület – a felület bemutatása	34
7.4.4. Váltás a Main és Preview módok között	37
8. A műveleti lépések leírása	38
9. Projekt létrehozása	39
9.1. Projekt létrehozása	39
9.2. Projektek kezelése	40
9.3. Projekt törlése	40
9.4. DNS-adatok (DNS-szekvenálás, ctDNS-szekvenálás)	40
9.5. RNS-adatok (RNS-szekvenálás)	42
9.6. Projektbeállítások	43
9.6.1. Az alapértelmezett projekt QC mutatók konfigurálása	43
9.6.2. A projekt alapértelmezett szűrőprofiljának beállítása	43
10. Mintafeltöltés	44
10.1. Minták feltöltése	44
PC-ről	44
SDS-en keresztül (SeqOne Data Sync)	44
Mintafeltöltés állapota	44
Feltöltési kapacitás	45
10.2. Bemeneti fájlformátum	45
10.2.1. Elsődleges elemzési fájlok	45
10.2.2. Másodlagos elemzési fájlok	46
10.3. Minta metaadatok	48
10.4. Minta szerkesztése	49
10.5. Minta törlése	49
11. Elemzés	50
11.1. Új elemzés indítása	50
11.1.1. Az elemzési munkakészlet kiválasztása	51
A FASTQ fájlokból elérhető elemzési munkakészletek	51
GermlineVar	52
GermVar	52
GermlineVarLR	52
GermlineFamily	53
GermVar Family	53
CNVCapture	55
CNVExome	55
SomaVar	55
SomaCNVCapture	56
SomaRNA	56

SomaMSI	56
SomaHRD	58
SomaVar LF	58
SomaCGP	59
SomaHemato	59
SomaLBx	60
SomaMethyl	60
Másodlagos elemzési fájlokból elérhető elemzési munkakészletek	60
GermVar Tertiary	61
GermVar Tertiary Family	61
SomaVar Tertiary	61
11.1.2. A UMI feldolgozási mód kiválasztása	63
Az UMI feldolgozási módok bemutatása	63
UMI-kezelési folyamat	64
Kompatibilitás az elemzési munkakészletekkel	64
11.2. Elemzés állapota	65
11.3. Minta minősége	65
12. Adatminőség-ellenőrzés	67
12.1. Minőség-ellenőrzési mutatók és jelentés	67
12.1.1. Minőség-ellenőrzési mutatók és minőség-ellenőrzések	67
12.1.2. QC-jelentés	67
12.1.3. „ID-Check” identitás-ellenőrzési jelentés	71
12.1.4. Műszaki jelentés	72
12.1.5. UPD Jelentés	73
UPD Pontszám	73
B-allél gyakoriság (BAF) diagram az UPD jelentésből	74
13. Az elemzési eredmények értelmezése	75
13.1. Elemzési eredmények	75
13.1.1. Az elemzés értelmezési munkafolyamatának kezelése	75
13.1.1.1. Elemzések hozzárendelése értelmezéshez	75
13.1.1.2. Elemzés zárolása	76
13.1.1.3. Az elemzéskezelés oldalsó panele	77
Munkafolyamat modális nézet	78
Beteg modális nézet	79
HPO modális nézet	80
Panel modális nézet	82
13.1.1.4. Az értékelések kezelésére szolgáló oldalsó panel	83
13.1.2. Az elemzési eredmények áttekintése a Dashboard (Műszerfal) fölön	84
13.1.3. Részletes lefedettség exonok szerint	85
Módszertan	85

Megtekintés és értelmezés	86
13.1.4. Kis variánsok	89
Módszertan	89
Vizualizálás és értelmezés	93
Variánsok rendezése	107
A variánsok táblázatának oszlopainak konfigurálása	109
A minta metaadatainak szerkesztése az elemzési panelen	110
Variánsok szűrése	111
Gének és variánsok szűrői	111
Minták és minőség szakasz	111
Frekvenciák szakasz	113
Genetika szakasz	114
Adatbázisok szakasz	115
Átadás és fenotípusok szakasz	116
Osztályozási szakasz	119
Pontszámok szakasz	120
Válasszon indikációt	122
Előre definiált szűrőprofil használata	123
Szűrőprofilok szerkesztése és mentése	123
Kedvenc szűrőprofilok	123
Szűrőprofilok kombinálása	124
SeqOne szűrőprofilok	124
Megtekintettként jelölés funkció	125
Változatok kiválasztása	125
Változatok értékelése	126
Variáns oldal	129
Klinikai jelentés létrehozása	138
13.1.5. CNV	139
13.1.5.1. CNV génpanelelekben	139
Módszertan	139
Megtekintés és értelmezés	140
13.1.5.2. CNV a SomaCGP és SomaLBx elemzésben	145
Módszertan	145
Vizualizálás és értelmezés	145
13.1.5.3. CNV az exomokban és genomokban	146
Az exom módszertana	146
A genom módszertana	147
Megtekintés és értelmezés	147
CNV eredménytáblázat	147
Részletes CNV oldal	151

13.1.6. Nagy variánsnézegető CNVs és SVs számára (LVV)	156
CNVs & SVs eredménytáblázat	156
Rendezés, szűrés, megtekintés és értelmezés	158
CNV/SV oldalpanel (Details Drawer)	159
13.1.7. Aláírások a SomaCGP elemzésben	160
Az MSI pontszám kiszámításának módszertana	160
A TMB pontszám kiszámításának módszertana	160
Vizualizálás és értelmezés	161
13.1.8. Rövid tandem ismétlődések (STR-ek)	163
Módszertan	163
Megtekintés és értelmezés	163
13.1.9. Fúziós gének	165
13.1.9.1. A DNS-ből kimutatott fúziók	165
Módszertan	165
Megtekintés és értelmezés	165
13.1.9.2. RNS-ből észlelt fúziók	167
Módszertan	167
Megtekintés és értelmezés	168
13.1.10. Klonalitás	171
13.1.11. Splicing variánsok	172
Módszertan	172
Vizualizálás és értelmezés	172
13.1.12. MSI/MSS állapot	175
Módszertan	175
Megtekintés és értelmezés	175
13.1.13. HRD/HRP állapot	177
Módszertan	177
Vizualizálás és értelmezés	179
13.1.14. Metilációs adatok a SomaMethylhez	185
14. Jelentés	188
14.1.1. Kimeneti fájlok	188
15. Hibaelhárítás és hibaüzenetek	189
16. Garancia	192
17. Jogi nyilatkozat	192
17.1. Felhasználási feltételek	192
17.2. Felelősség korlátozása	192
17.3. Szerzői jogok és védjegyek	192

1. Bevezetés

A szoftver használata előtt kérjük, figyelmesen olvassa el az utasításokat. Az utasítások papír alapú változatát kérésre a SeqOne ügyfélszolgálat (support@seqone.com) biztosítja. A platform használatával a legjobb eredmények elérése érdekében kérjük, figyelmesen olvassa el

az  szimbólummal jelölt óvintézkedéseket. Az útmutatóban és a szoftverben használt különböző szabályozási szimbólumok és egyéb szimbólumok a következők:

Szimbólum	Jelentés
	Gyártó
	A Svájcban letelepedett meghatalmazott képviselőt jelöli.
	Gyártási dátum (szoftver kiadásának dátuma)
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz.
	Egyedi eszközazonosító
	Gyártói katalógusszám
	Megfelel az (EU) 2017/746 európai rendelet követelményeinek CE-jelölés a bejelentett szervezet azonosító számával
	Olvassa el a használati utasítást
	Figyelmeztetés Ez a biztonsági szimbólum jelzi, hogy a készülék használata során különös óvatosságra van szükség.

A címke (beleértve a SeqOne szoftver verzióinformációit és elérhetőségi adatait) és a használati utasítást tartalmazó dokumentum (több nyelven) az „About” (Rólunk) részben található.

2. Vegye fel a kapcsolatot a gyártóval és a svájci képviselővel



SeqOne S.A.S

Web: <https://seqone.com/>

22 rue Durand

34000 Montpellier

FRANCIAORSZÁG

Felhasználói támogatás:

support@seqone.com



Arazy Group Swiss GmbH

Bruderholzallee 53

4059 Bazel, Svájc

swiss.ar@arazygroup.com

3. Orvostechnikai eszközökkel kapcsolatos eljárások

Ha az eszköz használata során súlyos esemény történik vagy valószínűsíthető, a felhasználókat kérjük, hogy az eseményt indokolatlan késedelem nélkül jelentsék a gyártónak és az esemény helyszínének vagy valószínűsíthető helyszínének országában illetékes hatóságnak.

Az alkalmazandó szabályozások és az EU illetékes hatóságainak listája a következő címen érhető el:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en



4. A platform rendeltetése

4.1. Rendeltetésszerű használat

A SeqOne Platform egy szoftveralapú *in vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszköz, amelyet arra terveztek, hogy segítse az egészségügyi szakembereket a NGS- vagy CGH-array-elemzésen átesett betegek nyers genomikus és szekvenálási adatainak elemzésében és értelmezésében. Minőségi és hasznosítható információk nyújtásával a platform döntéshozatali támogató rendszerként működik, segítve az egészségügyi szakembereket a klinikai döntések meghozatalában.

4.2. Javallat

A SeqOne Platform támogatja a nyers szekvenálási adatok másodlagos és harmadlagos elemzését, valamint a harmadlagos elemzést önmagában. Patológiától független analitikai képességei számos orvosi területen alkalmazhatók, beleértve az onkológiát és a ritka betegségeket.

4.3. Leírás

A SeqOne Platform egy szoftveralapú *in vitro* diagnosztikai orvostechinikai eszköz, amely egy sor alkalmazást integrál, amelyek együttesen működnek, hogy a szakértő felhasználók számára hatékony eszközkészletet nyújtsanak a komplex genomikus és szekvenálási adatok értelmezéséhez.

A SeqOne Platform számos **külső forrásból** származó, megalapozott információt integrál, beleértve nyilvános adatbázisokat, tudományos szakirodalmat és saját tudásbázisokat. Ezek a külső adatforrások kontextust és jelentést adnak az azonosított genomikus variánsoknak.

A platformon belüli különböző alkalmazások bemeneti fájljait bioinformatikai és annotációs modulok testreszabott kombinációjával dolgozzák fel, biztosítva, hogy minden elemzés a sajátos követelményeknek megfelelően legyen optimalizálva.

A bioinformatikai modulok másodlagos elemzést végeznek olyan számítástechnikai módszerekkel, mint az igazítás és a variánsok azonosítása, hogy a referenciagenomhoz (hg19 vagy hg38) való összehasonlítás révén azonosítsák a DNS- és RNS-szekvenálási adatokban található genetikai variánsokat. Az adatok, amelyek mind a csírasejtek, mind a szomatikus sejtek elemzéséhez felhasználhatók, teljes genomszekvenálásból, exomszekvenálásból vagy célzott génpanelekből állíthatók elő.

Az annotációs modulok tercier elemzést végeznek, hogy a variánsokat olyan részletekkel annotálják, mint a gén és annak ismert funkciója, a variáns helye a génben, valamint a gént vagy variánst említő publikációk vagy klinikai jelentések. Ez az annotáció határozza meg, hogy mely ACMG és AMP/CAP/ASCO osztályozási szabályok vonatkoznak az egyes variánsokra, és ebből kiindulva lehet meghozni a patogenitási döntést. Az annotációt a DiagAI segítségével is elvégzik, amely egy AI-alapú eszközkészlet, amely segít a genetikai variánsok elemzésében a potenciális kórokozó variánsok gyors azonosítása érdekében.

Ez a moduláris architektúra lehetővé teszi, hogy a SeqOne rendkívül jól alkalmazkodjon a különböző típusú elemzésekhez és kutatási kérdésekhez. A platformon belüli különböző alkalmazások bemeneti fájljait ezeknek a bioinformatikai és annotációs moduloknak egy testreszabott kombinációjával dolgozzák fel, biztosítva, hogy minden elemzés az adott követelményeknek megfelelően legyen optimalizálva. Ezen különböző adatforrások és elemző eszközök integrálásával a SeqOne lehetővé teszi a szakértő felhasználók számára, hogy mélyreható betekintést nyerjenek a genomikus adatok komplex világába és azok emberi

egészségre és betegségekre gyakorolt hatásába.

A platform felhőalapú SaaS-megoldásként működik, minden funkciója webböngészőn keresztül elérhető. Tartalmazza a SeqOne Flow-t, egy opcionális eszközt, amely az AWS felhőben vagy az ügyfelek szerverein is telepíthető, hogy megkönnyítse az adatátvitelt és a munkafolyamatok integrációját.

A biztonság érdekében az összes adat AES-256 titkosítással van titkosítva, a felhasználók és a platform közötti forgalom pedig SSL-tanúsítványokkal van biztosítva.

4.4. Betegpopuláció

A megoldás minden olyan beteg számára alkalmas, aki genomikus elemzésre szorul. A célcsoportba tartozhatnak rákos, ritka betegségben szenvedő, örökletes betegségben szenvedő, rákra genetikailag hajlamos vagy egészséges személyek.

4.5. Célcsoport

A SeqOne Platformot a rutin klinikai genomikus elemzésért felelős egészségügyi szakemberek számára tervezték. Ez magában foglalja a szekvenált biológiai mintákból származó, szekvenálással generált nyers fájlok elemzését és értelmezését. A platform célcsoportja a genetikusok, bioinformatikusok, biológusok, mérnökök és NGS platform technikusok.

4.6. Jellemzők

Each application (workset) consists of multiple **bioinformatic and annotation modules**, each responsible for specific analytical tasks. In this chapter, performance is evaluated at the module level to ensure detailed assessment of each component's accuracy and reliability.

A SeqOne Platform által észlelt analitok két kategóriába sorolhatók a genomikus változások tekintetében:

- Genetikai variánsok, mint például SNV-k, indel, MNV-k, CNV-k, UPD, génfúziók, szerkezeti variánsok, splicing variánsok, Alu-beillesztések és FLT3-ITD (belső tandem duplikáció).
- Jellegzetes jelek vagy összetett biomarkerek, mint például az IGHV-státusz, a mikroszatellit-helyek instabilitása (MSI), a tumor mutációs terhelése (TMB), a metiláció vagy a homológ rekombinációval történő kettős szálszakadás-javítási hibák (HRD, Homologous Recombination Deficiency).

Bioinformatikai modul	Workset	Analit típus
CNV-detektálás Exome Germline	CNVExome, GermVar, GermVar Family	Genetikai variáns

Bioinformatikai modul	Workset	Analít típus
CNV-detektálás Panel Germline	CNVCapture	Genetikai variáns
SNV/Indel Germline	GermlineVar, GermlineFamily	Genetikai variáns
SV Germline	GermlineVar, GermlineFamily	Genetikai variáns
UPD	GermVar, GermVar Family, GermVar Tertiary, GermVar Tertiary Family	Genetikai variáns
Alu-beillesztések	GermlineVar, GermlineFamily, SomaVar, SomaVar LF, SomaCGP, SomaHemato, GermVar, GermVar Family	Genetikai variáns
MNV	GermlineVar, GermlineFamily, GermVar, GermVar Family, GermVar Tertiary, GermVar Family Tertiary, SomaVar, SomaVar LF, SomaCGP, SomaHemato, SomaLBx, SomaVar Tertiary	Genetikai variáns
SNV/Indel szomatikus	SomaVar, SomaHemato, SomaRNA, SomaCGP	Genetikai variáns
SNV/Indel szomatikus LF	SomaVar LF	Genetikai variáns
CNV szomatikus nagy panelek	SomaCGP	Genetikai variáns
Metilációs index	SomaMethyl	Jelleg
Szomatikus DNS-fúzió	SomaCGP, SomaVar, SomaVar LF, SomaHemato	Genetikai variáns
Szomatikus LBx DNS-fúzió	SomaLBx	Genetikai variáns
TMB	SomaCGP	Jelleg
MSI	SomaCGP, SomaMSI	Aláírás
GI-valószínűség (GiP)	SomaHRD	Aláírás
Sentieon SNV/Indel Germline	GermVar, GermVar Family	Genetikai variáns
Mozaik variánsok Germline	GermVar, GermVar Family	Genetikai variáns
CNV WGS	GermVar, GermVar Family	Genetikai variáns
Sentieon SNV/Indel Szomatikus	SomaLBx	Genetikai variáns
Fúziós RNS	SomaRNA	Genetikai variáns
Splicing RNS	SomaRNA	Genetikai variáns
CNV kis panel szomatikus	SomaCNVCapture	Genetikai variáns
IGHV-státusz	SomaHemato	Jelleg
IGHV alcsoportok (subsets)	SomaHemato	Jelleg
CFH	GermlineVarLR	Genetikai variáns
FLT3	SomaVar, SomaHemato	Genetikai variáns

4.6.1. Analitikai teljesítmény

A jelen használati utasításban feltüntetett teljesítmény a worksets legújabb IVD-verzióinak teljesítménye, amelyek az alábbi táblázatban szerepelnek:

Workset neve	Verzió
CNVCapture	2.6
CNVExome	2.2
GermlineVar	2.6
GermlineFamily	2.6
GermlineVar LR	1.2
GermVar	3.12
GermVar Family	3.12
GermVar Tertiary	1.16
GermVar Tertiary Family	1.14
SomaCGP	1.6
SomaCNVCapture	2.4
SomaHemato	0.6
SomaHRD	1.5
SomaLBx	0.7
SomaMethyl	0.3
SomaMSI	1.1
SomaRNA	3.3
SomaVar	2.9
SomaVar LF	2.1
SomaVar Tertiary	2.4

4.6.1.1. Bioinformatikai modulok

- CNV-detektálás Exome-germline és panel-germline

Variant típus	Genom verzió	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység
CNV-detektálás Exome Germline (GermlineVar)	GRCh37	8	8	0	100%	100%
CNV-detektálás Exome Germline (GermVar)	GRCh37	8	8	0	100%	100%
CNV-detektáló panel , Germline	GRCh37	15	15	0	100%	100%
CNV-detektáló panel , Germline	GRCh38	11	11	0	100%	100%

- SNV / Indel Germline - Panel adatok

Genom verzió	Variant type	Elfogadási kritériumok	Érzékenység szűrés előtt	Érzékenység szűrés után
GRCh37	SNV	100%	98%	100%
GRCh38	SNV	100%	98%	100%

Genom verzió	Változat típusa	Elfogadási kritériumok	Pontosság szűrés előtt	Pontosság szűrés után
GRCh37	SNV	100%	90%	100%
GRCh38	SNV	100%	90%	100%

- SNV / Indel Germline - Exome adatok

Genom verzió	Variant type	Elfogadási kritériumok*	Érzékenység szűrés előtt	Érzékenység szűrés után
GRCh37	SNV	> 98%	98,7%	98,5%
	Indel	> 80%	88,0%	87,5%
GRCh38	SNV	> 98%	98,5%	98,3%
	Indel	> 80%	84,9%	84,3

* az NA12878 és NA24385 magas bizalmi régióiban található variánsok kimutatására.

Genom verzió	Variant típus	Elfogadási kritériumok*	Pontosság szűrés előtt	Pontosság szűrés után
GRCh37	SNV	> 90%	92,1%	94,4%
	Indel	> 80%	84,7%	89,0%
GRCh38	SNV	> 90%	94,2%	95,4%
	Indel	> 80%	82,2%	87,6

* az NA12878 és NA24385 magas bizalmi régióiban található variánsok kimutatására.

- **SNV / Indel Germline – Ismételhetőség és reprodukálhatóság**

- **Ismételhetőség**

Változat típusa	Érzékenység	Pontosság
SNV	98,59% ± 0%	95,92% ± 0%
indel	87,75% ± 0%	81,63% ± 0%
összesen	98,38% ± 0%	95,63 ± 0%

- **Reprodukálhatóság**

Változat típusa	Érzékenység	Pontosság
SNV	98,57% ± 0,03%	95,93% ± 0,08%
indel	86,58% ± 0,42%	78,97% ± 0,96%
(all)	98,34% ± 0,03%	95,58 ± 0,09%

- **Mozaik variánsok Germline**

- **Érzékenység SNV**

Genomverzió	VAF-tartományok	# valódi variánsok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység 100x
GRCh38	[0,05,0,1[	3704	40%	47,6%
GRCh38	[0,1,0,2[	747	70	73,1%
GRCh38	[0,2; 0,3[	685	90	90,7%
GRCh38	[0,3,1,0[	76	90	93,4%

- **Érzékenység Indelek**

Genom verzió	VAF-osztályok	# valódi variánsok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység 100x
GRCh38	[0,05,0,1[	87	40	43,7%
GRCh38	[0,1,0,2[	14	70	78,6%
GRCh38	[0,2; 0,3[	15	90%	100%
GRCh38	[0,3,1,0[	0	"N/A"	'N/A'

- **SV Germline**

Variant típusa	Genom verzió	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység
SV Germline	GRCh37	2	2	0	100%	100%

- **Alu-beillesztések**

Genom verzió	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenys ég
GRCh37	1	1	0	100%	100%
GRCh38	1	1	0	100%	100%

- **MNV**

Genom verzió	Variáns típus	Elfogadási kritériumok	Precision Exome	Precíziós genom
GRCh37	MNV	> 85%	87,0%	86,9%
GRCh38	MNV	> 85%	93,0%	91,5%

- **SNV / Indel szomatikus**

- o **Érzékenység**

Genom verzió	Variant Type	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok*	Érzékenys ég
GRCh37	SNV ($\geq 5\%$)	121	121	0	100%	100%
	Indel ($\geq 5\%$)	21	21	0	100%	100%
GRCh38	SNV ($\geq 5\%$)	121	121	0	100%	100%
	Indel ($\geq 5\%$)	21	21	0	100%	100%

* A variánsok észlelésének elfogadási kritériuma az 5% feletti várható VAF-értékű SNV-k és indelek esetében 100%-os érzékenységgént van meghatározva.

o Pontosság

			Hűség			
			GRCh37		GRCh38	
Gén	Variant	Várható gyakoriság	Átlagos gyakoriság*	Elterelés	Átlagos gyakoriság*	Elterelések
KIT	p.D816V	10%	9,07% +/- 0,79%	0,97%	9,07% +/- 0,79%	0,97%
PIK3CA	p.E545K	8,80%	7,88% +/- 0,84%	1,04%	7,87% +/- 0,83%	1,05%
EGFR	p.E746_A750del	1,90	1,53% +/- 0,5%	0,40%	1,53% +/- 0,5%	0,40%
KRAS	p.G12D	6,30%	6,27% +/- 0,76%	0,57%	6,27% +/- 0,76%	0,57%
KRAS	p.G13D	15%	14,59% +/- 0,86%	0,69%	14,59% +/- 0,86%	0,69%
EGFR	p.G719S	24,50%	24,5% +/- 1,39%	1,15%	24,5% +/- 1,39%	1,15%
PIK3CA	p.H1047R	17,50%	17,47% +/- 1,04%	0,77%	17,47% +/- 1,04%	0,77%
EGFR	p.L858R	2,80%	3,58% +/- 0,51%	0,83%	3,58% +/- 0,51%	0,83%
NRAS	p.Q61K	12,50%	11,27% +/- 1,19%	1,27%	11,27% +/- 1,19%	1,27%
EGFR	p.T790M	0,90%	1,33% +/- 0,15%	0,43%	1,33% +/- 0,15%	0,58%
BRAF	p.V600E	10,70%	11,68% +/- 0,62%	0,98%	11,68% +/- 0,62%	0,98%

* A gyakoriságok átlagát a HD200 minta 12 ismételéséből számítottuk ki.

• SNV/Indel szomatikus LF

Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatív	Elfogadási kritériumok*	Érzékenység
GRCh37	42	42	0	100%	100%
GRCh38	42	42	0	100%	100%

* A variánsok kimutatásának elfogadási kritériuma az SNV-k és az indelek esetében 100%-os érzékenység, amennyiben a várható VAF-érték meghaladja a 0,1%-ot.

• CNV szomatikus nagy panelek

Genom verzió	Variant típus	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység
GRCh37	Gain	27	26	1	90%	96,3%
	Loss	20	19	1	90%	95,0%
	LOH	11	11	0	90%	100,0%
GRCh38	Növekedés	27	26	1	90%	96,3%
	Loss	20	19	1	90%	95,0%
	LOH	11	10	1	90%	90,9%

- Metilációs index

Genom verzió	Elfogadási kritériumok	Súlyozott egyezés
GRCh37	>99%	99,88

- Szomatikus DNS-fúzió

Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenység
GRCh37	9	9	0	100%	100%
GRCh38	9	9	0	100%	100%

- "Somatic" LBx DNS-fúzió

Genom verzió	Tumorfrakció	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívek	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység
GRCh38	1%	22	21	1	85%	95,5%
	0,5%	22	19	3	85%	86,4%
	0,1%	22	21	1	85%	95,5%

- TMB

Genom verzió	Elfogadási kritériumok	Érzékenység	Pontosság
GRCh37	>80%	83%	85%

- MSI

Genom verzió	Pozitív kontrollok	Negatív kontrollok	Valódi pozitívek	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység	Pontosság
GRCh37	22	24	22	0	100%	100%	100%
GRCh38	6	17	6	0	100%	100%	100%

- GiP

Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenység
GRCh37	171	165	6	90%	96,5%

Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis pozitív	Elfogadási Kritériumok	Pontosság
GRCh37	171	165	7	90%	95,9%

- Sentieon SNV / Indel Germline

Genom verzió	Variant Type	Elfogadási kritériumok*	Érzékenység Exome	Érzékenység Genom
GRCh37	SNV	> 90%	98,9%	98,5%
	Indel	> 80%	96,5%	98,5%
GRCh38	SNV	> 90%	98,5%	99,3%
	Indel	> 80%	95,5%	99,1

* az NA12878 és NA24385 magas bizalmi régióiban található variánsok kimutatására

Genom verzió	Variant Type	Elfogadási kritériumok*	Pontosság Exome	Pontosság Genom
GRCh37	SNV	> 90%	98,7%	98,5%
	Indel	> 80%	96,5%	98,6%
GRCh38	SNV	> 90%	99,6%	99,6%
	Indel	> 80%	97,2%	99,5%

* az NA12878 és NA24385 magas bizalmi régióiban található variánsok kimutatására.

- CNV WGS

Genom verzió	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis pozitívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység
GRCh38	Duplikáció	1 kb – 5 kb	8	10%	37,5%
	Duplikáció	≥ 5 kb	3	10	100
	Hagyomány	1 kb – 5 kb	321	80%	61,7%
	Deléció	≥ 5 kb	132	80	92,4

Bár a kis deléciók (1–5 kb) érzékenysége nem éri el az elfogadási kritériumokat, ez a csökkenés elfogadható kompromisszum annak érdekében, hogy maximalizálható legyen a nagyobb hatással bíró nagy események és duplikációk észlelése.

Genomverzió	Pozitív kontrollok	Valódi pozitív	Hamis pozitívok	Elfogadási kritériumok	Pontosság
GRCh38	Duplikáció	1 kb – 5 kb	8	"NA"	30
	Duplikáció	≥ 5 kb	3	"NA"	75%
	Hagyomány	1 kb – 5 kb	321	"NA"	94,3%
	Deléció	≥ 5 kb	132	"NA"	92,4%

- **Sentieon SNV/Indel szomatikus**

Genom verzió	Variant típus	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis pozitívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenysé g
GRCh38	SNV	39	37	2	85%	95%
	Indel	21	16	5	75%	76%

- **Fúziós RNS**

Genom Verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenys ég
GRCh37	20	20	0	100%	100%
GRCh38	20	19	1	95%	95%

- **Splicing RNS**

Genom Verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenys ég
GRCh37	3	3	0	100%	100%
GRCh38	3	3	0	100%	100%

- **CNV kis panel somatikus**

Genom Verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenys ég
GRCh37	4	4	0	100%	100%
GRCh38	4	4	0	100%	100%

- **IGHV státusz IMGT**

Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenys ég
GRCh37	122	116	6	95%	95,9%

- **IGHV-státusz igblast**

Genom verzió	Pozitív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenys ég
GRCh37	122	117	5	95%	95,1%

- **IGHV alcsoportok**

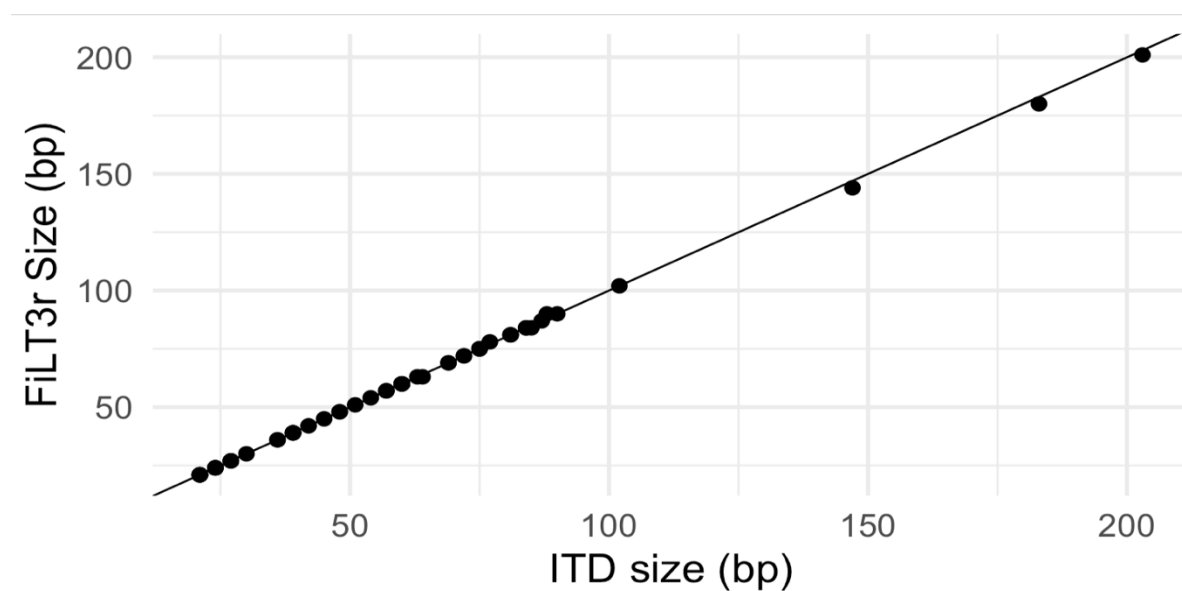
Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenys ég
GRCh37	61	10	0	95%	100%

Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Pontosság
GRCh37	61	10	0	95%	100%

- CFH

Genom verzió	"POSITIVE" kontrollok	Valódi pozitív	Hamis negatívok	Elfogadási Kritériumok	Érzékenység
GRCh38	4	4	0	100%	100%

- FLT3



Megfigyelt és elméleti FLT3-ITD eseményméret. Pearson-együttható $R^2 > 0,99$

Az eredmények 100%-os érzékenységet mutatnak az FLT3-ITD események kimutatásában, valamint szinte tökéletes korrelációt az elemzésből származó várható és megfigyelt eseményméretetek között.

- **UPD**

- **Érzékenység**

Analysis Type	Genom verzió	Pozitív kontrollok	Negatív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis negatívok	Elfogadási kritériumok	Érzékenység
Singleton	GRCh37/38	7	23	7	0	80%	100%
Trio	GRCh37/38	7	2	6	1	80%	86%

- **Pontosság**

Analysis Type	Genom verzió	Pozitív kontrollok	Negatív kontrollok	Valódi pozitívok	Hamis pozitívok	Elfogadási kritériumok	Pontosság
Singleton	GRCh37/38	7	23	7	0	80%	100%
Trio	GRCh37/38	7	2	6	0	80%	100%

4.6.1.2. Annotációs modulok

- **DiagAI pontszám**

Adatkészlet	Típuselemzés	Metrikus értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám értéke
Ritka betegségek pozitív exomjai	Csírasejtvonallal	Median rang	= 1	1
Ritka betegségre pozitív exomok	"Germline"	top_10	> 90%	95%
Ritka betegségek CNV-exomjai	"Germline"	Median rang	= 1	1
Ritka betegség pozitív CNV-exomok	'Germline'	top_1	> 80%	83,3%

- **DiagAI szomatikus pontszám**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám értéke
Rák pozitív TS0500	Szomatikus	top_10	> 90%	100%

- **DiagAI előválogatás**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadhatóság Kritérium	Mérőszám értéke
Ritka betegség pozitív exomok	Csíravonal	érékenység	> 90	95
Ritka betegségre pozitív exomok	"Germline"	Átlagos hossz	< 25	18,475
Ritka betegségre pozitív exomok	"Germline"	Median hossz	< 25	17

- **DiagAI smartpicks**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadhatóság Kritérium	Mérőszám értéke
Ritka betegség pozitív exomok	Csíravonal	érzékenység	> 40%	45
Ritka betegségre pozitív exomok	"Germline"	pontosság	> 80%	78%

- **ACMG CNV**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám értéke
ACMG szakértői által annotált CNV adatkészlet	"Germline"	érzékenység	> 70%	76

- **ACMG SNV**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám értéke
ACMG szakértői által kommentált adatkészlet	"Germline"	pontosság	> 50%	56%

- **DiagAI UP2**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám érték
Betegséget okozó variánsok	Csíravonal	érzékenység	90%	92%

- **DiagAI UP2 SV**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám érték
Betegséget okozó variánsok	Csíravonal	érzékenység	90%	98%

- **DiagAI Phenogenius**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám érték
Gene symptoms associations	Csírasejtvonal	top_100	50%	49,8%
Gene-tünet összefüggések	"Germline"	top_200	60%	60,7%
Gene-tünet összefüggések	"Germline"	top_500	75%	77,0%
Gene-tünet összefüggések	'Germline'	Median a top100-ban	<20	15
Gén-tünet összefüggések	"Germline"	Átlag a top 100-ban	<30	25

- **Compermed**

Adatkészlet	Típuselemzés	Mérőszám értékelve	Elfogadási kritériumok	Mérőszám érték
Rák pozitív TS0500	Szomatikus	érzékenység	90%	91%

4.6.2. Klinikai teljesítmény

A SeqOne Platform nem alkalmas egy adott klinikai állapot vagy fiziológiai állapot értékelésére. Noha információt nyújt a beteg fiziológiai állapotáról, például bizonyos variánsok azonosításáról, nem alkalmas konkrét klinikai állapotok vagy fiziológiai állapotok értékelésére. Ezért a SeqOne Platform önmagában nem igényel klinikai teljesítmény bizonyítását.

5. Óvintézkedések

5.1. Megfelelő használat

(Lásd a „Célcsoport” című részt)

A platform bármilyen nem megfelelő használata tilos.

A felhasználók felelőssége ellenőrizni, hogy a platform minden esetben működőképes-e, és biztosítani a platform megfelelő működéséhez szükséges feltételeket.

5.2. Figyelmeztetések

 A kapott eredmények nem szolgálhatnak kizárólagos alapul a betegellátás módosításához. Következésképpen a felhasználóknak kellő óvatossággal kell eljárniuk a szoftver és annak eredményeinek használata során. A diagnózisokat különböző klinikai és orvosi vizsgálatokkal kell megerősíteni.

Az NGS-alapú betegségvizsgálat során előfordulhat, hogy a fő betegséghez nem kapcsolódó génekből származó másodlagos vagy véletlenszerű eredmények, például rákra való hajlam derül ki (Kuhlen és Borkhardt 2015). Az AMP és az ACMG (Green et al. 2013; Allyse és Michie 2013; ACMG igazgatótanács 2015; Hegde et al. 2015) politikai nyilatkozatai ellenére a véletlenszerű leletek jelentésére vonatkozó nemzeti irányelvek eltérőek. Ezért elengedhetetlen az „tájékozott beleegyezés” dokumentumának beszerzése (Anderson et al. 2016). A kezelő orvos felelőssége annak biztosítása, hogy a beteg vagy jogi képviselője megértse a lehetséges kimeneteket és kockázatokat, mielőtt bármilyen NGS-vizsgálatot rendelne el.

Ez a termék nem garantálja a mintában jelen lévő összes genetikai variáns kimutatását. A vizsgált variáns kimutatásának valószínűsége alapvetően függ a bemeneti minta minőségétől és jellemzőitől (pl. az adatminta integritása, a könyvtár előkészítése, a szekvenálási mélység és egyenletesség, a bioinformatikai szűrés, valamint a variáns típusa vagy kontextusa). A negatív eredmény nem zárja ki véglegesen a patogén variáns jelenlétét, ha annak gyakorisága (VAF) a használt analitikai modul detektálási küszöbértéke alatt van. A nagyméretű genomikus átrendeződések (szerkezeti variánsok, beleértve a CNV-ket és a teljes kromoszóma-deléciókat) megbízható detektálása nem garantált. Ez a rövid olvasatú új generációs szekvenálási (NGS) adatok inherens korlátainak tudható be, amelyek miatt ezek az események nehezen azonosíthatók. Mivel az NGS-olvasatok rövidek (kb. 150–200 bp), ez a korlát a szekvenálási technológia sajátossága, és nem a SeqOne Platform korlátja. (Lásd Tan R. et al., Hum Mutat. 2014 július; 35(7):899–907. doi: 10.1002/humu.22537 és az ott hivatkozott források). A felhasználóknak értékelniük kell a

kiválasztott munkakészlet és a szekvenálási minőség megfelelőségét a várt variánsokhoz képest, hogy biztosítsák a megfelelő klinikai kontextus lefedését.

Az újszülött- vagy hordozószűrés eredményein alapuló klinikai döntéseket rendkívüli óvatossággal kell meghozni, és soha nem szabad kizárólag a szoftver kimenetére támaszkodni. Újszülött-szűrés esetén a pozitív eredmény azonnali klinikai összefüggésbe hozást igényel a csecsemő tüneteivel, valamint sürgős megerősítő vizsgálatot, mielőtt életmódbeli változásokat igénylő kezeléseket vagy étrendi korlátozásokat kezdeményeznének. Carrier screening esetén a negatív eredmény nem zárja ki a hordozói státusz kockázatát, hanem csupán a maradék kockázati szintre csökkenti azt, mivel bizonyos genomvariánsok a szoftver detektálási határérték alá eshetnek. Mivel az eszköz eredményei közvetlenül befolyásolják a visszafordíthatatlan reprodukív döntéseket és a kritikus újszülöttellátást, minden intézkedést igénylő eredményt egy alternatív, validált módszerrel kell ellenőrizni, és azokat egy képzett szakembernek kell értelmeznie a beteg teljes klinikai előzményeinek, valamint a releváns biokémiai vagy fenotípusos adatoknak a fényében.

Az újonnan felfedezett variánsok, amelyekről a tudományos irodalomban még nincs alapos dokumentáció, téves besorolást kaphatnak.

Az eredmények az elemzés időpontjában pontosak és a jelenlegi tudományos ismereteket tükrözik. Azonban az elemzés újbóli futtatása egy újabb platformverzió eltérő eredményeket adhat.

A SeqOne Platform osztályozási eredményei a közös konszenzusnak megfelelően készülnek. Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a besorolási beállítások módosítása után generált eredmények nem tartoznak a CE-IVD hatálya alá, ezért nem validáltak.

Ez a szoftver mesterséges intelligencia (AI) komponenseket tartalmaz. A felhasználóknak tisztában kell lenniük az AI-alapú eszközökhöz tartozó alábbi korlátozásokkal, és azokat figyelembe kell venniük az eredmények értelmezésekor:

- A képzési adatok elsősorban európai/kaukázusi ősokból származó populációkból származnak a jelenlegi klinikai referencia-adatbázisok összetétele miatt;
- A teljesítmény eltérő lehet olyan ritka variánsok esetében, amelyek korlátozottan vannak jelen a képzési adatokban;
- A bizalmi pontszámok a modell bizonytalanságát tükrözik, nem pedig a klinikai bizonyosságot; azokat a klinikai kontextussal együtt kell értelmezni;
- A teljesítmény romolhat az új szekvenálási platformokból származó adateltérések vagy a képzési adatokban nem szereplő könyvtár-előkészítési protokollok miatt;
- A DiagAI Phenogenius génpriorizálási teljesítményét a gén-tünet összefüggések alapján értékeli, és az a rendeltetést kiadó klinikus által végzett HPO-terminológiai annotáció minőségétől és teljességétől függ.

5.3. Korlátozások

Carrier screening speciális nemzeti jogszabályok és etikai előírások hatálya alá tartozik. A laboratórium és az egészségügyi szolgáltató felelőssége annak biztosítása, hogy az adott joghatóság területén minden jogi követelmény – beleértve a kötelező genetikai tanácsadást, az orvos által kezdeményezett vizsgálatot és a tájékozott beleegyezést – teljesüljön.

5.4. Működési zavarok

Működési zavar esetén:

- Azonnal hagyja abba a szoftver használatát
- Próbálja meg azonosítani vagy kiküszöbölni az okokat az ebben az útmutatóban leírt hibaelhárítási eljárás követésével (lásd a **Hibaelhárítás és hibaüzenetek** című részt)
- Ha az útmutató segítségével nem sikerül azonosítani vagy megszüntetnie az okot, kérjük, küldjön emailt a támogatási csapatnak a support@seqone.com címre.

6. Minimális követelmények

6.1. Hardver

A SeqOne platform szoftvermoduljai kliens-szerver elrendezés részeként vannak telepítve. A szolgáltatónak Linux szervernek kell lennie, hogy biztosítsa a kompatibilitást a bioinformatikában általánosan használt eszközök többségével. Minden rendszerelem egy futtatási környezetbe van beágyazva, például a Docker® konténerbe, amely bármely kompatibilis Docker® platformon telepíthető, függetlenül az alapul szolgáló hardverarchitektúrától. A felhasználóknak internetkapcsolattal és webböngészővel rendelkező számítógéppel kell rendelkezniük (lásd alább).

A kliens számítógép minimális rendszerkövetelményei a következők:

- 4 GB RAM
- Kétmagos processzor
- Internet-hozzáférés
- Chrome böngésző (36.0.1985-ös verziótól) vagy Firefox (31-es verziótól) vagy Microsoft Edge (minden Chromium-alapú verzió).

6.2. Hálózat

A platform internetes használatához ajánlott minimális feltöltési/letöltési sebesség 100 Mbps. A platformhoz való csatlakozáshoz HTTPS protokollt használunk. A platformhoz való megfelelő hozzáférés érdekében javasoljuk, hogy kérje meg informatikai osztályát, hogy engedélyezze a következő címeket:

*.eu.seqone.com

*.common.seqone.com

7. Hitelesítés

7.1. Bejelentkezés

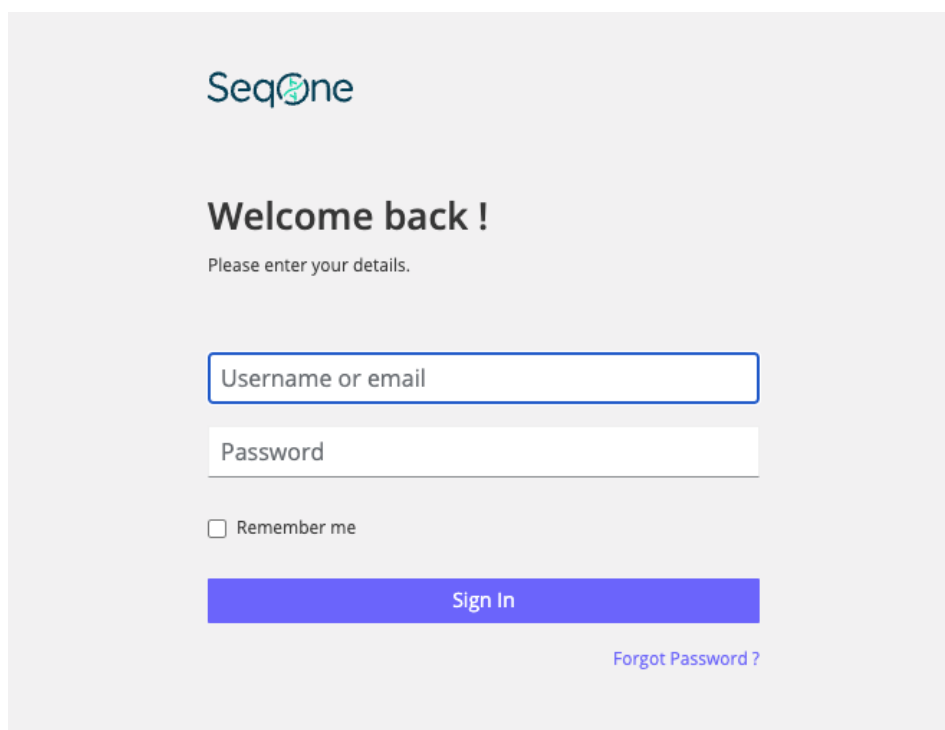
Biztonsági okokból a felhasználók csak a kezdőképernyőn való bejelentkezés után férhetnek hozzá a platformhoz.

A kezdőképernyő a következő URL-en érhető el:

- Európa és Afrika esetében: <https://auth.eu.seqone.com/>
- Svájc esetében: <https://auth.ch.seqone.com/>
- Ázsia és Óceánia esetében: <https://auth.au.seqone.com/>
- Amerika esetében: <https://auth.us.seqone.com/>

A kezdőképernyőn történő bejelentkezéskor meg kell adnia:

- Bejelentkezési nevét vagy e-mail címét a „Username” vagy „E-mail” mezőbe
- Jelszót a „Password” mezőbe

The image shows the SeqOne login interface. At the top is the SeqOne logo. Below it is the heading "Welcome back !" followed by the instruction "Please enter your details." There are two input fields: "Username or email" and "Password". Below these is a checkbox labeled "Remember me". A blue "Sign In" button is positioned below the checkbox. At the bottom right, there is a link that says "Forgot Password ?".

1. ábra: Bejelentkezési oldal

Ha fiókjához kétfaktoros hitelesítés van beállítva, akkor be kell írnia egy 6 számjegyű ellenőrző kódot, amelyet e-mailben küldünk a SeqOne-fiókjához tartozó címre. Ez a kód 30 percig érvényes.

Ha több munkaterülethez vagy entitáshoz is hozzáfér, akkor a „Choose a workspace” alatt található legördülő menüből ki kell választania azt az entitást, amelyhez csatlakozni szeretne.

A „Forgot Password” gombra kattintva megváltoztathatja jelszavát. Kövesse az utasításokat, írja be a SeqOne-fiókjához tartozó e-mail címet, és e-mailt kap, amelyben visszaállíthatja jelszavát.

A jelszóra vonatkozó szabályok a következők:

- Minimális hossz: 12 karakter.
- Összetettség: a jelszavaknak legalább egy nagybetűt, egy kisbetűt, egy számot és egy speciális karaktert kell tartalmazniuk. Minél nagyobb a karakterkészlet, annál erősebb a jelszó.
- Jelszóelőzmények: a korábbi jelszavak nem használhatók újra.
- Nincs maximális hosszúság: titkos mondatok használatának lehetővé tétele érdekében.

A felhasználók nem módosíthatják saját felhasználói azonosítójukat.

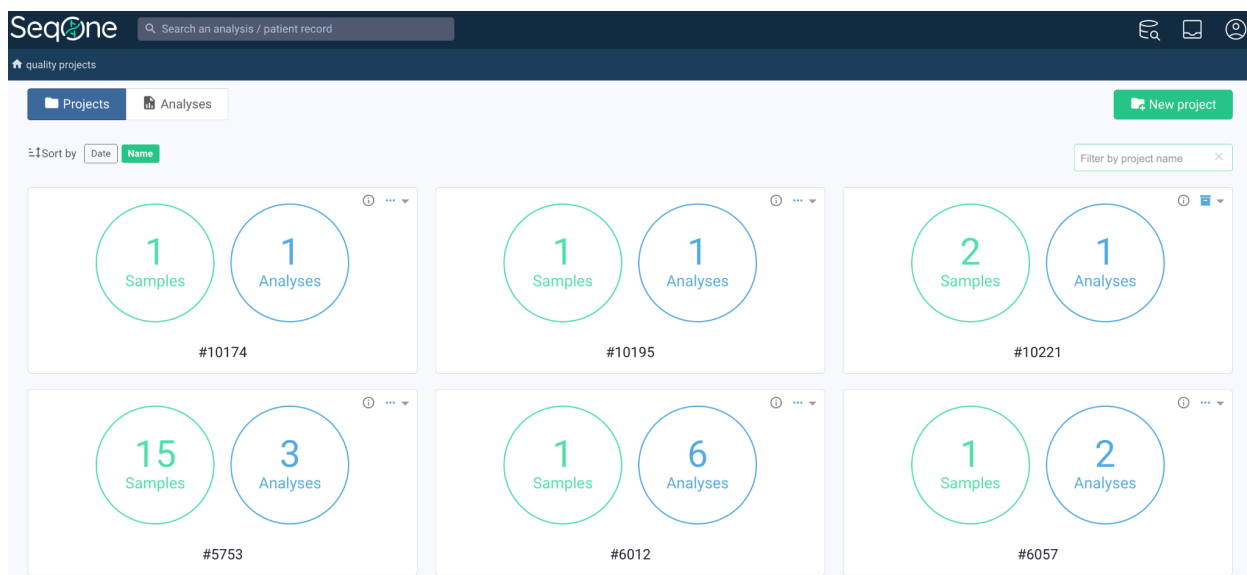
7.2. Kijelentkezés

A felhasználók a jobb felső sarokban található felhasználói fiók logóra, majd a „Logout” gombra kattintva jelentkezhetnek ki.

7.3. Főoldal

A hitelesítés után a felhasználó a műszerfal oldalra lép, amely két részre oszlik:

- egy kék keresési és műveleti sáv, amely a navigáció során végig elérhető, és balról jobbra a következőket tartalmazza:
 - a SeqOne ikon, amellyel bármikor visszatérhet az irányítópultra,
 - egy keresősáv, amely közvetlen hozzáférést biztosít egy adott elemzéshez,
- egy VKB kereső ikon  a VKB adatbázisban értékelt variánsok kereséséhez (lásd a **Variánsok értékelése** című részt),
- egy ikon , amely megnyitja a felhasználó „To do list”, ahonnan hozzáférhet a neki kiosztott elemzésekhez (lásd az **Elemzések értelmezéshez való hozzárendelése** című részt),
-  ikonon keresztül elérhető menüsor, amely hozzáférést biztosít a felhasználói paraméterekhez, az adminisztrátori panelen, a felhasználói kézikönyvhöz, a felhasználási feltételekhez, a támogatási e-mail címhez, és amely lehetővé teszi a felhasználó számára a kijelentkezést (lásd a **Felhasználói fiók kezelése** című részt).
- a projektek és elemzések kezelésének fő képernyője.



2. ábra: Felhasználói irányítópult

A felhasználói irányítópultra bármikor rákattinthat a  logóra.

7.4. Felhasználói fiókok kezelése

Felhasználói fiókját a tálca jobb felső sarkában található logóra kattintva kezelheti.

Ebben a részben a felhasználónak lehetősége van a következőkre:

- fiókbeállítások elérése a "My account" gombra kattintva
- felhasználói paraméterek elérése az "Entity Settings" gombra kattintva
- annak az egységnek a módosítása, amelyhez a felhasználó kapcsolódik, az "Entity" gombra kattintva, majd a kívánt egység kiválasztásával a "Choose your workspace" alatt,
- az adminisztrációs panel elérése az "Admin" gombra kattintva, amely hozzáférést biztosít az egységhez hozzáféréssel rendelkező felhasználók listájához, valamint a felhasználói fiókok létrehozásához, módosításához vagy törléséhez.
- kattintson az "About" gombra a használati útmutató különböző nyelvű eléréséhez, a SeqOne szoftververzió-információihoz és az elérhetőségekhez,
- a SeqOne licencfeltételeinek elérése a "Terms of Use" gombra kattintva,
- kattintson a "Support" gombra a támogatási e-mail cím eléréséhez a platformon felmerülő bármilyen kérdés vagy probléma esetén,
- parancsikon elérése a "Keyboard Shortcuts" gombra kattintva

- váltás az alkalmazás standard és előnézeti verziója között a "SeqOne Mode" gombra kattintva, majd a "SeqOne" (standard mode) vagy a "SeqOne Preview" (preview mode) kiválasztásával. Az aktuálisan aktív módot egy pipa jelzi.
- kijelentkezés a "Logout" gombra kattintva.

7.4.1. "My Account" kezelése

A "My account" szekcióban a felhasználó a következőket teheti:

- feltöltheti az aláírását, hogy szerepeljen a klinikai jelentésben,
- megváltoztathatja a jelszavát a "Change your password" gombra kattintva (új lapon nyílik meg) a "Manage your credentials" szekcióban.

7.4.2. A felhasználói beállítások kezelése – meghatározások

A felhasználói beállításokban a felhasználó kezelheti az alább leírt beállításokat, fájlokat és konfigurációkat.

Entitás

Az entitás az a létesítmény vagy csapat, amely SeqOne platform licencet vásárolt. A platformot úgy tervezték, hogy ugyanazon csoport több tagja is használhassa. A felhasználói beállítások közül a *Fiók* fülön kezelheti az entitással kapcsolatos információkat.

Users

Ehhez a laphoz kérjük, olvassa el az **Adminisztrátori felület – a felület bemutatását**.

Munkakészletek

Ez a fül felsorolja a felhasználó által használt entitáson elérhető különböző elemzési munkakészleteket. Mivel a SeqOne platformon bizonyos folyamatok több verziója is létezhet, a felhasználó ebben a menüben meghatározhatja, hogy az elemzés elindításakor melyik verziót válassza ki előre.

A listán végzett módosításokat nyomon követik, így automatikusan megjelenik az a felhasználó, aki megadta a munkakészlet alapértelmezett verzióját, valamint a módosítás dátuma.

Manifest

A manifest a genomikus érdeklődési területeket (ROI) BED fájlként jeleníti meg, amelyhez kapcsolódó megjegyzések is társulhatnak. Új manifestet a felhasználói beállítások *Manifest* fülén keresztül tölthet fel, ha a „Add manifest” gombra kattint, és kiválasztja a feltölteni kívánt manifest fájlt. A feltöltés után ez a manifest minden felhasználó számára elérhető lesz új projekt létrehozásakor és in silico panel alkalmazásakor egy elemzésben.

Panels - Transzkript

A felhasználók a *Transcript* (Transzkript) fülön keresztül új referenciatranszkript-listát (RefSeq) tölthetnek fel.

Panels - Gének

Ezen a lapon a „Add gene list” gombra kattintva importálhat vagy generálhat génpaneleket az NCBI GeneID alapján.

A várt fájlformátum egy táblázatos fájl (pl. .tsv fájl) oszlopfejlécek nélkül, amelyről részletes információk találhatók a platformon. A várt fájl első oszlopa a génazonosítóknak (NCBI Entrez génazonosító) van fenntartva, a második oszlop (opcionális) a kívánt transzkriptumot (RefSeq azonosító) tartalmazza, a harmadik oszlop (opcionális) pedig a gén HGNC szimbólumát. Ez a fájl úgy is létrehozható, hogy a kívánt génlistát vesszővel elválasztva beírja a „Gene symbols” mezőbe.

Marker

Ez a fül a genetikai identitásjelölők listájának importálására szolgál, az „Add marker config” (Jelölő konfiguráció hozzáadása) gombra kattintva. A várt fájlformátum egy táblázatos fájl (.tsv vagy .txt fájl), amelynek oszlopfejlécében 5 oszlop található, amelyek a következőket tartalmazzák: kromoszóma (CHR), variáns azonosító vagy rsID (ID), genomikus pozíció (POS), referenciallel (REF) és alternatív allél (ALT). A fájl nem tartalmazhat több mint 100 sort, a fejléceket is beleértve.

Protocols

Az elemzési protokoll feladatok előre meghatározott kombinációja, amelynek célja az elemzési interpretáció szabványosítása. A megfelelő fül lehetővé teszi a felhasználók számára az entitáson elérhető protokollok listájának és verzióinak megtekintését, valamint újak létrehozását.

Protokoll létrehozásához kattintson a "New protocol" gombra, majd adja hozzá és rendezze sorba a laboratóriumi SOP-oknak megfelelő feladatokat. Meglévő protokoll szerkesztéséhez kattintson a mellette lévő ceruza ikonra, és mentse el a protokoll új verzióját.

Válasszon ki egy protokollt az elemzés indításakor, vagy csatolja később az elemzési panel Workflow füléről. Jelölje a feladatokat befejezettnek közvetlenül az elemzési panelről. Minden befejezett feladat automatikusan rögzíti a felhasználót és a dátumot a teljes nyomon követhetőség érdekében.

Reporting - Global settings

A Reporting fül Global settings szekciója lehetővé teszi a felhasználók számára az automatikus elemzési zárolás engedélyezését vagy letiltását, amikor az állapot "Reporting Validating"-re vált, valamint a osztályozási és jelentési szekciók testreszabását. Ehhez a Germline / Somatic alatt kattintson a "New section" gombra, adjon meg egy szekciónevet, és válasszon ki egy címkét a kívánt osztályozáshoz való hozzárendeléshez. Azok a variánsok, amelyek megegyeznek a kiválasztott címkék vagy osztályozások egyikével, automatikusan hozzáadódnak ehhez a szekcióhoz. A funkció használatához először címkéket kell létrehoznia a megfelelő fülön.

Reporting - Template list

A Reporting fül a "Template list" alatt lehetővé teszi a felhasználók számára az elemzési eredmények exportálásakor használt sablonok konfigurálását. Ezen a fülön testreszabhatja a generált jelentésekben szereplő információkat.

Tags

A "Tags" fül lehetővé teszi a felhasználók számára az egyéni címkék kezelését a variánsok rendszerezéséhez és szűréséhez a VKB-n és a jelentésen belül. A felhasználók létrehozhatnak címkéket a "Add tag" gombra kattintva, vagy átnevezhetik és törölhetik az entitáson belüli összes felhasználó számára elérhető címkéket a megfelelő toll és kuka ikonok használatával.

API Keys

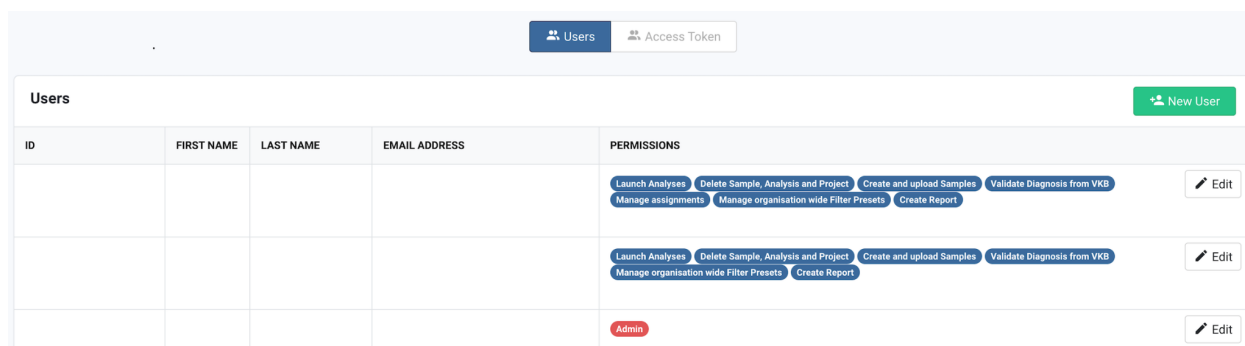
Az API-kulcs egy egyedi hitelesítési token, amely lehetővé teszi a külső alkalmazások vagy szkriptek számára, hogy programozottan interakcióba lépjenek a SeqOne platformmal. Az API Keys fülön megtekintheti az összes létező kulcsot a hozzájuk tartozó információkkal együtt.

Hozzon létre egy új kulcsot a "+ New API Key" gombra kattintva. A lejárt kulcsok megjeleníthetők vagy elrejtethetők a "Show expired key" kapcsolóval. Minden kulcs egyenként törölhető. Az API-kulcsokat bizalmasan kell kezelni, mivel hozzáférést biztosítanak a platformhoz a hozzájuk rendelt jogosultságokkal.

7.4.3. Adminisztrátori felület – a felület bemutatása

Ez a felület a fiókadminisztrátorok számára készült, és lehetővé teszi számukra, hogy:

- hozzáférhetnek a szervezet felhasználóinak listájához,
- új felhasználók létrehozása,
- a felhasználói jogok módosítása: projektek létrehozása és minták feltöltése, elemzések elindítása, minták, elemzések vagy projektek törlése, változatok értékelése a VKB-ban, jelentések létrehozása, profilkezelés szűrése, feladatok kezelése.
- kettős hitelesítés aktiválása,
- felhasználói fiók deaktiválása.



The screenshot shows the 'Users' management panel. At the top, there are tabs for 'Users' and 'Access Token'. Below the tabs, there is a 'New User' button. The main area is a table with columns: ID, FIRST NAME, LAST NAME, EMAIL ADDRESS, and PERMISSIONS. The table contains three rows. The first two rows show users with various permissions like 'Launch Analyses', 'Delete Sample, Analysis and Project', 'Create and upload Samples', 'Validate Diagnosis from VKB', 'Manage assignments', 'Manage organisation wide Filter Presets', and 'Create Report'. The third row shows an 'Admin' user with full permissions. Each row has an 'Edit' button.

ID	FIRST NAME	LAST NAME	EMAIL ADDRESS	PERMISSIONS	
				Launch Analyses Delete Sample, Analysis and Project Create and upload Samples Validate Diagnosis from VKB Manage assignments Manage organisation wide Filter Presets Create Report	Edit
				Launch Analyses Delete Sample, Analysis and Project Create and upload Samples Validate Diagnosis from VKB Manage organisation wide Filter Presets Create Report	Edit
				Admin	Edit

3. ábra: Rendszergazda panel

Az azonosító a felhasználó felhasználónevének felel meg. Kisbetűkkel kell írni, és nem tartalmazhat ékezeteket vagy szóközöket; speciális karakterek, például pont és aláhúzás megengedettek. Új felhasználó létrehozásakor célszerű a keresztnév.vezetéknév névkonvenciót követni.

A felhasználó e-mail címét illetően biztonsági okokból határozottan nem javasoljuk általános e-mail cím használatát.

Mivel az engedélyek alapértelmezés szerint deaktiválva vannak, az adminisztrátor feladata azok manuális aktiválása:

Permissions

Admin privileges

Grant full access to all system features, users management and settings



Create and upload Samples



Create Report



Delete Sample, Analysis and Project



Edit restricted panels



Launch Analyses



Manage assignments



Manage organisation wide Filter Presets



Manage VKB Knowledge Base



Protocols Management



Report template



Unlock Analyses



Update project settings (lock filters for now)



Validate Diagnosis from VKB



Advanced

Activate 2FA

Enable email two-factor authentication for enhanced security



Temporarily suspending the access. The data is retained, but the user cannot log in or use the system until re-enabled.

 Disable User

4. ábra: Felhasználói jogosultságok

A biztonságot a kettős hitelesítés aktiválásával is növelheti. Ez az opció minden alkalommal, amikor a felhasználó csatlakozik a platformhoz, egy egyedi kódot küld neki.

A „Manage organization wide Filter Presets” szerepkör lehetővé teszi a felhasználó számára a nyilvános szűrőprofilok módosítását. Ha nem rendelkezik ezzel a szerepkörrel, csak a magánszűrőprofilokat módosíthatja.

A jogosultságokat az egység adminisztrátora kezeli az Admin panelről. Felhasználó létrehozásakor alapértelmezés szerint minden jogosultság le van tiltva, és az adminisztrátornak manuálisan kell engedélyeznie az adott felhasználóhoz szükséges jogokat. A felhasználóhoz rendelt jogok minden olyan egységre (munkaterületre) vonatkoznak, amelyhez a felhasználó hozzáfér a SeqOne platformon (például ha a felhasználó több egységhez is hozzáférhet, ugyanaz a jogosultságkészlet vonatkozik mindegyikre).

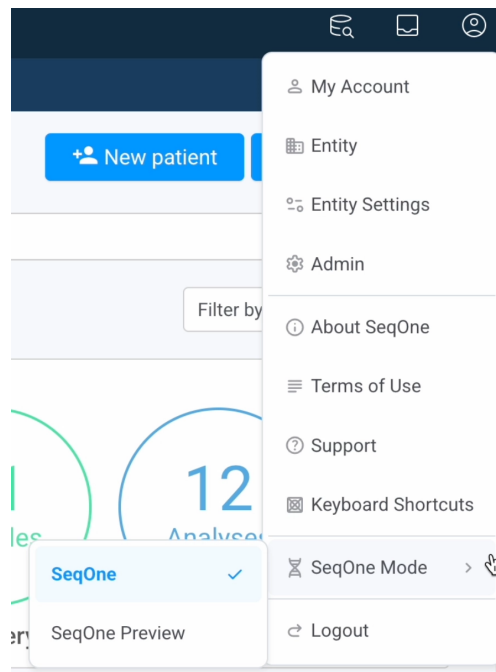
Ha hibaüzenetet kap, kérjük, vegye fel a kapcsolatot az ügyfélszolgálattal a support@seqone.com címen.

7.4.4. Váltás a Main és Preview módok között

A SeqOne-hoz az alapértelmezett bejelentkezési URL-en keresztül történő csatlakozás a felhasználókat az entitásuk "Main" módjába viszi. Ez az alapértelmezett mód tartalmazza a CE-jelölésű munkakészleteket és egyéb helyi tanúsítványokat.

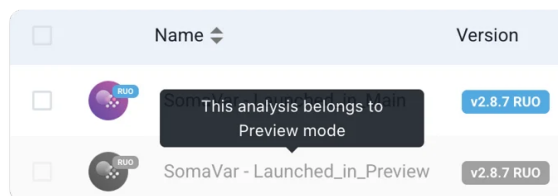
Az új funkciókhoz és munkakészlet-verziókhöz való korai hozzáféréshez váltson "Preview" módba (RUO: Research Use Only), ehhez lépjen a beállítások menü aljára, és a SeqOne One alatt válassza a "Preview" lehetőséget.

A "Main" és a "Preview" módok ugyanazokat az alapvető adatokat (projektek, minták, elemzések), engedélyeket, erőforrásokat (fájlok, sablonok, manifesztumok, génlisták), tudásbázist (VKB) és gyakoriságokat (minta gyakorisági adatok, előfordulások) osztják meg.



Amikor a "Preview" módban navigál, a "SeqOne Preview RUO" logó jelenik meg emlékeztetőül, hogy ez a mód RUO funkciókat és munkakészleteket tartalmaz.

A "Main" módban a "Preview" módban indított elemzések szürkén jelennek meg. Ha rákattint egy ilyen kiszürkézett elemzésre, a platform felszólítja, hogy az elemzés megtekintéséhez váltson Preview módba.



8. A műveleti lépések leírása

Lépés	Leírás
1	Projekt létrehozása A SeqOne platformon végzett elemzések projektek keretében szerveződnek, amelyek a felhasználó által bevitt metaadatok (szekvenálás típusa, előkészítési módszer, érdekes gének) alapján határozzák meg az elemzett minták jellemzőit.
2	Minta feltöltése A mintákat nyers szekvenálási fájlként (FASTQ) töltik fel, amelyeket a kijelölt projektbe kell helyezni. A fájlok feltöltése után egy ellenőrzési lépés biztosítja a benyújtott fájlok integritását az elemzés megkezdése előtt.
3	Az elemzés elindítása Miután az adatok feltöltésre kerültek a SeqOne szerverekre, a felhasználó az elemzett minta típusától és a keresett genomikus változások típusától (SNV, CNV, génfúziók, splicing variánsok stb.) függően választhat a különböző alkalmazások vagy „munkakészletek” közül. Ezek az alkalmazások bioinformatikai elemzést végeznek.
4	Adatminőség-ellenőrzés A SeqOne platformon elérhető alkalmazások több, az adatminőség elemzésére szolgáló modult tartalmaznak, amelyek különböző szekvenálási mutatókat, illesztést és lefedettségi mélységet használnak.
5	Az elemzési eredmények értelmezése A mintában észlelt genomikus variációk különböző lapokon vagy „nézőprogramokban” jelennek meg, ahol a felhasználó kereshet a beteg patológiájáért felelős diagnosztikai variánsra.
6	A beteg patológiájához kapcsolódó terápiás ajánlások és klinikai vizsgálatok megszerzése .
7	Jelentés kiadása Az elemzés eredményei PDF-jelentésként exportálhatók, amelyeket ezután letölthet.

9. Projekt létrehozása

A SeqOne platformon végzett elemzéseket projektekbe szervezik, amelyek a felhasználó által megadott metaadatok (szekvenálás típusa, előkészítési módszer, érdekes gének) alapján határozzák meg az elemzett minták jellemzőit.

9.1. Projekt létrehozása

Az „New project” gombra kattintás után a felhasználóknak meg kell adniuk többféle információt, vagyis metaadatot, amelyek a projekt és a kapcsolódó minták leírására szolgálnak.

- **Projekt leírása**
- **Szekvenálás:**
 - Vizsgálat típusa (Assay type): az elemzés típusa ("Germline" [Csíravonal] vagy "Somatic" [Szomatikus]),
 - A csíravonal-projektek ("Germline" vizsgálati típus) rendelkeznek egy UMI Trimming (UMI-levágás) jelölőnégyzettel, amely lehetővé teszi az UMI-kat tartalmazó minták feldolgozását. Ennek az opciónak a kiválasztásával az UMI-k levágásra kerülnek a FASTQ szekvenciákról, hasonlóan a szomatikus munkakészletek "UMI disabled" (UMI letiltva) módjához (lásd az **UMI feldolgozási mód kiválasztása** című szakaszt).
 - Szekvenáló platform (Sequencing platform): a szekvenálást végző platform.
 - Könyvtár típusa (Library type): az elvégzett leolvasási szekvenálás típusa (Paired-end [Párvégű] vagy Single-end [Egyvégű]),
 - Adattípus (Data type): DNA (DNS), RNA (RNS), ctDNA (ctDNS) vagy Methylation Sequencing (Metilációs szekvenálás).
 - Ha az adattípusként a DNS-t választja, akkor a szekvenálási módszert a „DNS-szekvenálási módszer” legördülő menüből, az amplifikációs módszert (Capture vagy Amplicon) pedig az „Amplifikációs módszer” menüpontból kell megadnia.
 - Fájlbeviteli típus: *Fastq fájlok, VCF fájlok*
 - Genom: a referencia genom verziója (GRCh37 vagy GRCh38),
 - Alacsony minőségű térképezési régió: a variánsok azonosítása alacsony minőségű illesztésű régiókban, figyelembe véve a MAPQ0 olvasmányokat,
 - Szekvenálási módszer: génpanel, teljes exom szekvenálás, átfogó genomprofilozás, sekély WGS, teljes genom szekvenálás, CGH mikrosorozatok.
 - Másodlagos elemzés szolgáltatója: AmoyDX, Pillar, Thermofisher,
 - Manifest: a génpanel esetében a manifest,
 - ID marker (opcionális): az identitás marker fájl.
- **Minták:**

- (Opcionális) Új minta metaadatok hozzáadhatók a „Saját metaadatokat is létrehozhat” gombra kattintva. A rendszer kérésére adja meg a metaadat nevét és értékét.

Miután a projekthez beírta a különböző metaadatokat, a felhasználók a „Projekt létrehozása” gombra kattintva létrehozhatják a projektet.

9.2. Projektek kezelése

A felhasználók a műszerfalon keresztül kezelhetik a platformon létrehozott különböző projekteket. Különösen a következőket tehetik:

- A „Projektek” fülön keresztül hozzáférhetnek a projektekhez, valamint a „Minták” és „Elemzések” logókra kattintva az egyes projektekhez tartozó mintákhoz és elemzésekhez.
- Az *Elemzés* fülön keresztül közvetlenül elérhetik az elemzéseket.
- Új projekt létrehozása az „Új projekt” gombra kattintva (lásd a „Projekt létrehozása” című részt).

9.3. Projekt törlése

A projekt törléséhez a felhasználóknak:

- Válassza ki a projektet
- Kattintson a „Beállítások” fülre, majd a „Projekt törlése” gombra.
- Erősítse meg a megjelenő üzenetben az „Igen” választ. Ez a művelet visszafordíthatatlan.

9.4. DNS-adatok (DNS-szekvenálás, ctDNS-szekvenálás)

Alacsony minőségű térképezési régió. Génpanelek, exomok vagy genomok szekvenálásakor a felhasználó alacsony minőségű illesztési régiókat is bevonhat a variánsok megjelölésébe. Ezek a régiók az úgynevezett MAPQ0 olvasmányoknak felelnek meg, amelyek illesztési minősége 0, mint például a pszeudogének és a genom homológ régiói.

Az opció meghatározott célgénekre vagy régiókra alkalmazható. Az opció használatához a felhasználónak be kell töltenie a kívánt régiókat megcélzó manifesztet, vagy ki kell választania azt a legördülő menüből.

Ez az opció csökkentheti az eredmények minőségét és pontosságát. Háttérzajt okozhat az allélfrekvenciában, és negatív hatással lehet a variánsok prioritásainak meghatározására. Emellett a nagyobb számítási terhelés miatt megnövelheti az elemzés idejét.

Exom. Exomszekvenálás esetén a felhasználóknak nem kell megadniuk a használni kívánt manifesztet; az Exomkészlet-szolgáltató kategória egyik ikonjára kattintva kiválaszthatják a

használt készlet gyártóját. Ezután egy legördülő menüből kiválaszthatják a kívánt manifesztet. Ha a kívánt manifeszt nem érhető el a platformon, a felhasználóknak javasoljuk, hogy vegyék fel a kapcsolatot a felhasználói támogatással (support@seqone.com).

Génpanel. Génpanel esetén a felhasználóknak egy legördülő menüből kell kiválasztaniuk az *amplifikációs módszert*, valamint a kívánt géneknek megfelelő manifesztet (BED formátumban). Ha a szükséges manifeszt nem elérhető a platformon, akkor azt a „Új manifeszt feltöltése” opció kiválasztásával és a képernyőn megjelenő utasítások követésével lehet feltölteni.

Shallow WGS, CGH MicroArrays, teljes genom szekvenálás. Genom szekvenálás esetén a felhasználónak nem kell megadnia, hogy melyik manifesztet kívánja használni.

Capture. A *capture* amplifikációs módszer kiválasztásával egy UMI ikon (*Unique Molecular Identifiers*) válik elérhetővé. Az egyedi molekuláris azonosítók olyan indexek, amelyeket az amplifikáció előtt adnak hozzá, hogy segítsenek kiküszöbölni a PCR-duplikátumokat és csökkenteni a háttérzajt az elemzés után.

Amplicon. Az ampliconok elemzésekor különös figyelmet kell fordítani az amplifikációs primerekre. Amplicon adatokhoz projekt létrehozásakor a felhasználóknak azt javasoljuk, hogy olyan manifesztet válasszanak, amelyben a célokhoz tartozó régiók nem tartalmazzák a primer szekvenciákat. Ha ilyen BED nem áll rendelkezésre, akkor kiválasztható egy opció, amely a szekvenciák végén egy fix hosszúságú részt *kivág*.

Identitásfigyelés. A FASTQ fájlokból származó génpanel, exom, genomprofil (CGP) vagy genom (sekély WGS) szekvenálási módszerek esetében a felhasználó a legördülő menüből kiválaszthatja az identitásfigyelő markerek fájlját. Ha a kívánt fájl nem áll rendelkezésre a platformon, akkor az „Új markerek feltöltése” opció kiválasztásával és a képernyőn megjelenő utasítások követésével importálható (lásd még a „**Felhasználói beállítások kezelése**” szakasz „**Markerek**” című bekezdését).

9.5. RNS-adatok (RNS-szekvenálás)

Ha az adattípusként az RNS-t választja, a felhasználóknak meg kell adniuk, hogy protokolljuk megőrzi-e az eredeti szálinformációt a „*Szálas protokoll*” legördülő menüben. Ha a protokoll szálspecifikus, a szálak szintézisének sorrendjét (*előre-hátra* vagy *hátra-előre*) a „*Olvasási irány*” opcióval kell megadni. Végül meg kell adni a szekvenálási módszert (génpanel).

Olvasási orientáció. A szekvencia orientációjának megadásához két lehetőség áll rendelkezésre:

- **Forward-Reverse** : az egyes párok első olvasata (R1) megfelel a transzkribált messenger RNS (sense szál) szekvenciájának.
- **Reverse-Forward** : az egyes párok első olvasata (R1) a transzkribált messenger RNS komplementer szekvenciájának felel meg (antisense szál).

Általában az olvasások orientációja az alábbiak szerint alakul az alábbi készletek esetében:

- Agilent: Reverse-Forward
- Illumina: szál nélküli
- Roche Kapa Hypercap: Fordított-Előre
- Twist: Fordított-Előre

Kétség esetén kérjük, vegye fel a kapcsolatot az ügyfélszolgálattal (support@seqone.com).

Miután megadta az adattípust és megfelelően konfigurálta a projektet, a rendszer kéri, hogy a „*Következő lépés*” gombra kattintva erősítse meg a beállításokat.

9.6. Projektbeállítások

A projekt „Beállítások” fülén a következőket teheti:

- a „Projekt neve” és „Projekt leírása” mezőkben módosíthatja a projekt nevét és leírását,
- módosíthatja a minőség-ellenőrzési (QC) profilt,
- megváltoztathatja az alapértelmezett szűrőprofilt a változatok táblázatában,
- véglegesen törölheti a projektet.

9.6.1. Az alapértelmezett projekt QC mutatók konfigurálása

A felhasználó választhat, hogy az alapértelmezett minőség-ellenőrzési mutatókat használja, vagy a projekt „Beállítások” fülén egyedi küszöbértékeket határoz meg. A felhasználót felkérjük, hogy vegye fel a kapcsolatot a felhasználói támogatással (support@seqone.com), hogy meghatározza a kívánt értékeket.

Az egyéni minőség-ellenőrzési mutatók alkalmazása:

- QC-ellenőrzések a projekt *Elemzések* nézetében,
- QC-ellenőrzések az elemzés QC fülének *QC automatikus érvényesítés* szakaszában,
- az elemzés *GeneCov* fülén.

9.6.2. A projekt alapértelmezett szűrőprofiljának beállítása

A felhasználó a projekt „Beállítások” fülén beállíthatja az alapértelmezett variánstáblára alkalmazott előre definiált szűrőprofilt (lásd még: **Előre definiált szűrőprofil használata**).

A szűrőprofil minden munkakészlethez kiválasztható egy legördülő menüből, feltéve, hogy az nyilvános. A szűrőprofil ezután alapértelmezésként alkalmazásra kerül a variánsok táblázatának megtekintésekor, minden projektelemzéshez, a szervezet minden felhasználójához.

Ha a felhasználó nem módosítja ezt a paramétert, a projekt létrehozásakor az alapértelmezett érték a SeqOne által meghatározott profil lesz.

Az alapértelmezett szűrőprofilok zárolhatók a *"Lock Variants Filters"* kapcsolóra kattintva.

10. Mintafeltöltés

10.1. Minták feltöltése

A felhasználók az egyes projektekben található „Minták hozzáadása” ikon segítségével importálhatják mintáikat. A minták kétféle módon importálhatók a SeqOne platformra:

PC-ről

A felhasználók a „Fájlok hozzáadása” ikon „A számítógépről” fülére kattintva közvetlenül a számítógépükön található mappából tölthetik fel FastQ fájljaikat. A felhasználók a fájlokat a számítógépükről az interfész erre a célra kijelölt területére is áthúzhatják.

SDS-en keresztül (SeqOne Data Sync)

Az SDS egy opcionális prémium modul, amely automatikusan létrehozza a projekteket, átviszi az adatokat, elindítja az elemzéseket és helyreállítja a strukturált adatokat (TSV) a laboratóriumi információs menedzsment rendszerbe (LIMS) való integráláshoz.

Ez a Linux, MacOS és Windows rendszerrel kompatibilis modul egy futtatható fájl, amely lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy előre meghatározott és rendkívül biztonságos környezetben hitelesítsék magukat és kommunikáljanak a SeqOne API-kkal.

Minimális követelmények:

- Legalább Linux 1.19
- MacOS 10.15 Intel CPU-val minimum
- MacOS Apple Silicon CPU-val (M1 chip) minimum
- Windows 10 64 bites minimum
- 4 GB RAM (8 GB Windows esetén)
- Négymagos processzor
- Internet és SeqOne platform hozzáférés (app.eu.seqone.com)
- Hozzáférés az adattároló rendszerhez (közvetlenül vagy hálózaton keresztül)

Ha szeretné használni ezt a megoldást, vagy további információkat szeretne kapni, vegye fel a kapcsolatot ügyfélszolgálatunkkal (support@seqone.com).

Mintafeltöltés állapota

A SeqOne platform különböző állapotokat használ, hogy a felhasználók nyomon követhessék a mintafeltöltés folyamatát:

- *Feltöltés folyamatban*: importálás folyamatban,
- *Minta ellenőrzése...*: a minta megfelelőségének ellenőrzése folyamatban,
- *Összehangolás...*: minta összehangolási lépés,
- *Ellenőrzött minta*: ellenőrzött minta,
- *Feltöltés sikertelen*: importálás sikertelen.

Feltöltési kapacitás

A fájlfeltöltési kapacitás (különösen a fastq.gz fájlok esetében) közvetlenül függ a felhasználó internetkapcsolatától. Ezért a minták feltöltésekor figyelembe kell venni az internetkapcsolat sebességét. A becsült feltöltési idők pontosabb megismeréséhez tekintse meg az alábbi táblázatot:

Estimation du temps d'attente					
	ADSL		Fibre optique (Mbits/s)		
	Ethernet : 10 Mbits/s	Wifi : 7,5 Mbits/s	Ethernet : 100 Mbits/s	Wifi : 90 Mbits/s	
Poids du fichier fastq	100Mo	1min 20s	1min 45s	8s	9s
	1Go	13min 20s	17min 45s	1min 20s	1 min 30s
	10Go	2h 13min 20s	2h 57mn	13min 20s	15 min
	100Go	22h 22min	30h	2h 13min 20s	2h 30min

5. ábra: Becsült feltöltési idő a fájl mérete és az internetkapcsolat sebessége alapján.

10.2. Bemeneti fájlformátum

10.2.1. Elsődleges elemzési fájlok

Az egyes mintákhoz feltöltendő fájl formátuma a használt szekvenálási platformtól függ. A fájlneveknek meg kell felelniük az egyes szekvenálók fájlnevezési konvenciójának.

A fájlokat a platformba való importálás előtt .gz (gzip) kiterjesztéssel tömöríteni kell. Páros végű szekvenálás esetén két fájlra van szükség, amelyek az egyes molekulák mindkét végéről származó olvasmányoknak felelnek meg.

Ha a platform az importáláskor helyesen észlelte a mintát, a fájl teljes neve megjelenik. Ezután a fájlra kattintva át lehet nevezni. A páros végű fájlok automatikusan egyetlen mintává egyesülnek.

A platform a következő szekvenálókat támogatja:

- **Illumina**: fastq.gz formátum, csak páros végű,
- **Element Biosciences**: fastq.gz formátum, csak páros végű,
- **MGI**: fastq.gz formátum, csak páros végű. A várt fájlnevek: sample_1.fq.gz és sample_2.fq.gz **vagy** flowcellID_L01_sample_1.fq.gz és flowcellID_L01_sample_2.fq.gz

10.2.2. Másodlagos elemzési fájlok

Az egyes mintákhoz feltöltendő fájl formátuma a szekvenálási platformtól és a másodlagos elemzéshez használt alkalmazástól függ. A fájlokat a platformba való importálás előtt .gz (gzip) kiterjesztéssel kell tömöríteni, hacsak másképp nem jelezzük.

Az Illumina, Oxford Nanopore Technologies, Agilent, AmoyDx, Pillar, Thermofisher alkalmazásokkal létrehozott másodlagos elemzési fájlok importálási formátuma a használt munkakészlettől függ (lásd a **Másodlagos elemzési fájlokból elérhető elemzési munkakészletek** című részt).

Ha a platform az importálás során helyesen felismeri a mintát, akkor a teljes fájlnevet megjeleníti. A fájlra kattintva átnevezheti azt. Az azonos alapnévvel rendelkező fájlokat a rendszer automatikusan egyetlen mintává egyesíti.

DRAGEN fájlok. Projekt létrehozásakor, ha VCF fájlokat (másodlagos elemzési adatok) és Illumina metaadatokat választunk, az egyes munkakészletekhez tartozó fájlok és formátumok a következők:

GermVar Tertiary, GermVar Tertiary Family sample.hard-filtered.vcf.gz
sample.cnv.vcf.gz
sample.sv.vcf.gz
sample.repeats.vcf.gz

Oxford Nanopore Technologies fájlok. Projekt létrehozásakor a felhasználók importálhatnak VCF fájlokat (másodlagos elemzési adatokat) és Oxford Nanopore Technologies metaadatokat. A várt fájlok és formátumok lehetővé teszik önálló variáns (SNP) fájlok importálását vagy azok kombinálását kiegészítő fájlokkal CNV, STR vagy SV elemzéshez:

GermVar Tertiary, GermVar Tertiary Family sample.wf_snp.vcf.gz
sample.wf_cnv.vcf.gz
sample.wf_str.vcf.gz
sample.wf_sv.vcf.gz

Thermofisher/Affymetrix fájlok. A CGH másodlagos elemzési fájlok importálási formátuma a Thermofisher Affymetrix alkalmazás által generált .txt formátum. Ez a formátum csak akkor támogatott, ha a projekt létrehozása során mind a Thermofisher/Affymetrix, mind a CGH MicroArrays metaadatok kiválasztásra kerülnek. Az egyes munkakészletekhez szükséges fájlok és formátumok a következők:

GermVar Tertiary ARRAY_SampleID.txt

CGH MicroArrays fájlok. A CGH másodlagos elemzési fájlok importálási formátuma az Agilent Cytogenomics alkalmazás által generált .xls formátum. Ez a formátum csak akkor támogatott, ha a projekt létrehozása során mind az Agilent, mind a CGH MicroArrays metaadatok kiválasztásra kerülnek. Az egyes munkakészletekhez szükséges fájlok és formátumok a következők:

GermVar Tertiary IntervalBasedReport_sample.xls

Alissa Reporter fájlok. Az Alissa Reporter másodlagos elemzési fájlok importálási formátuma az Agilent Alissa Reporter alkalmazás által generált .xls formátum. Ez a formátum csak akkor támogatott, ha a projekt létrehozása során mind az Agilent, mind a CGH MicroArrays metaadatok kiválasztásra kerülnek. Az egyes munkakészletekhez szükséges fájlok és formátumok a következők:

GermVar Tertiary IntervalBasedReport_sample.xls
ABERRATION_&_LOH_INTERVAL_sample.xls

PacBio-HiFi files. Projekt létrehozásakor, ha VCF fájlokat (Secondary Analysis data) és PacBio-HiFi metaadatokat választanak ki, az egyes workset-ekhez várt fájlok és formátumok a következők:

GermVar Tertiary, GermVar Tertiary Family sample.hard-filtered.vcf.gz
sample.cnv_sv.vcf.gz
sample.repeats.vcf.gz

Szomatikus génpanel VCF fájlok. Az SNV, CNV, Fusions másodlagos elemzési fájlok importálási formátuma az Illumina, AmoyDx, Pillar, Thermofisher alkalmazások által generált .vcf.gz formátum. Az eredeti fájlneveket át kell alakítani, hogy megfeleljenek az alábbiakban leírt szükséges névadási formátumnak.

A szomatikus projekt létrehozása során a VCF fájlok – másodlagos elemzési adatok és génpanel metaadatok – kiválasztásakor a következő fájlok és formátumok várhatók. A felhasználók importálhatnak egy variáns (SNV) fájlt önmagában, vagy kombinálhatják azt kiegészítő fájlokkal CNV- vagy fúziós elemzéshez:

SomaVar Tertiary sample.snv.vcf.gz
sample.cnv.vcf.gz
sample.fus.vcf.gz

A szomatikus projekt létrehozása során a „VCF fájlok – másodlagos elemzési adatok” és a „átfogó genomprofil” metaadatok kiválasztásakor a következő fájlok és formátumok várhatók. A felhasználók importálhatnak többvariánsú VCF fájlt, például az Oncomine™ Comprehensive Assay V3/Plus „All Variants” VCF fájlját

SomaVar Tertiary

Oncomine_<LibPrepID>_<analysisID>.vcf

10.3. Minta metaadatok

Minden feltöltött minta esetében a felhasználók hozzárendelhetnek értékeket a projekt létrehozásakor kiválasztott metaadatokhoz, vagy új értékeket definiálhatnak a minták listájának jobb felső sarkában található ikonra kattintva .

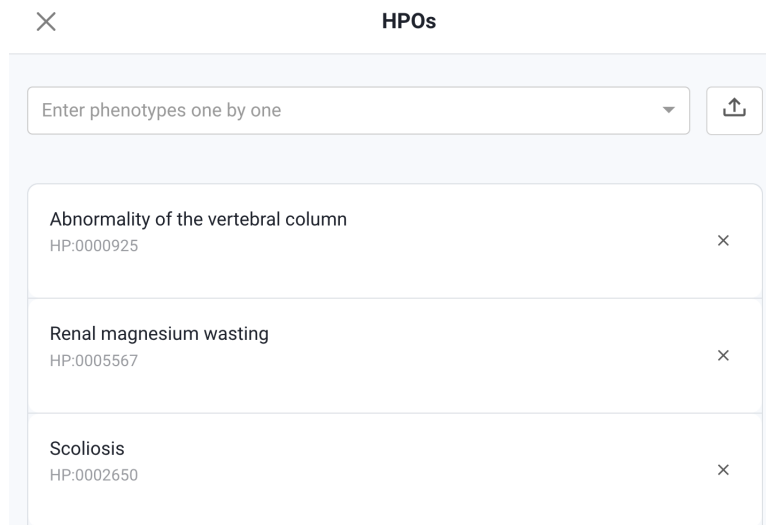
Egyes minta metaadatok közvetlenül tabulátorral elválasztott értékek fájlként tölthetők fel az  ikon kiválasztásával.

Ezek a kritériumok fontos szerepet játszanak az adatok nyomon követhetőségének biztosításában és a platformon végzett különböző elemzések keresztreferenciálásában. Néhány metaadat, például a nem, a betegség és a HPO-azonosítók, részt vesznek a variánsok azonosításának folyamatában.

Ha az Assay Type (Vizsgálati típus) mezőbe „Germline” (Csíravonal) értéket írunk be, akkor a mintához alapértelmezés szerint a „HPO”, „Sex” (Neme) és „GnomAD” csoport metaadatok kapcsolódnak. Ha az „Assay Type” mezőbe „Somatic” (Szomatikus) értéket írunk be, akkor a mintához alapértelmezés szerint a „Disease” (Betegség) és „Sex” (Neme) metaadatok kapcsolódnak.

A mintában lévő HPO-k hozzáadásához vagy módosításához a felhasználó a minta kiválasztása után a HPO oszlopban a „+ Add” gombra kattinthat. Ez megnyit egy felugró ablakot, amelyben a hpo.jax.org API-hoz kapcsolódó keresősávban fenotípus vagy HPO-kód keresésével egyenként

hozzáadhatók a HPO-k. Az  ikonra kattintva HPO-kódokat tartalmazó szövegfájl is importálható. Ezután elérhetővé válik a beírt kifejezések összefoglalása, amelyből szükség esetén törölhetők a kifejezések.



6. ábra: HPO import felugró ablak

10.4. Minta szerkesztése

A felhasználó bármikor szerkesztheti a minta nevét és a mintához tartozó metaadatokat, ha kiválasztja a mintát a „Minták” listából, majd rákattint a  ikonra. A módosításokat érvényesíteni kell, hogy hatályba lépjenek.

10.5. Minta törlése

A felhasználók törölhetik a minta FastQ fájljait a platformról, ha kiválasztják a kívánt mintát, majd rákattintanak a „” (Törlés) ikonra. Ezek a fájlok felszabadítják a tárhelyet, az eredmények pedig továbbra is elérhetők maradnak a SeqOne-on.

A minta törléséhez kattintson a „Minták” fülön a „” ikonra, miután kiválasztotta a kívánt mintát. A minta csak akkor törölhető véglegesen, ha az ahhoz kapcsolódó összes elemzést törölte.

11. Elemzés

11.1. Új elemzés indítása

A felhasználók új elemzést indíthatnak az egyes projektek *áttekintő* képernyőjén az „Új elemzés” gombra kattintva.

Az elemzés elindítása három különálló lépésben történik, amelyeket az alábbiakban ismertetünk.

Az „1. Munkakészlet” lépésben kiválaszthatja a megfelelő elemzési munkakészletet (lásd az **Elemzési munkakészlet kiválasztása** című részt).

A „2. Minták kiválasztása” lépés két részre oszlik:

- 2.1. *Beállítások megadása*:
 - leírja a kiválasztott munkakészletet és a referencia genomot
 - lehetővé teszi a „Extra calling padding” funkcióval a *kitöltés* hozzáadását, ha alkalmazható (lásd az **Elemzési munkakészlet kiválasztása** című részt)
 - lehetővé teszi az UMI feldolgozási mód kiválasztását (lásd az **UMI feldolgozási mód kiválasztása** című részt), ha alkalmazható.
 - lehetővé teszi a CNV alapvonal, az MSI alapvonal kiválasztását, vagy a minimális VAF küszöbérték beállítását, ha alkalmazható.
 - Lehetővé teszi a protokoll kiválasztását.
- 2.2. *Minta(k) kiválasztása*: lehetővé teszi az elemzéshez szükséges minták kiválasztását. A felhasználók a „select all new” (összes új kiválasztása) funkcióval kifejezetten kiválaszthatják az „New” (Új) jelöléssel ellátott új mintákat.

A „3. Elemzés megerősítése” lépés összefoglalja a kiválasztott mintákat. Minden elindítandó elemzéshez korlátozott panelt lehet alkalmazni az „*Korlátozott panel*” opcióval egy vagy több génpanel kiválasztásával (lásd még a **Panel modális nézet** című részt).



GermlineVar - Patient	Sample PATIENT	Restricted panel ⓘ		
-----------------------	-------------------	--------------------	----------------------	---

A „*Korlátozott panel*” opció egy vagy több génpanel formájában szűrőt alkalmaz az elemzésre. Ez az opció nem befolyásolja a variánsok azonosítását, amelyet a projekt manifesztje és a hozzáadott *kitöltés* határoz meg. A korlátozott panelek kiválasztása visszafordítható; a felhasználó az elemzés után módosíthatja ezeket a paneleket az elemzéskezelő oldalsáv *Panel* fülén (lásd a **Panel modális nézet** szakaszt).

11.1.1. Az elemzési munkakészlet kiválasztása

Különböző biológiai kérdések megválaszolásához több elemzési munkakészlet áll rendelkezésre. Az új elemzés létrehozásakor javasolt munkakészletek a projekt létrehozásakor meghatározott metaadatoktól függenek, ezért az adatoktól függően változhatnak.

A FASTQ fájlokból elérhető elemzési munkakészletek

A következő munkakészletek állnak rendelkezésre, ha a projekt létrehozása során a metaadatok *Fastq fájlok - Elsődleges elemzési adatok* opciót választja.

Az amplifikációs módszer amplikon projektjeinek kivételével egyes munkakészletek (pl. GermlineVar, GermlineFamily, SomaVar, SomaVar LF (2.0 vagy újabb verziók), SomaCGP (0.6 vagy újabb verziók), GermVar, GermVar Family, SomaLBx, SomaMethyl) lehetővé teszik a variánsok azonosításának keresési területének kiterjesztését és 0–100 bp-es kitöltés hozzáadását a kezdeti manifesztumhoz.

Extra calling padding
(between 0 and 100bp)

0

 Apply extra padding on the manifest for calling, this won't affect the computation of QC metrics.

Az opció az elemzés elindításának 2. lépésében (Minta kiválasztása) érhető el az „Extra calling padding” funkción keresztül. Alapértelmezés szerint az érték 0, és természetes egész számnak kell lennie.

Egyes munkakészletek (pl. SomaVar (2.6-os vagy újabb verziók) és SomaHemato (0.2-es vagy újabb verziók)) lehetőséget kínálnak a variánsok észlelésének minimális VAF küszöbértékének beállítására. Ez a küszöbérték 0,01% és 1% között állítható be, az alapértelmezett érték 1%.

Minimal VAF threshold
(between 0.01% and 1%)

% 1

 Apply a custom minimal VAF threshold for short variant detection. Sensitivity and precision cannot be guaranteed when deviating from the default pipeline value (1% for SomaVar)

További információkért erről az opcióról vegye fel a kapcsolatot a felhasználói támogatással a support@seqone.com címen.

GermlineVar



A GermlineVar-t a génpanel vagy a beteg exomjának szekvenálása alapján a csírasejt-mutációk kimutatására használják.

A GermlineVar elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki az elemzendő mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

GermVar



A GermVar lehetővé teszi a csírasejt-mutációk kimutatását a beteg génpaneljének, exomjának vagy genomjának szekvenálása alapján.

A GermVar elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtani kívánt munkakészlet verziót, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki a használandó modellt,
- Válassza ki az elemzendő mintát (mintákat), majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

GermlineVarLR



A GermlineVarLR a génpanel-szekvenálásból származó hosszú olvasási szekvenciaadatokban a csírasejt-mutációk kimutatására szolgál.

A GermlineVar LR elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki a használni kívánt modellt és az elemzendő mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.

- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

GermlineFamily



A GermlineFamily-t örökletes mutációk kimutatására használják egy génpanel, az exom vagy a beteg és családtagjai genomjának szekvenálása alapján. Ez a munkakészlet hordozószűrésre is használható.

A GermlineFamily elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válasszon ki legalább 2 mintát.
- A „Set conditions” (Feltételek beállítása) részben jelölje meg, hogy a minta a betegé vagy egy családtagé, a „Family link” (Családi kapcsolat) alatt megadva a családi kapcsolatot. A beteg automatikusan „affected” (érintett) jelölést kap. Hordozószűrés esetén minden mintához adja meg a családi kapcsolatot „Mother” (Anya) vagy „Father” (Apa) jelöléssel, anélkül, hogy bejelölné az „Is affected?” (Érintett?) négyzetet.
- Ellenőrizze, hogy a paraméterek megegyeznek-e, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

GermVar Family



A GermVar Family lehetővé teszi a csírasejt-mutációk kimutatását a beteg génpaneljének, exomjának vagy genomjának szekvenálása alapján.

A GermVar Family elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki a használandó modellt,
- Válasszon ki legalább 2 mintát.
- A „Set conditions” (Feltételek beállítása) részben jelölje meg, hogy a minta a betegé vagy egy családtagé, a „Family link” (Családi kapcsolat) alatt megadva a családi kapcsolatot. A beteg automatikusan „affected” (érintett) jelölést kap. Hordozószűrés esetén minden mintához adja meg a családi kapcsolatot „Mother” (Anya) vagy „Father” (Apa) jelöléssel, anélkül, hogy bejelölné az „Is affected?” (Érintett?) négyzetet.

- Ellenőrizze, hogy a paraméterek megegyeznek-e, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a “Elemzés indítása” gombra kattintva.

CNVCapture



A CNVCapture a génpanel-kapcsolási adatokból a csírasejt-másolatok számának változásait (CNV-eket) észleli.

A CNVCapture elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Select” gombra.
- Válassza ki a legalább 8 elemzésre kerülő mintát, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Az elemzés elindításához kattintson a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra.

CNVExome

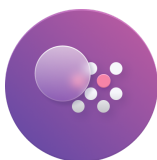


A CNVExome az exom-kapcsolási adatokból a másolatok számának változásait (CNV-eket) észleli.

A CNVExome elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki a használni kívánt modellt és az elemzendő mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Az „Elemzés indítása” gombra kattintva elindítja az elemzést.

SomaVar



A SomaVar szomatikus mutációkat észlel tumor mintákból. Ez a munkakészlet befogási és amplikon adatokkal használható.

A SomaVar elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI-feldolgozási módot (lásd az **„UMI-feldolgozási mód kiválasztása”** című részt).
- Válassza ki az elemzendő mintát (mintákat), majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

SomaCNVCapture



A SomaCNVCapture a génpanel-befogási adatokból a szomatikus kópiaszám-változások (CNV-k) kimutatására szolgál.

A SomaCNVCapture elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI-feldolgozási módot (lásd az **„UMI-feldolgozási mód kiválasztása”** című részt).
- Válassza ki a legalább nyolc elemzésre kerülő mintát, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Az elemzés elindításához kattintson a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra.

SomaRNA



A SomaRNA segítségével génfúziók mutathatók ki az RNA-seq befogási adatokból.

A SomaRNA elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI-feldolgozási módot (lásd: **Az UMI-feldolgozási mód kiválasztása című részt**).
- válassza ki az elemzendő mintát/mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra,
- Az elemzés elindításához kattintson a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra.

SomaMSI



A SomaMSI felismeri a mikroszatellit régiók állapotát (MSS vagy MSI).

A SomaMSI elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válasszon ki legalább nyolc elemzendő mintát, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.

- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI-feldolgozási módot (lásd az **„UMI-feldolgozási mód kiválasztása”** című részt).
- válasszon ki legalább 8 mintát elemzésre, majd kattintson a „Következő lépés” gombra,
- Az elemzés elindításához kattintson az „Elemzés indítása” gombra.

SomaHRD

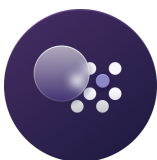


A SomaHRD lehetővé teszi a HRD állapotának kimutatását kizárólag sekély WGS adatokból, vagy a BRCA1 és BRCA2 géneket is tartalmazó génpanel kíséretében.

A SomaHRD elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Adja meg az egyes minták sejteségi metaadatait (a tumorsejtek százalékos arányát) (lásd a „**Minta metaadatok**” részt).
- Válassza ki az elemzendő mintát/mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Válassza ki a megfelelő SomaVar vagy SomaCGP (GRCh37 vagy GRCh38) elemzést minden mintához a „Panelelemzés kiválasztása (opcionális)” opcióval,
- Az elemzés elindításához kattintson az „Elemzés indítása” gombra.

SomaVar LF

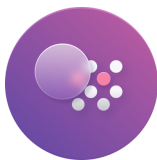


Alacsony frekvenciájú rövid variánsok és szerkezeti variánsok, valamint fúziós gének kimutatása tumor mintákból (szilárd vagy folyékony biopszia, keringő tumorális DNS), amelyeket gének paneljén történő befogással dúsítottak.

A SomaVar LF elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI-feldolgozási módot (lásd **az UMI-feldolgozási mód kiválasztása című részt**).
- Válassza ki az elemzendő mintát (mintákat), majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Az elemzés elindításához kattintson az „Elemzés indítása” gombra.

SomaCGP



A SomaCGP lehetővé teszi a szomatikus mutációk, szerkezeti variánsok, génfúziók, valamint az MSI és TMB állapotok kimutatását tumor mintákból. Ez a munkakészlet az Agilent SureSelect Cancer CGP Assay paneljével előállított FFPE DNS elemzésére szolgál, és csak akkor érhető el, ha a projekt létrehozásakor a „Comprehensive Genomic Profiling” metaadatokat választja ki. Ez a munkakészlet befogási adatokkal használható.

A SomaCGP elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Select” gombra.
- Ha szükséges, válassza ki a „CNV alapvonalat” és/vagy az „MSI alapvonalat” (ha nem választ ki alapvonalat, az elemzés CNV/MSI-felismerés nélkül fog futni),
- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI feldolgozási módot (lásd **az UMI feldolgozási mód kiválasztása című részt**),
- Válassza ki az elemzendő mintát/mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

SomaHemato

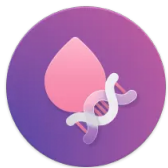


A SomaHemato lehetővé teszi a szomatikus mutációk kimutatását hematológiai sajátosságokkal rendelkező mintákból. Ez a munkakészlet befogási adatokkal használható.

A SomaHemato elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI-feldolgozási módot (lásd **az „UMI-feldolgozási mód kiválasztása” című részt**).
- Válassza ki az elemzendő mintát (mintákat), majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

SomaLBx



A SomaLBx lehetővé teszi az alacsony frekvenciájú szomatikus mutációk, szerkezeti variánsok és génfúziók kimutatását a ctDNA . Ez a munkakészlet a ctDNA elemzésére szolgál, és befogási adatokkal használható.

A SomaLBx elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki a „CNV alapvonalat” (ha nem választ ki alapvonalat, az elemzés CNV-felismerés nélkül fog futni),
- Az opciók közül válassza ki az elemzéshez megfelelő UMI feldolgozási módot (lásd a **„UMI feldolgozási mód kiválasztása”** című részt),
- Válassza ki az elemzendő mintát (mintákat), majd kattintson a „Következő lépés” gombra,
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.
-

SomaMethyl



A SomaMethyl lehetővé teszi a metilált CpG-szigetek kimutatását keringő tumor-DNS-mintákból. Ez a munkakészlet a ctDNA metilációjának elemzésére szolgál, és biszulfát-adatok rögzítésével használható.

A Somamethyl elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki a kontroll kohortnak megfelelő „Metil alapvonalat” (ha nem választ ki kohortot, az elemzés küszöbérték-felismerés és differenciális metiláció nélkül fog futni).
- Válassza ki az elemzendő mintát (mintákat), majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

Másodlagos elemzési fájlokból elérhető elemzési munkakészletek

A következő munkakészletek állnak rendelkezésre, ha a projekt létrehozása során a *VCF fájlok* – *Másodlagos elemzési adatok* opciót választják, vagy ha mind az Agilent, mind a CGH MicroArrays metaadatokat kiválasztják (lásd a **Másodlagos elemzési fájlok** részt). Ebben az

esetben a platform a kiválasztott szolgáltató alkalmazásából kapja meg a kimeneti adatokat, majd folytatja a variánsok annotálását és beillesztését a megfelelő vizualizációs felületekbe.

GermVar Tertiary



Az Illumina Germline alkalmazás vagy az Oxford Nanopore Technologies EPI2ME alkalmazás által WGS- és WES-adatokból, illetve az Agilent Cytogenomics alkalmazás által MicroArray CGH-adatokból észlelt variánsok egyetlen mintából történő elemzési folyamat.

A GermVar Tertiary elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Select” gombra.
- Válassza ki az elemzendő mintát/mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

GermVar Tertiary Family

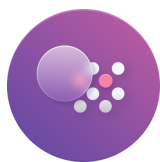


Az Illumina Germline alkalmazás vagy az Oxford Nanopore Technologies EPI2ME alkalmazás által WGS- és WES-adatokból észlelt variánsok többminta elemzési folyamat.

A GermVar Tertiary Family elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verzióját, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válasszon ki legalább 2 mintát.
- A „Set conditions” (Feltételek beállítása) részben jelölje meg, hogy a minta a páciensé vagy egy családtagé, a „Family link” (Családi kapcsolat) alatt meghatározva a családi kapcsolatot. A páciens automatikusan „affected” (érintett) jelölést kap.
- Ellenőrizze, hogy a beállítások megfelelőek-e.
- Az „Elemzés indítása” gombra kattintva futtassa az elemzést.

SomaVar Tertiary



A SomaVar Tertiary egy VCF-alapú tercier elemzési folyamat, amely feldolgozza mind az Illumina WES VCF fájlokat, mind a különböző készletgyártók génpanel VCF fájljait (lásd a „**Bemeneti fájlformátum**” részt).

A SomaVar Tertiary elemzés futtatásakor a felhasználóknak a következőket kell tenniük:

- Válassza ki a végrehajtandó munkakészlet verziót, majd kattintson a „Kiválasztás” gombra.
- Válassza ki az elemzendő mintákat, majd kattintson a „Következő lépés” gombra.
- Indítsa el az elemzést a „Start analysis” (Elemzés indítása) gombra kattintva.

11.1.2. A UMI feldolgozási mód kiválasztása

Az UMI feldolgozási módok bemutatása

A gyakorlatban a platform egy vagy több módszert javasol az UMI-k feldolgozására az elemzés futtatásakor:

- Standard mód** (ajánlott): konszenzusokat generálnak az azonos UMI-vel rendelkező PCR-duplikátumokból, ha azok száma nagyobb vagy egyenlő 2-vel. Az egyetlen szekvenciával reprezentált UMI-k (singletonok) szintén megmaradnak. A jelentett variánsok minimális allélfrekvenciája és a mutációt alátámasztó minimális olvasási szám (AO, Alternate Observation) a használt munkakészlettől függően eltérő:
 - A SomaVar, SomaHemato, SomaRNA, SomaCNVCapture, SomaCGP és SomaMSI esetében a minimális allélfrekvencia 1%, az AO pedig legalább 3 olvasás.
 - A SomaVar LF és SomaLBx esetében a minimális allélfrekvencia 0,1%, az AO pedig minimum 2 olvasás. Ez a munkakészlet lehetővé teszi az 1% alatti allélfrekvenciájú variánsok kimutatását. Ajánlott, ha a szekvenálási mélység meghaladja az 5000x-et, valamint olyan alkalmazásokhoz, mint a ctDNA szekvenálás.
- UMI letiltva** (csak a SomaVar, SomaRNA, SomaHemato, SomaLBx, SomaCNVCapture, SomaCGP és SomaMSI esetében elérhető): az UMI-k nem használatosak a deduplikációhoz, és az elemzés előtt kivágásra kerülnek a szekvenciák végéről. Ezért az elemzési folyamat során generált adatok nyers (nem deduplikáltak). A jelentett variánsok minimális allélfrekvenciája 1%, a mutációt alátámasztó minimális olvasási szám (AO) pedig 3.

A különböző módok beállításainak különbségeit az alábbi táblázat foglalja össze:

	UMI letiltva	UMI standard
A mutált bázis minimális medián/átlagos minősége (Phred pontszám)*	30	30
Minimális olvasási szám konszenzus alapján	N/A	2
A konszenzusban szereplő egyes bázisok minimális minősége (Phred pontszám)	N/A	30
Szűrt konszenzusok nélküli olvasmányok	N/A	nem

1. táblázat: A különböző UMI-feldolgozási konfigurációk beállításai

* Ezek a szűrők csak azokra a variánsokra vonatkoznak, amelyeket az SVM modell nem választott ki a variánsok azonosítása után (SomaVar és SomaRNA folyamatok).

UMI-kezelési folyamat

Az UMI-k szerkezete az egyes beszállítói készletektől függ, és a SeqOne platformon jelenleg a következő készletek érhetők el:

- QIAGEN QIAseq
- Agilent XTHS/Alacsony bemenet
- Agilent XTHS V2
- Illumina TruSight Oncology 500
- Twist UMI adapter rendszer
- Roche KAPA HyperCap
- QIAseq targeted DNA Pro

 **Warning:** A "QIAseq Targeted DNA Pro" UMI konfigurációt csak a SomaVar-hoz szabad használni, legalább 150 bp olvasási hosszúsággal. További információért forduljon a támogatáshoz.

Az UMI-feldolgozás az fgbio eszközkészlet használatán alapul, amely képes kezelni az UMI-ket és az UMI-vel jelölt olvasmányokat. UMI-elemzési folyamatunk a következő lépésekből áll:

1. Szükség esetén vágja le az UMI-ket a szekvenciák végéről, és hozzon létre egy nem igazított BAM-ot a FASTQ fájl párból.
2. UMI-k nélküli szekvenciák összehangolása BWA-MEM2 (DNS/ctDNS) vagy STAR (RNS) segítségével
3. A ZipperBam segítségével egyesítse az UMI-ket tartalmazó BAM fájlokat az igazított szekvenciákkal.
4. Csoportosítsa az olvasmányokat, ha ugyanazon a pozíción vannak és ugyanazt az UMI-t használják.
5. Készítse el a konszenzus szekvenciát minden UMI-csoport számára.
6. Szűrje az egyes bázisokat minőségük szerint: a konszenzus szekvencia megbízhatósága a csoportonkénti olvasások számával növekszik.
7. Szűrje a konszenzus szekvenciákat: ha a konszenzus szekvenciában a bázisok több mint 20%-a szűrésre kerül, a konszenzus szekvencia nem kerül megtartásra.
8. A kiszűrt konszenzus szekvenciák konvertálása FASTQ formátumba, majd végleges újrendezés a referenciagenomban BWA-MEM2 (DNS/ctDNS) vagy STAR (RNS) segítségével.

Kompatibilitás az elemzési munkakészletekkel

A SomaVar, SomaHemato, SomaCGP, SomaLBx, SomaMethyl, SomaVar LF, SomaCNVCapture, SomaMSI és SomaRNA munkakészletek kompatibilisek az UMI adatokkal. A különböző munkakészletek elindításakor elérhető feldolgozási opciókat az alábbi táblázat tartalmazza:

	UMI letiltva	UMI standard
SomaVar	Igen	Igen

SomaCNVCapture	Igen	Igen
SomaMSI	Igen	Igen
SomaRNA	Igen	Igen
SomaVar LF	Nem	Igen
SomaCGP	Igen	Igen
SomaLBx	Igen	Igen
SomaHemato	Igen	Igen
SomaMethyl	Nem	Igen

2. táblázat: A kompatibilis munkakészletek elindításakor elérhető UMI-feldolgozási opciók.

11.2. Elemzés állapota

Az elemzés elindítása után a SeqOne platform különböző állapotokat használ, hogy a felhasználók nyomon követhessék az elemzés előrehaladását:

- **Bioinformatika Felfüggesztve:** a platform egy másik elemzés befejezésére vár
- **Bioinformatika fut:** az elemzés folyamatban van; ez az állapot azt is mutatja, hogy az elemzés melyik szakaszában tart
- **Bioinformatika befejezve:** az elemzés befejeződött
- **Elemzés sikertelen:** hiba történt az elemzés során; ebben az esetben a felhasználóknak fel kell venniük a kapcsolatot a felhasználói támogatási csapattal
- **Értelmezés – új:** az elemzés befejeződött és készen áll az értelmezésre, még egyetlen felhasználó sem nyitotta meg
- **Az elemzés sikertelen – hiba:** az elemzés során hiba történt. Ebben az esetben a felhasználót felkéri, hogy vegye fel a kapcsolatot a felhasználói támogatással.
- **Az elemzés sikertelen – törölve:** az elemzés nem indult el, mert a hozzá csatolt minta betöltése vagy ellenőrzése során hiba történt.

11.3. Minta minősége

A projekt QC fül két alfüle van: „Általános statisztikák” és „ID-ellenőrzés összefoglalása”.

Általános statisztikák. Ez a fül egy táblázatot jelenít meg, amely a projekt minden mintájának illesztési és lefedettségi minőségét mutatja. A felhasználó a táblázatot TSV fájlként exportálhatja a „ ” (Táblázat exportálása) gombra kattintva.

A számítás a SeQC eszközön alapul, amely egy SeqOne által fejlesztett program, amely a genomhoz igazított összes olvasatból számítja ki az igazítás és a lefedettség statisztikáit.

A felhasználó választhat, hogy az alapértelmezett QC-mutatókat használja, vagy a projekt „Beállítások” lapján egyéni küszöbértékeket határoz meg (lásd az **Alapértelmezett projekt QC-mutatók konfigurálása** című részt).

A javasolt mutatók a következők:

- olvasások teljes száma
- olvasmányok átlagos hossza
- a könyvtárban található DNS-fragmentumok (beillesztések) medián mérete
- a minőségi olvasások százalékos aránya >30
- a referenciagenomhoz igazított olvasások százalékos aránya
- a célra olvasott olvasmányok százalékos aránya
- a duplikált olvasások százalékos aránya
- átmenet/transzverzió aránya
- Átlagos lefedettség
- A célok különböző küszöbértékeknél lefedettségének aránya a kontextustól (amplikont, befogás) függően.

A panel vagy exom célpontokat a projekt létrehozásakor kiválasztott BED fájl alapján határozzák meg.

ID-ellenőrzés összefoglalása. Ez a fül tartalmazza az egyes minták elemzésébe bevont összes marker genotípusát (lásd a „**Marker**” bekezdést a „**Felhasználói paraméterek kezelése**” részben). Egy sor egy mintának felel meg, és minden oszlop egy markert és a hozzá tartozó azonosítót jelöl. A felhasználó a „ ” (Táblázat exportálása) gombra kattintva TSV fájlként exportálhatja ezt a táblázatot.

12. Adatminőség-ellenőrzés

12.1. Minőség-ellenőrzési mutatók és jelentés

12.1.1. Minőség-ellenőrzési mutatók és minőség-ellenőrzések

A QC fülről a felhasználó hozzáférhet az elemzéshez alkalmazott minőség-ellenőrzésekhez, az alábbi szakaszokban leírt alfülek formájában: *QC jelentés*, *azonosító ellenőrzés* (ha alkalmazható) és *Műszaki jelentés*.

MicroArray CGH elemzés esetén a QC fül nem elérhető. A műszaki jelentés azonban elérhető az elemzés *Fájlok* fülén *report.html* formátumban.

A QC fül felső részén található „QC automatikus érvényesítés” szakaszban a felhasználó színekkel jelölheti a QC mutatókat: *megfelelt*, *figyelmeztetés* vagy *nem felelt meg*. A kapcsolódó ikonra kattintva a felhasználó hozzáférhet az alkalmazott küszöbértékekhez és a minőség-ellenőrzés részleteihez: nem, szennyeződés, szülői származás és beltenyésztés, lefedettség mélysége, célra eső százalék, 30X vagy 100X lefedettség, duplikátumok százaléka, a referenciagenomhoz igazított olvasmányok százaléka vagy bp Q30 százalék.

QC auto-validation

SAMPLE	PROFILE	QC METRICS
Exome6	Exome Constit	Sex Contamination Mother Father Consanguinity Cov. depth % on target Cov. 30x % dup. % aligned reads % bp Q30

12.1.2. QC-jelentés

A globális QC-jelentés különböző mutatókat tartalmaz, amelyek leírják a szekvenciák minőségét és illesztését, a manifesztben szereplő régiók lefedettségét, valamint néhány variánsokkal kapcsolatos statisztikát. Ez a jelentés a következő szakaszból áll:

Alignment details (Illesztési részletek) (SomaMethyl). Összes feldolgozott leolvasás, egyedileg és nem egyedileg illesztett leolvasások, valamint mismatch arányok.

Deduplication (Dedublikálás) (SomaMethyl). Duplikációs metrikák az illesztett leolvasásokhoz, rávilágítva a könyvtár-előkészítéssel kapcsolatos lehetséges problémákra.

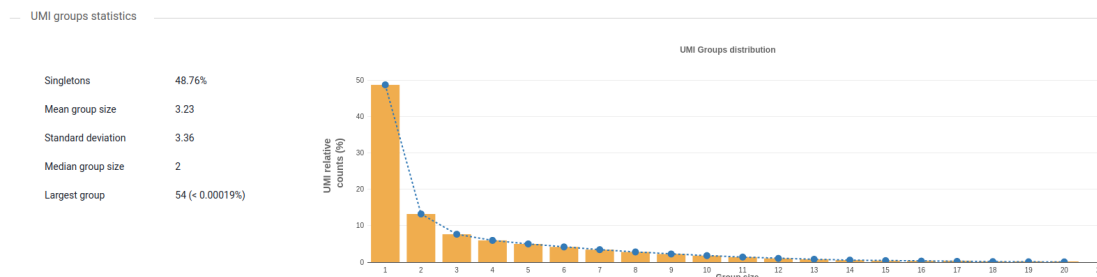
Cytosine coverage & methylation (Citozin lefedettség és metiláció) (SomaMethyl). Citozin-uracil konverziós arányok minden kontextusban (CpG, CHG, CHH).

UMI-csoportok statisztikái (csak SomaVar, SomaVar LF, SomaMethyl és SomaRNA UMI). Lásd a „Az UMI feldolgozási mód kiválasztása” című bekezdést.

A SomaVar, SomaVar LF, SomaMethyl és SomaRNA elemzések minőség-ellenőrzési jelentése részletesebb képet ad a minta összetételéről, különös tekintettel az UMI-k eloszlására a azokat tartalmazó szekvenciák száma szerint.

A statisztikák különösen a következőket írják le:

- A singletonok aránya (egyedi szekvenciával rendelkező UMI)
- Az UMI-csoportok átlagos és medián mérete, valamint a szórás
- A legnagyobb csoport mérete és az összes szekvencia aránya, amelyet tartalmaz.



7. ábra: A UMI-eloszlásra vonatkozó statisztikák a mintában található szekvenciák száma alapján.

A projekt globális minőség-ellenőrzési mutatói is részletesebbek és három szakaszra vannak felosztva:

- UMI-feldolgozás utáni minőség-ellenőrzési mutatók, amelyek a nyers adatok alapján jelzik az egyes mutatók tendenciáját (százalékban kifejezve).
- Az összes szekvenciából számított nyers minőség-ellenőrzési mutatók (UMI-feldolgozás előtt).
- UMI-eloszlás az egyes mintákban található szekvenciák száma alapján.

Keresztfertőzés becslése (csak SomaVar LF). A keresztfertőzést egyénileg becsülik a GATK CalculateContamination eszközzel. Ez utóbbi a homozigóta lókuszokban észlelt referenciaalellék jelét használja az egyénben a keresztfertőzésből származó szekvenciák arányának kiszámításához.

Minta integritása és identitása (csak csírasejt-elemzések). Ez a szakasz a minta integritásával és identitásával kapcsolatos mutatókat sorolja fel:

- **Családi kapcsolat:** felhasználó által definiált metaadatok
- **Eredeti nem:** a felhasználó által megadott nemhez kapcsolódó metaadatok (férfi/nő/ismeretlen)
- **Észlelt nem:** észlelt nem (férfi/nő/ismeretlen)

- **Kapcsolati együtttható:** a *Somalier* eszközzel számított kapcsolati együtttható a családelemzésben szereplő minden mintára vonatkozóan; ez a mutató a minta esetében N/A értéket jelenít meg.
- **Szennyeződés:** a *verifyBamID2* eszközzel becsült, idegen DNS által okozott mintaszennyeződés százalékos aránya.

Szintén felsorolásra kerül a homozigóta és heterozigóta variánsok száma, e két érték aránya (Hom/Het arány), a homozigóta és heterozigóta variánsok száma az X kromoszómán, az X kromoszómán mért egyenértékű arány (Het/Hom arány a chr X-en), valamint a variánsok száma a Y kromoszómán.

A családtagok közötti kapcsolat ellenőrzésére használt *Családi kapcsolat* és *Kapcsolati együtttható* mutatók csak hármass családelemzésekben (GermlineVar Family vagy GermVar Tertiary Family) jelennek meg.

A nemi mutatók a bevitt nem és az adatokban észlelt nem közötti egyezés ellenőrzésére szolgálnak.

A szennyeződés mutató nem kerül kiszámításra a GermVar Tertiary és GermVar Tertiary Family munkakészletek esetében.

A nemek közötti egyezés, a kontamináció és a kapcsolat minőség-ellenőrzése projekt- vagy elemzési szinten elérhető, hogy könnyen azonosíthatóak legyenek az egyezések és az eltérések.

Igazítási mutatók. Ez a szakasz felsorolja az igazítás végén kiszámított főbb mutatókat, például:

- A mintában szereplő szekvenciák teljes száma,
- Az insertumok medián mérete, amelyet ugyanazon pár két olvasatának távolságából számítottak, amelyeknek a megfelelő hossza szerepel,
- Az átlagos szekvencia hossza,
- A referenciagenomhoz sikeresen igazított szekvenciák aránya,
- A duplikátumok aránya (csak rögzítés esetén),
- A 30-nál nagyobb minőségű bázisok aránya,
- A célrégiók átlagos lefedettsége, amelyet az elemzési manifeszt alapján határoznak meg.

Fedettség. Az x-tengelyen látható oszlopdiagram a különböző küszöbértékeknél lefedett

View as table



célrégiók arányát ábrázolja. A kijelölt gombra kattintva () a felhasználók táblázatos formátumban tekinthetik meg a fedettségi értékeket, amelyeket ezután másolhatnak és beilleszthetnek.

QC grafikonok. A FastQC minőségi elemzés grafikonjai, amelyek különösen a szekvenciák GC-tartalmát, valamint a bázisok minőségét mutatják be a szekvenciákban elfoglalt pozíciójuk szerint.

Variánsstatisztikák. Az elemzés során észlelt variánsokkal kapcsolatos statisztikák listája, amely különösen a következőket tartalmazza:

- Az észlelt szubsztitúciók között az átmenetek (Ts) és transzverziók (Tv) száma,
- A Ts / Tv arány,
- Az észlelt mutációk teljes száma,
- Az SNV-k, MNV-k és indelek aránya ebben a teljes számban.

12.1.3. „ID-Check” identitás-ellenőrzési jelentés

Az „ID-ellenőrzés” fül a variánsokat azonosító munkakészletek minőség-ellenőrzési fülén végzett identitás-ellenőrzés eredményeit tartalmazza.

Az eredmények táblázatos formában jelennek meg, a következő információkkal:

- Az egyes markerek leírása a genomkoordináták alapján, például: chr-start-ref-alt,
- a felhasználó által megadott címke (rsID, egyéni címke),
- megfigyelt genotípus (GT) vagy allélfrekvencia (VAF),
- a marker helyén mért lefedettség mélysége (COV),
- az adatbázis minősége (QUAL).

Ha az elemzés több mintát tartalmaz, a mintaszpecifikus oszlopok (GT/VAF, QUAL, COV) minden mintára külön-külön megismétlődnek.

A táblázatban egy variáns kiválasztásával egy új lapon megnyílik az IGV böngésző, amely a variáns genomikus koordinátáira van központosítva.

12.1.4. Műszaki jelentés

A műszaki jelentés felsorolja az elemzés során használt eszközöket és azok verziószámát. Az elemzés QC fülén, majd a „Műszaki jelentés” alatt érhető el.

Különösen a következőket írja le:

- általános információkat a projekt és az elemzés konfigurációjáról és metaadatairól, például a szekvenálás típusáról, a genom verziójáról és a használt munkakészlet verziójáról;

[QC report](#) [ID check](#) [Technical report](#)

Technical Report

This report describes the back-end process used for the secondary analysis.



General Infos

Project Name	VerificationTest - ID Marker Multiple samples
Experiment Type	dna-seq
Sequencing Type	paired-end
Sequencing Equipment	Illumina
Sequencing Method	panel
Amplification Method	capture
UMI Mode	standard
Genome Version	GRCh37
Analysis Name	SomaVar - toy_fusions48
Workset Name	SomaVar
Workset Description	Detection of somatic variants based only on the index sample
Workset Version	v2.5.11

- a használt manifesztum részleteit, például a nevet, méretet, hosszúságot (bp) és az elemzéshez hozzáadott kitöltést;
- a használt adatbázisok és bioinformatikai eszközök részleteit.

12.1.5. UPD Jelentés

Az UPD Jelentés a kompatibilis csíravonal-elemzések (pl. GermVar és a kapcsolódó munkafolyamatok) QC szakaszában érhető el. Összefoglalja az UPD detektálási eredményeket, és vizuális elemeket biztosít az értelmezés támogatására.

Az UPD Jelentés jellemzően a következőket tartalmazza:

- Eredmények áttekintése: jelzés arról, hogy az elemzés észlelt-e UPD-szerű eseményt és az esemény típusát (pl. teljes vagy szegmentális; trió elemzéseknél a jelentés támogatja a szülői eredetet és az esemény altípusait is, mint például UPD | Iso / UPD | Het).
- Eseménylista: a detektált események listája azok kromoszómális elhelyezkedésével és méretével, valamint az algoritmus által használt kapcsolódó pontszám(ok)kal.
- Vizualizációs diagramok: SNP genotípusokon alapuló diagramok (pl. B-allél gyakoriság (BAF) és homozigótaság/ROH jel), amelyek segítenek megerősíteni a hosszú homozigóta régiók és határok jelenlétét.

Minőségellenőrzési információk: a detektálás megbízhatóságához kapcsolódó metrikák (pl. SNP sűrűség / SNPs száma), és figyelmeztetések, ha az adatok nem elegendőek a magabiztos híváshoz.

A detektált UPD események specifikus címkékkel (pl. UPD | Iso és UPD | Het) jelennek meg a Large Variant Viewer (LVV) felületén is.

UPD Pontszám

Az UPD pontszám egy numerikus mutató, amely számszerűsíti, hogy a minta milyen erősen mutat UPD-szerű jelet a genom mentén. A SeqOne-ban az UPD detektálása az SNP genotípus mintázatokra támaszkodik:

- Egyedi (szóló) elemzésben az algoritmus nagy homozigótasági régiókat (ROH) és a SNPs eloszlásának hirtelen változásait keresi a kromoszómák mentén.
- Trió elemzésben az SNP mintázatot emellett az esemény szülői eredetének meghatározására, valamint az izodiszómia (UPD | Iso) és a heterodiszómia (UPD | Het) megkülönböztetésére is használják.

A gyakorlatban az UPD pontszám az UPD eseményt támogató jel erősségét és következetességét tükrözi (pl. tiszta ROH/BAF mintázat és jól elhatárolt határok). A magasabb pontszám azt jelzi, hogy az esemény nagyobb valószínűséggel valódi UPD esemény, míg az alacsonyabb értékek gyengébb vagy zajosabb jelekre utalnak.

Az UPD pontszámot mindig az UPD Jelentés fölön (QC szakasz) megadott elemekkel együtt kell értelmezni, beleértve:

- az UPD vizualizációs diagramokat (pl. B-allél gyakoriság / homozigótasági jel),
- az esemény méretét és kromoszómális elhelyezkedését,

- az elemzés minőségi metrikáit (pl. SNP sűrűség / SNPs száma).

B-allél gyakoriság (BAF) diagram az UPD jelentésből

A B-allél gyakoriság (BAF) diagram a genom mentén lévő SNP genotípusok vizualizációja, és az allél egyensúlyhiány, valamint a homozigótaság elvesztésének (LOH) értékelésére szolgál.

Minden SNP pozícióhoz a BAF a "B" allélt támogató szekvenálási leolvasások töredékének felel meg, és 0-tól 1-ig terjed:

- A 0-hoz közeli értékek homozigóta genotípusnak (AA) felelnek meg.
- A 0,5-höz közeli értékek heterozigóta genotípusnak (AB) felelnek meg.
- Az 1-hez közeli értékek homozigóta genotípusnak (BB) felelnek meg.

Egy normál diploid régióban a BAF diagram jellemzően három sávot mutat 0, 0,5 és 1 körül. A homozigótaság hosszú régióiban (ROH) vagy az UPD izodiszómiában a heterozigóta sáv (0,5 körül) csökken vagy hiányzik, ami alátámasztja az UPD-szerű jel jelenlétét.

Fontos korlátozások:

- UPD-szerű jel figyelhető meg a szülői vérrokonság kontextusában is (több ROH régió a genomon keresztül).
- Az UPD hívás elsősorban a SNPs eloszlásán alapul, és önmagában nem feltétlenül elegendő egyes UPD mintázatok és a kópiaszámhoz kapcsolódó események megkülönböztetésére; szükség esetén ellenőrizze más rendelkezésre álló bizonyítékokkal (pl. lefedettség / CNV eredmények).

13. Az elemzési eredmények értelmezése

13.1. Elemzési eredmények

A felhasználók a projekt elemzéseikhez a kapcsolódó mezőben található „Elemzések” ikonra kattintva, vagy a felhasználói irányítópult bal felső sarkában található azonos nevű ikonra kattintva férhetnek hozzá.

Amikor egy elemzés befejeződött és megtekinthetővé vált, „Értelmezés – Új” státusszal jelenik meg.

Az elemzési eredmények ezután több jelentés formájában elérhetők, amelyekre kattintva közvetlenül megnyithatók.

Az „Értelmezés” állapotnak több változata létezik, attól függően, hogy az eredmények értelmezése milyen szakaszban tart:

- **Új** – a variánsok táblázata még nem került megtekintésre
- **Folyamatban** – a variánsok táblázata megtekintésre került, de még egyetlen variáns sem került validálásra
- **Értékelés alatt** – legalább egy változatot validáltak
- **Jelentés validálva** – jelentés készült az elemzésről

13.1.1. Az elemzés értelmezési munkafolyamatának kezelése

13.1.1.1. Elemzések hozzárendelése értelmezéshez

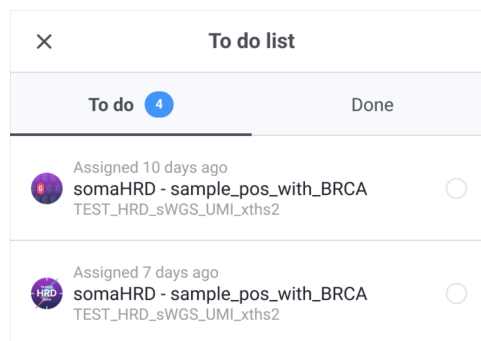
Az entitás adminisztrátorai a projekt Elemzések fülén kiválaszthatnak egy vagy több elemzést, amelyet különböző entitás felhasználók értelmezhetnek. Ehhez az adminisztrátor kiválaszthat

egy vagy több elemzést, majd rákattinthat az oldal alján található „ Edit assignment” (Elemzések hozzárendelése) gombra.

Az „Assignment” (Kiosztás) ablakban a felhasználó azonosítójának (felhasználónév) keresésével a dedikált keresősávon keresztül egy vagy több felhasználót rendelhet a kiválasztott elemzésekhez. A kiosztást felhasználók hozzáadásával vagy törlésével is módosíthatja. Azok a felhasználók, akikhez elemzés van rendelve, a „Assigned to” (Kiosztva) oszlopban szerepelnek. Azok a felhasználók, akik még soha nem jelentkeztek be a SeqOne-ba, addig nem rendelhetők hozzá, amíg nem hoznak létre hitelesítő adataikat.

A felhasználók a „Teendők” fülön érhetik el a nekik hozzárendelt elemzéseket, a „Kész” fülön pedig a validált elemzéseket, amelyek az oldal jobb felső sarkában található  ikonra kattintva érhetők el. Minden új hozzárendelésről értesítés jelenik meg.

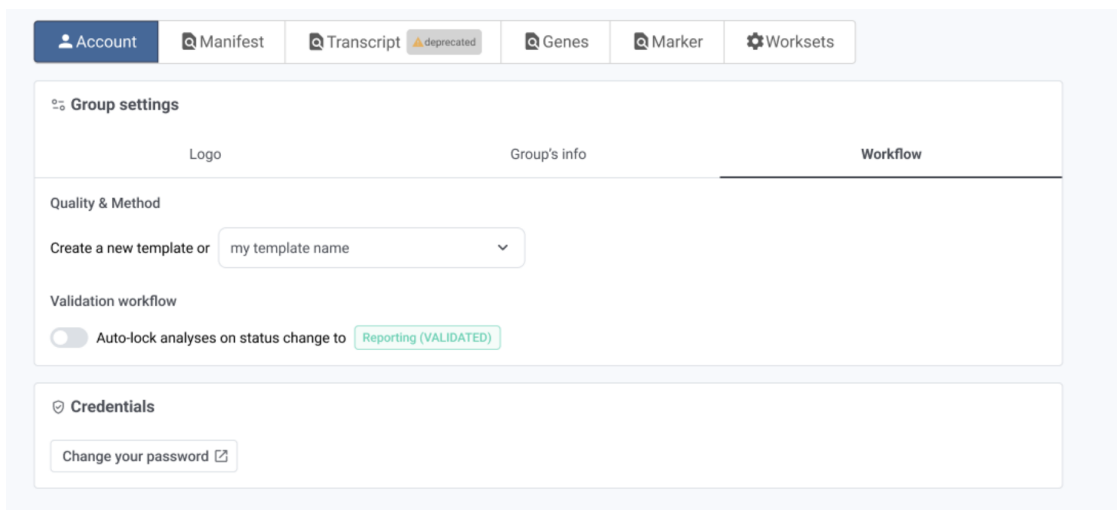
A felhasználók a hozzárendelt elemzésekre közvetlenül rákattintva férhetnek hozzá. Feladatukat a „To do” (Teendők) fülön a megfelelő jelölőnégyzetre kattintva validálhatják, így az a „Done” (Kész) fülre kerül. Ez a művelet visszafordítható.



Az elemzések a következő sorrendben jelennek meg állapotuk szerint: befejezett, futó vagy sikertelen. Minden elemzésnél részletesen feltüntetik a hozzárendelés dátumát, az elemzés nevét és a projekt nevét.

13.1.1.2. Elemzés zárolása

Az entitás rendszergazdája zárolhatja vagy feloldhatja az elemzéseket. Az entitás *Beállítások* menüpontjában, a „Fiók” fülön, majd a „Munkafolyamat” menüpontban aktiválhatja a validált elemzések automatikus zárolását a „Elemzések automatikus zárolása a jelentéskészítés (VALIDÁLT) állapotra váltáskor” funkcióval:



Az értelmezési munka végén, amikor a felhasználó az elemzés állapotát „Jelentés – validált” állapotra változtatja, az elemzés automatikusan lezárásra kerül. A lezárt elemzések „Jelentés – Validált és lezárt” állapotot jelenítenek meg, amely a  **Reporting** **VALIDATED & LOCKED** ikonnal látható.

Ha egy elemzés zárolva van, a felhasználók a felületről nem tudják végrehajtani a következő műveleteket:

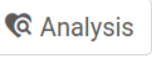
- változatértékelések hozzáadása vagy módosítása a VKB-ban,
- változatokhoz kapcsolódó megjegyzések hozzáadása vagy módosítása,
- új jelentés létrehozása a *Kiválasztás* ablakból,
- új HRD-jelentés létrehozása,
- az elemzés állapotának kézi módosítása,
- a következő műveletek egyikét végrehajtani az elemzési panelen:
 - módosítani a vizsgálat hozzárendelését (a „Hozzárendelés” alatt)
 - módosítsa a beteg nemét
 - HPO-k hozzáadása vagy módosítása
 - módosítsa az elemzési paneleket
 - törölje a klinikai jelentést

Ha a felhasználó bármelyik műveletet megkísérli, a rendszer felkéri, hogy oldja fel az elemzés zárolását, ha rendelkezik hozzáférési jogosultsággal, vagy vegye fel a kapcsolatot rendszergazdájával, ha nem rendelkezik hozzáférési jogosultsággal. Az elemzés zárolásának feloldásához a felhasználónak rendelkeznie kell az „Elemzések zárolásának feloldása” jogosultsággal.

13.1.1.3. Az elemzéskezelés oldalsó panele

Az Elemzés oldalsó panel, más néven „Elemzés fiók” bármely elemzési fülről elérhető.



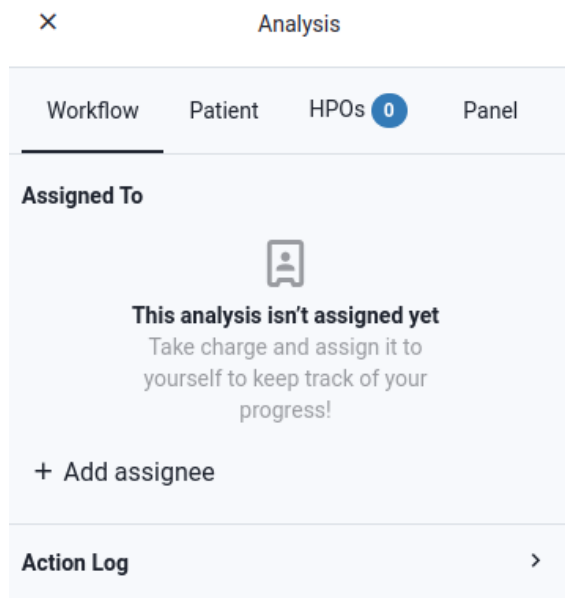
Az elemzési lapok fejlécének jobb felső sarkában található „ Analysis” (Elemzés fiók) gombra kattintva a felhasználó közvetlenül megtekintheti és kezelheti az elemzési adatokat és a betegek HPO-jait anélkül, hogy elhagyná az aktuális képernyőt.

Az Analysis Drawer 4 nézetet tartalmaz:

- **Munkafolyamat:** lehetővé teszi az elemzés munkafolyamatának szervezését és nyomon követését.
- **Beteg:** lehetővé teszi a beteg metaadatainak megtekintését és módosítását
- **HPO-k:** lehetővé teszi az HPO-kifejezések hozzáadását vagy módosítását az elemzésben, csak alkotmányos kontextusban végzett elemzések esetén elérhető.
- **Panel:** lehetővé teszi, hogy egy génlistát alkalmazzon az elemzésre, és az elemzés eredményeit e lista alapján szűrje.

Munkafolyamat modális nézet

Ez a nézet lehetővé teszi a felhasználói munkafolyamatok szervezését és nyomon követését az értelmezett elemzéshez.



Kiosztva. Ez a nézet a jelenlegi elemzéshez kiosztott feladatokat jeleníti meg. Csak a rendszergazdák vagy a „Feladatok kezelése” jogosultsággal rendelkező felhasználók oszthatnak ki feladatokat (lásd: **Rendszergazda-kezelés – felület bemutatása** szakasz).

Amikor a jelenlegi elemzéshez feladatokat rendelnek, megjelenik az összes kijelölt felhasználó listája, a feladat befejezésének dátumával és időpontjával együtt. Ez a lista automatikusan frissül, amint egy felhasználó befejezi a feladatot.

A felhasználók csak a saját feladataikat szerkeszthetik a megfelelő jelölőnégyzet bejelölésével vagy kijelölésének megszüntetésével.

Ha az egérmutatót egy csak olvasható feladat fölé viszi, egy segítő szöveg jelenik meg: „Csak a saját feladatát teljesítheti”.

Ha nincs hozzárendelt feladat, a nézetben a „Ez az elemzés még nincs hozzárendelve” felirat jelenik meg.

Ha egy jogosulatlan felhasználó megpróbál feladatot hozzárendelni a „+ Feladatot hozzárendelő személy hozzáadása” gombra kattintva, a hibaüzenet a következőket jelzi: „Az elemzés hozzárendeléséhez rendszergazdai jogosultságokkal kell rendelkeznie. Szükség esetén vegye fel a kapcsolatot a platform rendszergazdájával, hogy megkapja a megfelelő hozzáférést.”

Műveleti napló. Az „Elemzési műveleti napló (audit nyomvonal)” sávban megjelenik a SomaHRD elemzésben, szűrőkben, szűrőprofilokban és a variáns táblázatban szereplő korlátozott génpanelekben végrehajtott összes művelet története, részletesen feltüntetve a művelet típusát, a felhasználót, az időbélyeget és a művelet leírását.

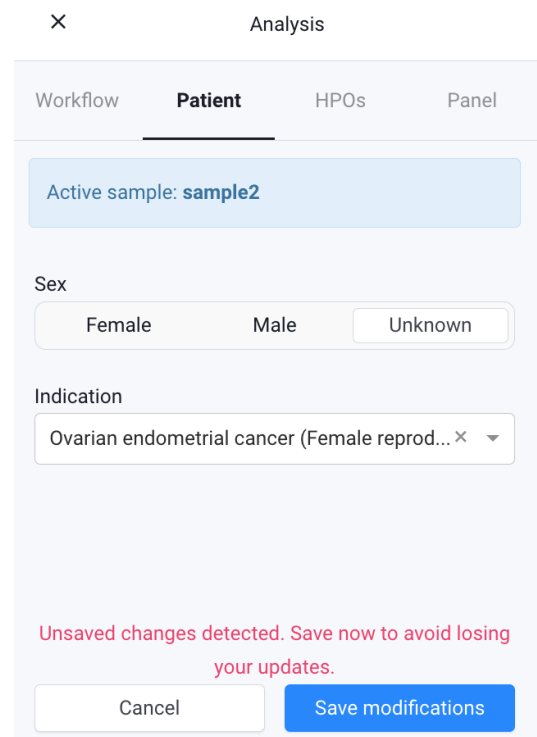
A legutóbbi műveletek a lista tetején jelennek meg. A lapozás lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy hatékonyan navigáljanak a műveleti előzmények között. A teljes előzmény .csv formátumban letölthető a „Napló letöltése” ikonra kattintva.

Beteg modális nézet

Ez a nézet lehetővé teszi a betegek metaadatainak megtekintését és módosítását, például a nemet (nő, férfi vagy ismeretlen), a GnomAD genetikai ősök csoportját (csak csírasejtek) vagy a javallatot (csak szomatikus).

A javallat megjelenítése és szerkesztése csak **szomatikus** elemzések esetén lehetséges:

- Ha a javallatot az elemzés előtt adták meg (lásd: **Minta metaadatok**), akkor az automatikusan meghatározásra kerül a mintához. Ezután csillaggal jelölve lesz, és az első helyen jelenik meg a listában.
- Ha az indikációt az értelmezés során megváltoztatják, egy figyelmeztető üzenet jelzi, hogy a kiválasztott indikáció eltér az eredeti indikációtól, és a „Klinikai bizonyítékok” oszlop „A” aloszlopában a pirula színe frissül (lásd: **Indikáció kiválasztása**).
- Ha az elemzéshez nincs rendelkezésre álló indikáció, a „Nincs rendelkezésre álló indikáció” üzenet jelenik meg.



Analysis

Workflow Patient HPOs Panel

Active sample: sample2

Sex

Female Male Unknown

Indication

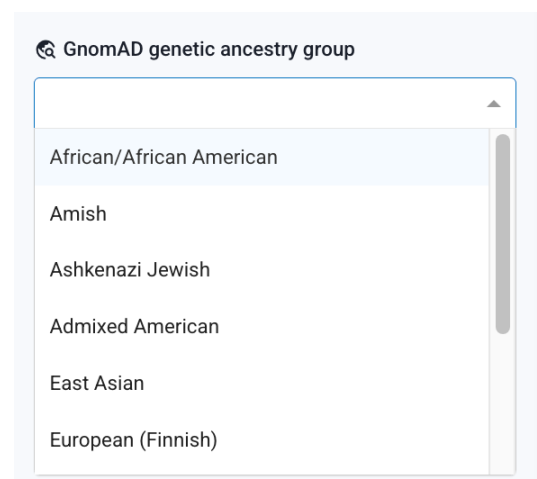
Ovarian endometrial cancer (Female reprod... ×

Unsaved changes detected. Save now to avoid losing your updates.

Cancel Save modifications

A „GnomAD genetikai ősök csoportja” megjelenítése és szerkesztése csak a csírasejt-elemzésekénél érhető el. Az alapértelmezett érték üres, és a kombinált GnomAD populációként kezelendő.

Az ebben a nézetben végzett módosításokat a panel alján található megfelelő „Módosítások mentése/Módosítások törlése” ikonokra kattintva kell menteni vagy törölni, hogy a lapok között válthasson.



GnomAD genetic ancestry group

African/African American

Amish

Ashkenazi Jewish

Admixed American

East Asian

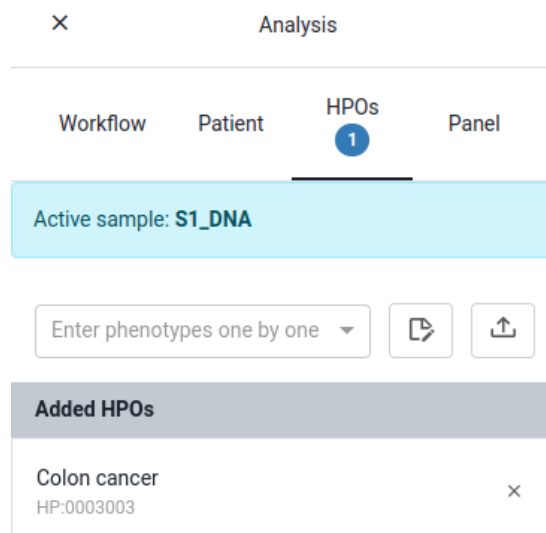
European (Finnish)

HPO modális nézet

Ez a nézet, amely csak Germline projektekben érhető el, lehetővé teszi a mintához kapcsolódó HPO-kifejezések megtekintését, szerkesztését és hozzárendelését, akár manuálisan, akár a beteg klinikai leírása alapján.

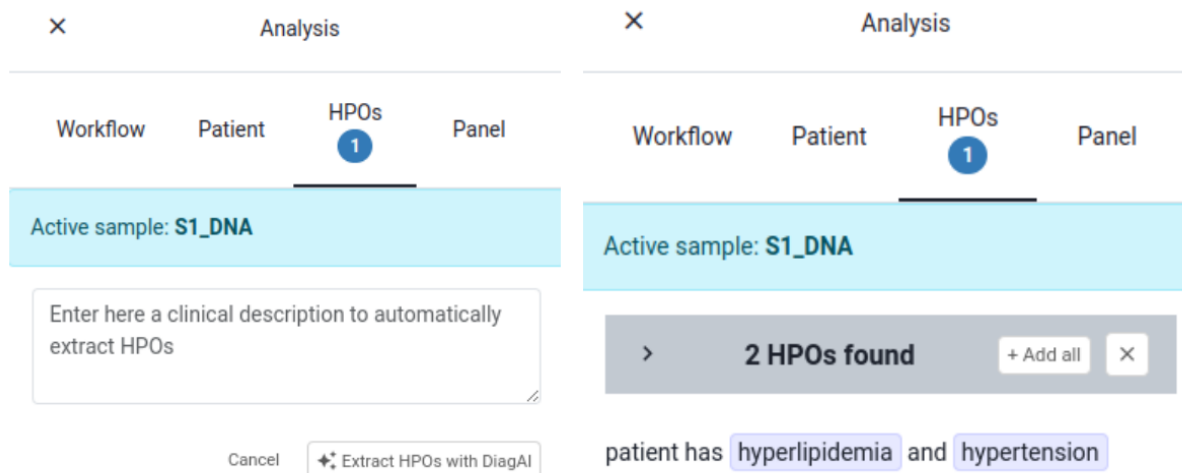
A felhasználó az elemzés előtt megtekintheti a mintához már társított HPO-kifejezések listáját. HPO-kódok hiányában a „Még nincs HPO” üzenet jelenik meg.

A kifejezések manuális hozzáadásához a felhasználó a „Fenotípusok egyenkénti bevitele” keresősávba írhatja be őket, fenotípus vagy HPO-kód keresésével. HPO-kódokat tartalmazó szövegfájlt is importálhat az „” (Szövegfájl importálása) ikonra kattintva (lásd még a „Minta metaadatok” részt).



8. ábra: Az elemzési panel HPO-nézete

A felhasználó a DiagAI segítségével a beteg klinikai leírása alapján generálhat HPO-kifejezéseket. Az „” ikonra kattintva megjelenik egy párbeszédablak, amelyben a felhasználó megadhatja a beteg klinikai profilját (a leírás hossza legfeljebb 4000 karakter lehet), majd az „Extract HPOs with DiagAI” gombra kattintva generálhatja a talált HPO-k listáját. A HPO-kifejezések színesen kiemelve jelennek meg, és a felhasználó az egérrel rájuk mutatva, majd az „Add” (Hozzáadás) gombra kattintva társíthatja őket a beteghez, vagy az „Add all” (Összes hozzáadása) gombra kattintva hozzáadhatja az összes talált HPO-kifejezést (lásd még a „Szerkesztés minta metaadatokkal az elemzési panelen” című részt).

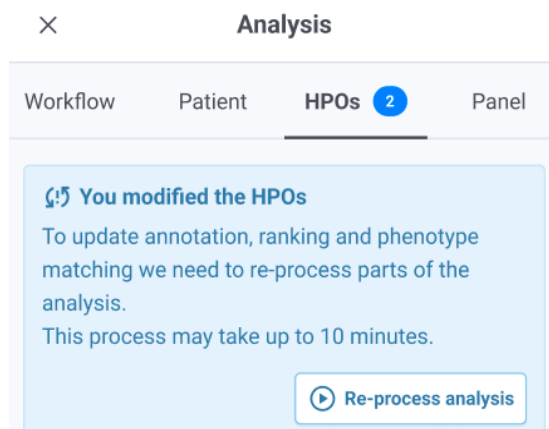


9. ábra: HPO-kivonatok kivonása a DiagAI segítségével az Elemzési fiók HPO-nézetéből

Amikor HPO-kat adnak hozzá vagy módosítanak ebből a nézetből, megjelenik egy kék sáv, amely azt javasolja, hogy az elemzést újból futtassák az új HPO-kkal.

Az „Re-process analysis” (Elemzés újrafeldolgozása) kiválasztásával a felhasználó frissítheti a DiagAI pontszámot és a variánsok osztályozását (rövid lista vagy SmartPick) az új HPO-knak megfelelően.

Ez az újrafeldolgozási lépés néhány perc befagyasztja a variáns táblázatot, hogy frissítse a variánsok osztályozását és a DiagAI oszlopot.

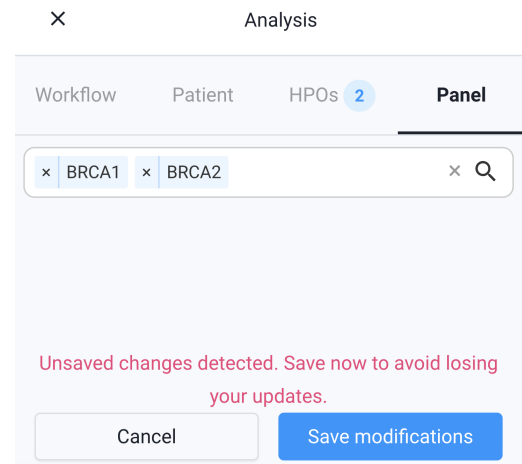


Panel modális nézet

Ez a nézet minden munkakészletben elérhető, kivéve a CNV-elemzési munkakészleteket (CNVExome, CNVCapture és SomaCNVCapture).

Hozzáférést biztosít a „Korlátozott panelek” funkcióhoz, amely lehetővé teszi az elemzés korlátozását és lezárását a kiválasztott génekre, *in silico* panel módjára.

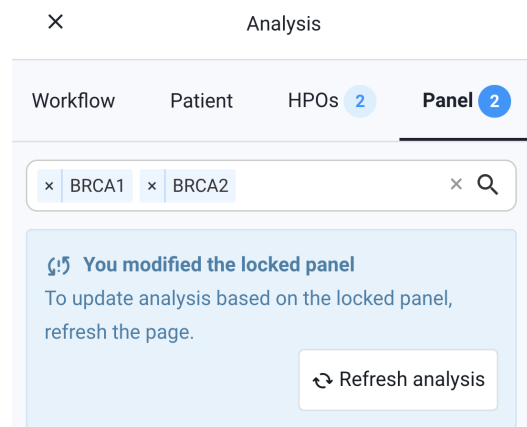
Ehhez a felhasználó egy legördülő menüből kiválaszthat egy vagy több génlistát a korábban importáltak közül (lásd a **Gének** bekezdést a **Felhasználói paraméterek kezelése** részben). A kiválasztott panelek „Módosítások mentése” gombbal történő mentésével a teljes elemzésre szűrő kerül alkalmazásra a kiválasztott génpanel(ek) szerint.



A korlátozott panelek kiválaszthatók az elemzés elindításakor (lásd az **Új elemzés elindítása** részt) vagy az elemzés után a Panel nézetben.

Génpanelek hozzáadásakor vagy módosításakor egy kék sáv figyelmezteti a felhasználót a változásra („Módosította a zárolt panelt”), és javasolja az elemzés frissítését az új panelekkel az „Elemzés frissítése” funkcióval.

Az „Elemzés frissítése” gombra kattintva a felhasználó úgy dönt, hogy a variánsok táblázatát, a CNV-k fület (ha van ilyen) és a GeneCov fület az új panelnek megfelelően frissíti.



13.1.1.4. Az értékelések kezelésére szolgáló oldalsó panel

A panel  **Selection** (Panel-értékelések) bármely fülről elérhető az elemzésen belül. Lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy megtekintse a VKB-ben a jelenlegi elemzéshez megjegyzett kis variánsokat és CNV-ket, JSON fájlt hozzon létre („Fájl létrehozása”) és klinikai jelentést szerkesszen („Jelentés létrehozása”).

A VKB-ben validált CNV-k szintén elérhetők ebben a szakaszban, de csak az exom-, genom- és CGH-mikroarray-elemzésekből származó CNV-k esetében.

A VKB-ben validált kis variánsok a  logóval vannak megkülönböztetve, míg a CNV-k a  logóval és a „gain” (növekedés) vagy „loss” (vesztés) szavakkal vannak jelölve.

×

Selection 3

↓ Generate file

☒ Generate report

Variants

✖ SLC25A22
5 NM_001191061.2 | chr11:g.792146_792147del
The frameshift variant c.813_814del (p.Ala272GlnfsTer144) in the gene SLC25A22 (NM_001191061.2) is not found in control...

✖ SLC25A22
5 NM_001191061.2 | chr11:g.792142C>T
The missense variant c.818G>A (p. (Arg273Lys)) in the gene SLC25A22 (NM_001191061.2) is extremely rare, with onl...

CNVs

↕ 6q14.3 Loss
4 103.25kb | SNX14, SYNCRIP

13.1.2. Az elemzési eredmények áttekintése a Dashboard (Műszerfal) fülön

Egyes munkakészletek esetében a felhasználók számára elérhető egy „Dashboard” fül, amely összefoglalja az összes eredményt és minőség-ellenőrzési mutatót, és alapértelmezés szerint megjelenik az elemzés megnyitásakor. A „Dashboard” fül több szakaszban nyújt áttekintést az elemzési eredményekről. A rendelkezésre álló szakaszok a munkakészlet típusától függően változnak. Ez a fül a SomaCGP, SomaVar Tertiary és SomaLBx esetében érhető el.

Beteg. Ez a szakasz összefoglalja a minta metaadatait: minta neve (*Mintaazonosító*), nem és patológiai indikáció (*Indikáció*).

Minőség-ellenőrzés. Ez a szakasz a minta és a szekvenálás minőségével kapcsolatos több fontos mutatószámot tartalmaz:

- A tumor tisztasága,
- Minta ploidia,
- a 30-nál nagyobb vagy azzal egyenlő minőségű bázisok százalékos aránya (% Q30 bázisok),
- a vizsgált régiók átlagos lefedettsége (ROI átlagos lefedettség) az UMI-feldolgozás előtt és után,
- a 200X-nál nagyobb lefedettségű érdeklődési területek százalékos aránya (ROI > 200X) az UMI-feldolgozás előtt és után.

Jelek. A jelekről szóló szakasz a TMB, MSI és HRD elemzések legfontosabb adatait mutatja be:

- TMB (tumor mutációs terhelés) számítása: mutációk száma/Mb.
- Mikroszatellit instabilitás: az instabil helyek százalékos aránya.
- HRD státusz (homológ rekombinációs deficit)

A TMB és MSI pontszámok státusza a felhasználó által az egyes pontszámok alatt található legördülő menüből választható ki.

Kiválasztás. Ez a szakasz a VKB adatbázisban az aktuális elemzéshez értékelt variánsokat jeleníti meg.

A SeqOne javaslata. Az elemzés során észlelt genomikus változások klinikailag releváns variánsok rövidített listájaként jelennek meg. A variánsok akkor kerülnek kiválasztásra, ha ComPerMed osztályuk 5, vagy ha a beteg indikációjának megfelelő Tier I állításuk van, vagy ha a jelzéssel kapcsolatos kísérleti terápiákra vonatkozó Tier II állításuk van, vagy ha más indikációra vonatkozó Tier I állításuk van. A felhasználó az „Add” (Hozzáadás) gombra kattintva hozzáadhat variánsokat ebből a kategóriából a Selection (Kiválasztás) szakaszhoz.

A JSON fájl a „JSON fájl generálása” gombra kattintva hozható létre, és a „Dashboard” oldalon található összes információt tartalmazza.

13.1.3. Részletes lefedettség exonok szerint

A GeneCov fülön a felhasználók megtekinthetik az elemzésben szereplő gének lefedettségi arányát minden exon esetében, függetlenül attól, hogy génpanelről vagy exomról van szó.

Módszertan

Ez a modul összehasonlítja a felhasználói manifesztet a panelben vagy az exomban szereplő összes gén RefSeq annotációival, mindkét oldalon 10 bp-t megtartva a splice junctionok lefedése érdekében, majd a mosdepth eszközzel kiszámítja az összehasonlításban szereplő minden bázis lefedettségi mélységét.

Különböző küszöbértékeket állítanak be annak érdekében, hogy minden exonhoz státuszt rendeljenek (lefedett, figyelmeztetés, sikertelen) a lefedettségi küszöbértékek alatti bázisok százalékos arány alapján.

Az állapotot az exon bázisborításából határozzák meg, beleértve a szomszédos 10 bp-t is. UMI-k használata esetén a lefedettséget a duplikációk eltávolítása után számolják ki.

A különböző típusú elemzésekre alkalmazandó küszöbértékeket az alábbi táblázat részletezi*:

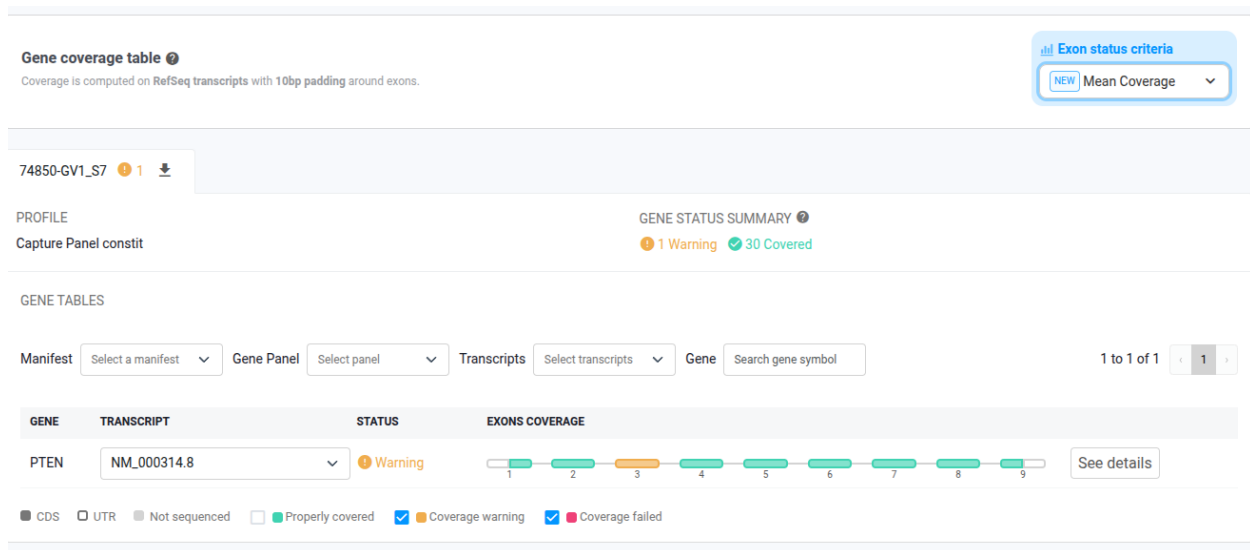
	GermlineVar /Germline Family/GermVar/GermVar Family				SomaVar		SomaRNA		SomaVar LF		SomaCGP	
	Panel		Exome		Panel		Panel		Panel		Panel	
	Figyelmeztetés	Sikertelen	Figyelmeztetés	Sikertelen	Figyelmeztetés	Sikertelen	Figyelmeztetés	Sikertelen	Figyelmeztetés	Sikertelen	Figyelmeztetés	Sikertelen
Rögzítés	Cov. 100x < 100%	Fed. 30x < 100%	30x lefedettség < 100%	Fedezt 10x < 100%	Fedezt 500x <100%	Fed. 200x <100%	Fedezt 200x <100%	Fed. 50x <100%	5000x lefedettség <100%	2500x <100%	Fedezt 100x < 100%	Fedezt 50x < 100%
Amplicon	Cov. 100x < 100%	Cov. 30x < 100%			Cov. 1000x < 100%	Fedezt 500x < 100%	Fedezt 200x <100%	Cov. 50x <100%				

3. táblázat: A Gene Coverage modul lefedettségi küszöbértékei az elemzés típusának megfelelően.

*Ha a felhasználó előre megadott egyéni minőség-ellenőrzési mutatókat a projektparaméterekből, akkor ezeket a GeneCov fülön alkalmazzák (lásd az **Alapértelmezett projekt minőség-ellenőrzési mutatók konfigurálása** című részt).

Megtekintés és értelmezés

Minden gén grafikusan megjeleníthető, és a génlefedettség eredményei gének, in silico panelek és transzkriptlisták alapján szűrhetők. A célzott exonok a fent leírt küszöbértékeknek megfelelően zöld (*lefedett*), narancssárga (*figyelmeztetés*) vagy piros (*hibás*) színnel jelölhetők.



10. ábra: A GeneCov fül részletei

Szűrési lehetőségek

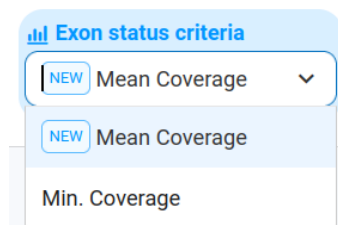
A szűrőmenü segítségével a következőket teheti:

- a megjelenítést egy korábban a felületbe importált .bed fájl segítségével a régiók egy részhalmazára korlátozni a „Manifest” szűrő segítségével,
- a „Gene Panel” szűrő segítségével génlistát alkalmazni,
- a „Transcripts” szűrő segítségével transzkriptumok listáját alkalmazni,
- egy adott gén keresése a „Gene” szűrő segítségével.

Fedezet számítási módszerek

A felhasználó a lap jobb felső sarkában található „Exon status criteria” legördülő menüből kiválaszthatja az alkalmazni kívánt lefedettség-számítási módszert:

1. **Átlagos lefedettség** (alapértelmezett): Az egész exon átlagos lefedettségi mélységét használja a lefedettségi állapot meghatározásához.
2. **Minimális lefedettség**: A meghatározott lefedettségi küszöbértéket elérő bázisok minimális hányadát használja. Ez biztosítja, hogy a bázisok egy bizonyos százaléka legalább a minimálisan szükséges lefedettségi mélységet elérje.



A "Gene status criteria" legördülő menü lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy ezeket a számítási módszereket génszinten alkalmazzák:

- **Mean coverage (default):** A gén összes exonjára vonatkozó átlagos lefedettségi mélységet használja a lefedettségi állapot meghatározásához.
- **Worst exon status:** A gén lefedettségi állapotát a legrosszabbul teljesítő exon alapján határozza meg. Ha bármelyik exon nem éri el a lefedettségi küszöböt, a gén nem lefedettnek minősül. A korábbi verziókban ez volt az egyetlen támogatott módszer.

Megjelenített adatok

Azok az exonok, amelyek nem vagy csak részben vannak lefedve a tervezés során (< 80% átfedés a manifeszt intervallum és az exon RefSeq határai között), nem célzottak minősülnek. Ezek az exonok szürkével (Nem szekvenálva) jelennek meg a grafikonon.

Az egyes gének részletes nézetében a „Részletek megtekintése” gombra kattintva megjeleníthetők az exon lefedettségi mutatói: átlagos lefedettség, medián, az egyes régiók 10x, 30x, 50x, 100x, 200x, 300x és 500x lefedettségének százalékos aránya.

Minden exon esetében egy IGV ablak lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy részletesebben megtekinthessék a szekvencia lefedettségét és illesztését.

GeneCov adatok exportálása

A teljes lefedettségi elemzés adatai sample_genecov.v2.tsv.gz fájlban érhetők el, amely az elemzés Fájlok fülén található.

A GeneCov fülről a felhasználó a lefedettségi számítási módszer (átlagos lefedettség vagy minimális lefedettség) szerint exportálhatja a lefedettségi elemzést a minta fül bal felső sarkában található minta neve

melletti  ikonra kattintva.

Download genes from S1_DNA as .tsv file



Genes status

☒ Failed ☒ Warnings ☐ Covered

Transcripts

☒ Canonical ☐ All

Close

Download

A felhasználó kiválaszthatja, hogy az adatokat a gén lefedettségi státusza (Failed, Warning, Covered) szerint exportálja, és csak a kanonikus transzkriptumot (Canonical) vagy az összes rendelkezésre álló transzkriptumot (All) exportálja, mielőtt a Download gombra kattintva letölti a kívánt fájlt.

Az adatok .tsv fájlként kerülnek exportálásra, amely a következő oszlopokat tartalmazza:

- Gén (gene_symbol),
- Génszám a HGNC szerint (gene_id),
- Kanonikus transzkript (is_canonical_transcript),
- Transzkriptum státusza (transcript_status)
- Exon (exon_number)
- CDS vagy UTR exon típus (exon_type)
- Exon fedett vagy fedetlen státusza (exon_status)
- Manifest által lefedett vagy nem lefedett régió (cél)
- Genomikus pozíció (interval_id)
- Kromoszóma száma (chr)
- Kezdő pozíció (start)
- Végpozíció (end)
- Előre vagy hátra irányuló szál (strand)
- % lefedettség 1, 10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 500 és 1000X esetén (cov_)
- Átlagos lefedettség (cov_avg)
- Median lefedettség (cov_med)

13.1.4. Kis variánsok

Módszertan

A kis variánsok észlelését több eszköz kombinációja végzi, amelyek munkakészletenként eltérőek lehetnek.

Akár exom-, akár génpanel-elemzésről van szó, a variánsok azonosítását a projekthez társított manifeszt (BED formátumban) határozza meg, amely tartalmazza a vizsgált régiók intervallumait és az ezekre a régiókra alkalmazott kitöltést (lásd a **Projekt létrehozása** című részt).

Ezenkívül a variánsok azonosításakor figyelembe veszik a humán genomra (GRCh37 vagy GRCh38 verzió) végzett olvasások illesztési minőségét. Az úgynevezett „MAPQ0” olvasásokat, amelyek illesztési (mapping) minősége 0, mert a genom több helyén illeszkednek, nem veszik figyelembe a szomatikus elemzési munkakészletek variánsainak azonosításakor. A „Germline” elemzésekben a MAPQ0 olvasmányokat figyelembe veszik a variánsok felhívásakor, ha a projekt létrehozásakor a Low-Quality Mapping Region (Alacsony minőségű leképezési régió) metaadatok alatt megadnak egy manifesztumot, amely meghatározza az alacsony minőségű illesztési régiókat. A MAPQ0 olvasmányokból észlelt variánsokat a variánsok táblázatában a CAL (Caller) oszlopban látható „_mapq0” tooltip jelöli.

SNVs / indels. SNV-k és indelek felismerése:

- A GermlineVar (exome), GermlineFamily (exome), SomaRNA és SomaVar LF munkakészletek kizárólagos variáns-megjelölőjeként a Freebayes¹ programot használják. Az alacsonyabb kimutatási küszöbértékek a következők:
 - VAF $\geq$ 10% a GermlineVar-ban az exom esetében,
 - VAF $\geq$ 5% a GermlineVar-ban a génpanelek esetében,
 - VAF $\geq$ 1% a SomaRNA-ban,
 - VAF $\geq$ 0,1% a SomaVar LF-ben,
- A GermlineVar munkakörben (panel) a GATK HaplotypeCaller² kíséri.
- Szomatikus megfelelője, a Mutect2³ a Freebayes mellett a SomaVar, SomaHemato és SomaCGP munkakészletekben is használatos. A minimális detektálási küszöbérték VAF $\geq$ 1% ezeknek a két hívónak a SomaVar-ban.
- A Sentieon⁴ -t a GermVar, GermVar Family és SomaLBx munkakörök fő variánsazonosítójaként használják.
- A Clair3⁵ -t a GermlineVarLR munkakör az egyetlen variánsazonosítóként használja.

¹ <https://github.com/freebayes/freebayes>

² <https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037225632-HaplotypeCaller>

³ <https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037593851-Mutect2>

⁴ <https://github.com/Sentieon>

⁵ <https://github.com/HKU-BAL/Clair3>

A GermVar és a GermVar Family elemzések a Sentieon bioinformatikai összetevőkre támaszkodnak a kulcsfontosságú másodlagos elemzési lépésekben. Különösen:

- Az illesztést a Sentieon optimalizált BWA-MEM2 megvalósításával végzik, és a duplikált leolvasásokat megjelölik.
- A csírvonal-hívást (SNVs/Indels) a Sentieon DNAScope⁶ segítségével végzik.
- A Sentieon TNScope⁷ alacsony VAF mozaikos variánsok detektálására használható (a GermVar konfigurációjától függően).

Megjegyzés az alacsony leképezhetőségű (MAPQ0) régiókkal kapcsolatban: a nagymértékben homológ régiókban (pl. SMN1/SMN2) a variánsokat a hívó gépi tanulási szűrése kiszűrheti. Szükség esetén a SeqOne egy opcionális MAPQ0 modul (alacsony minőségű régiók modulja) biztosít, amely a Freebayes-en alapul, adaptált küszöbértékekkel az érzékenység növelése érdekében a felhasználó által meghatározott régiókban.

A SomaLBx elemzések a Sentieon bioinformatikai összetevőkre támaszkodnak a folyékony biopszia kulcsfontosságú másodlagos elemzési lépéseiben. Különösen:

- A leolvasások illesztését a Sentieon (BWA-MEM) segítségével végzik, és a folyamat magában foglalja a Sentieon-alapú UMI feldolgozást/konszenzust a nagy érzékenységű ctDNA munkafolyamatok támogatására.
- A rövid variánsok (SNVs/Indels) szomatikus hívását a Sentieon TNScope⁷ segítségével végzik csak daganatos (tumor-only) módban, nagyon alacsony allélfrakció támogatással (VAF $\geq 0,1\%$ a konfigurációtól függően).
- Megjegyzés: a variáns genotípusok alapértelmezés szerint heterozigótaként jelennek meg a SomaLBx SNV/indel eredményeiben, mivel a Sentieon TNScope nem végez genotípus-előrejelzést.

SVs - Structural Variants. A szekvenálási olvasmány hosszához közeli vagy annál nagyobb hosszúságú beillesztéseket és törléseket a GermlineVar (panel/exome), SomaVar, SomaVar LF SomaHemato és SomaCGP munkakörökben az SV-azonosító GRIDSS⁸ segítségével észlelik. Ezeket az eseményeket a GermVar és GermVar Family munkakörökben az SV-azonosító Delly⁹ segítségével észlelik. A szomatikus munkakörökben csak a 300 bp-nál kisebb beillesztéseket és törléseket észlelik, míg a GermlineVar munkakörben (a 2.0-ás vagy annál újabb verziókban), a GermVar és a GermVar Family munkakörökben (a 3.5-ös vagy annál újabb verziókban) 10 kb-os korlátot alkalmaznak. A GRIDSS által észlelt variánsokat a VAF-tól függetlenül észlelik.

⁶ <https://github.com/Sentieon/sentieon-dnascopy-ml>

⁷ <https://github.com/Genomic-Medicine-Linkoping/TNScope>

⁸ <https://github.com/PapenfussLab/gridss>

⁹ <https://github.com/dellytools/delly>

FLT3-ITD. Az FLT3 gén belső tandem duplikációinak (FLT3-ITD) specifikus detektáló modulja csak a SomaVar és a SomaHemato worksets-ben érhető el, a v2.2-es verziótól kezdve. Ez a modul a *FiLT3r*¹⁰ eszközön alapul.

Alu Insertions. Végül a SeqOne egy modult is kifejlesztett a transzpozíciós elemek (*AluMEI*), például az Alu elemek beillesztéseinek kimutatására. Ezt a GermlineVar (panel/exome), GermlineFamily (panel/exome), GermVar (panel/exome/genome), GermVar Family (panel/exome/genome), SomaHemato és SomaVar munkakészletek használják. Az *AluMEI* által észlelt variánsokra nem alkalmaznak alsó VAF küszöbértéket.

A *Freebayes*, *HaplotypeCaller* (vagy *Mutect2*) és *FiLT3r* caller variánsok kombinációja az elemzés *final.vcf.gz* fájljában érhető el. A *GRIDSS*, *FiLT3r* vagy *AluMEI* specifikus variánsok a megfelelő VCF fájlokban (**gridss.vcf.gz**, **filt3r.vcf.gz** és **variants.alumei.vcf.gz**) érhetők el, amelyek az elemzés *Files* (Fájlok) füléről is letölthetők.

A *FiLT3r* konkrét esetében:

- A *Freebayes* és *Mutect2* közös *FiLT3r* variánsai az elemzés végleges VCF fájljában (**final.vcf.gz**) találhatóak,
- a *FiLT3r*-re jellemző variánsok, valamint a *FiLT3r* és a *GRIDSS* közös variánsai a *FiLT3r* VCF-ben (**filt3r.vcf.gz**) találhatóak.

A SeqOne által kifejlesztett két további modul lehetővé teszi:

- A multinukleotid variánsok (MNV-k) megtartása, amelyek kódolnak és egyetlen kodonra korlátozódnak a delins-szerű variánsok lebontása során.
- A *Freebayes* és a *GATK* (*Kraf* eszköz) által észlelt indel és delin variánsok allélfrekvenciájának újrapályázása.

Ez a két modul csak a GermlineVar (panel/exome), SomaVar, SomaRNA és SomaVar LF munkakészleteket érinti.

A *Kraf* egyetlen k-mer stratégiát alkalmaz, igazítás nélkül. Az indelek és delinek újrapályázott allélfrekvenciája csak akkor marad meg, ha magasabb, mint a variáns kezdeti allélfrekvenciája. A variánsokat ezután főként a *Variant Effect Predictor*¹¹ (VEP) eszközzel annotálják, és további információkat adnak hozzá a következő adatbázisokból:

- ClinVar
- OMIM (kereskedelmi változat) + PanelApp Australia + PanelApp England
- CKB
- dbSNP
- COSMIC (kereskedelmi változat)
- GnomAD (exom + genom adatok)

¹⁰ <https://gitlab.univ-lille.fr/filt3r/filt3r>

¹¹ <https://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/index.html>

- Dfam
- DGV
- LOVD

Ezenkívül a következő *in silico* pontszámok is rendelkezésre állnak:

- Splicing pontszámok (*MaxEntScan, GeneSplicer, dbSCSNV*)
- Konzervációs pontszám (*GERP++, PhastCons100way, PhastCons20way, PhyloP100way Vertebrate, PhyloP20way Mammalian, SiPhy*)
- Funkcionális előrejelzések (*REVEL, DANN, FATHMM, FATHMM-MKL, LRT, MetaLR, MetaSVM, MutationAssessor, MutationTaster 2, PROVEAN, SIFT, PLI*)

Vizualizálás és értelmezés

A Variánsok () fülön megtekintheti, szűrheti és megjegyzéseket fűzhet az elemzés során kapott variánsokhoz. Ezek táblázat formájában jelennek meg, minden sor egy-egy variánsnak felel meg. A szűrés után kiválasztott variánsok száma (kiválasztott variánsok) és az észlelt variánsok teljes száma (variánsok teljes száma) a variánsok táblázat fejlécének jobb felső sarkában jelenik meg a következő ikonnal:  9/22 . Az oldal alján található lapozás segítségével navigálhat az eredmények egyik oldaláról a következőre. Ha az elemzés korlátozott panelt használ, a táblázat fejlécében a korlátozott panelben található variánsok teljes száma is megjelenik (a korlátozott panelben található variánsok teljes száma) .

A navigációt a billentyűzeten található ← és → gombokkal lehet megkönnyíteni.

Alapértelmezés szerint a táblázatban több leíró oszlop is megjelenik. A felhasználók a  gombra kattintva TSV fájlként exportálhatják a táblázatot.

Minden variánshoz több transzkriptum is rendelkezésre állhat, amelyek száma az egyes sorok bal oldalán jelenik meg. A variánsok a RefSeq transzkriptumokon vannak megjegyzéssel ellátva, kivéve a mitokondriális variánsokat, amelyek az *Ensembl-en* vannak megjegyzéssel ellátva.

A MANE Select és a MANE Clinical Plus transzkriptumok egy ikonnal

vannak jelölve,  vagy  , amelyhez egy tooltip is tartozik.

TRANSCRIPT	HEVISC
MANE Select transcript	
NM_005962.5	c.536T>G p.V179G
NM_015252.5	c.-296+2T>G
MANE Plus Clinical transcript	
NM_000132.4	c.5375T>G p.V1792G

Ugyanazon variáns esetében, a mitokondriális variánsok kivételével, a transzkriptumok az alábbi sorrendben vannak rendezve:

- hatás ['magas' > 'közepes' > 'alacsony' > 'módosító']
- a transzkriptumok típusa ['NM', 'XM', 'NR', 'XR'] (RefSeq transzkriptumok esetében)
- MANE transzkriptum típus [Mane Select > MANE Clinical Plus > nem MANE]
- alfanumerikus sorrend

A mitokondriális variánsok esetében a transzkriptumok a következő sorrendben vannak rendezve:

- hatás ['magas' > 'közepes' > 'alacsony' > 'módosító']
- ha a hatás 'módosító':
 - a „non_coding_transcript_exon_variant” hatás
 - a [fehérje kódoló > Mt_rRNA > Mt_tRNA] biotípus
- alfanumerikus sorrend

DiagAI. Ez az oszlop a gépi tanulást alkalmazó DiagAI csomag alapján 0 és 100 közötti pontszámot mutat. A DiagAI pontszám négy összetevőn alapul:

- Az UP² algoritmus, amely megjósolja a variáns patogenitását
- A PhenoGenius mátrix, amely értékeli a gén és a beteg HPO-i közötti egyezést (ha ezeket az elemzés során bevitték)
- A megfigyelt genotípus és a GenCC, OMIM és PanelApp (Ausztrália és England) adatbázisokban leírt betegség átviteli módja közötti egyezés.
- A variáns minősége

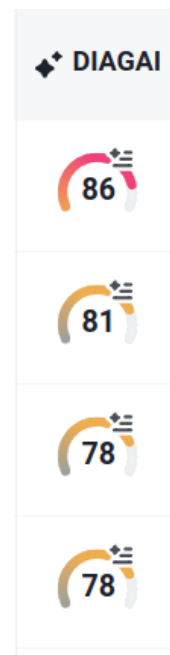
Minél közelebb van a pontszám a 100-hoz, annál inkább patogénnek és diagnosztikai szempontból érdekesnek ítélik a variánst. Minél közelebb van a 0-hoz, annál inkább jóindulatúnak ítélik a variánst.

Két ikon is felhívja a figyelmet bizonyos érdekes variánsokra:

- A „” ikon azt jelenti, hogy a variáns nagyobb valószínűséggel a betegség oka (AI Smart Pick).
- Az „” ikon azt jelzi, hogy a variáns szerepel azon variánsok rövid listáján, amelyek nagy valószínűséggel a beteg betegségének okai.

A HPO-kifejezések az elemzés elindítása előtt bevihetők a minta metaadatainak szerkesztésével (lásd a **Minta metaadatai** szakaszt). Az értelmezés során is szerkeszthetők az elemzés oldalsó paneljén található HPO-k modális nézetével (lásd a **HPO-k modális nézete** szakaszt). Ebben az esetben a felhasználó a „Re-process with new HPOs” (Új HPO-kkal újrafeldolgozás) funkcióval újrafeldolgozhatja a DiagAI pontszámot és a variánsok osztályozását (rövid lista vagy SmartPick) az új HPO-knak megfelelően.

Ha a felhasználó rákattint a DiagAI pontszám ikonra, a variáns oldal közvetlenül a DiagAI fülön nyílik meg, ahol a pontszám részletes leírása található (lásd a DiagAI a Variáns oldal szakaszban alább).

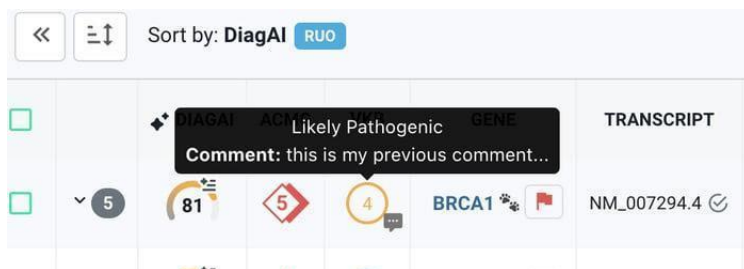


ACMG. Az egyes variánsok patogenitási osztályozását egy félig automatizált folyamat részeként számolják ki az *American College of Medical Genetics and Genomics* (Amerikai Orvosi Genetikai és Genomikai Kollégium) ajánlásai szerint. A felhasználók a variáns oldalon egy erre a célra szolgáló fülön módosíthatják az osztályozást, amelyet aztán a variáns végső értékelésének generálásához használnak.

ComPerMed. Az egyes variánsok patogenitási besorolását egy félig automatizált folyamat részeként számítják ki a belga ComPerMed szakértői bizottság (Személyre szabott Orvostudományi Bizottság) ajánlásai alapján. A felhasználók a variáns oldalon található külön fülön érhetik el a besorolásról szóló részletes információkat.

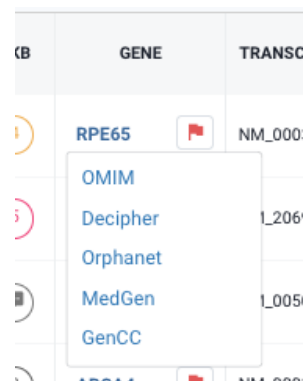
AMP. (SomaVar elemzés v1.8 vagy újabb verzió, csak SomaVar LF vagy SomaCGP). Ez az oszlop alapértelmezés szerint megjelenik a CKB-megjegyzéseket tartalmazó elemzésekben, és minden variáns AMP-szintjét mutatja, ha az rendelkezésre áll (I. vagy II. szint). A megjelenített AMP-szint az összes típusra vonatkozó legjobb klinikai bizonyítékokon alapul, függetlenül a kiválasztott indikációtól.

VKB. A felhasználó által a korábbi elemzések során végzett értékelések a felhasználó tudásbázisában kerülnek tárolásra. Ez az értékelés a táblázat VKB oszlopában jelenik meg a variáns minden új előfordulása esetén. Egy tooltip gyorsan megjeleníti az értékelés alatt álló vagy korábban értékelt variánshoz tartozó osztályt és megjegyzést.



Gén. Génnevezés a [HGNC](#) és a kapcsolódó OMIM jelölés szerint:

- Piros jelölés: „OMIM gén fenotípusokkal és klinikai jellemzőkkel”,
- Piros kontúr jelölés: „OMIM gén fenotípusokkal, de klinikai jellemzők nélkül”,
- Piros pont: „OMIM gén fenotípusok és klinikai jellemzők **nélkül**”.



A PanelApp (Ausztrália) szerint imprinting géneknek ismert gének az  ikonnal vannak jelölve. A hozzá tartozó tooltip jelzi, hogy a gén anyai vagy apai expressziójú-e, ismeretlen-e, vagy több imprintingre utalnak-e.

A génnév melletti zászlóra kattintva közvetlenül az OMIM oldalra jut. A génnévre kattintva

megjelenik egy legördülő menü, amely linkeket tartalmaz az OMIM¹², a Decipher¹³, az Orphanet¹⁴, a MedGen¹⁵ és a GenCC¹⁶ adatbázisokhoz. Minden link közvetlenül a kiválasztott génnek megfelelő oldalra vezet.

Az OMIM-hez és az adatbázisokhoz kapcsolódó információk csak a csírasejt-elemzésekhez érhetők el.

HGVSC. Ez az oszlop a variáns HGVS-annotációját tartalmazza a komplementer DNS-en (cDNS) és a fehérjén.

HGVSC
c.10580G>A p.R3527Q

Hatás. Ez az oszlop a variáns fehérjére gyakorolt hatását és a transzkriptre gyakorolt hatását írja le.

A hatást 4 szint szerint számolják:

- **Magas** (magas hatás, piros): a variáns nagy zavaró hatással van a fehérjére, valószínűleg fehérje csonkítást, funkcióvesztést okoz, vagy értelmetlen bomlást vált ki.
- **Közepes** (közepes hatás, sárga színnel): nem zavaró variáns, amely valószínűleg módosítja a fehérje hatékonyságát.
- **Alacsony** (alacsony hatás, szürke): a variáns feltehetően ártalmatlan, vagy nem valószínű, hogy módosítja a fehérje viselkedését.
- **Módosító** (módosító hatás, kék színnel): általában nem kódoló variánsok vagy nem kódoló régiókat vagy géneket érintő variánsok, amelyek esetében a jóslatok nehezek, vagy nincs bizonyíték a hatásra.

EFFECT
Moderate missense
Low splice polypyrimidine tract + 1
Moderate missense
Moderate missense
Moderate missense
Moderate missense

Minden variáns esetében több hatás is szerepelhet a transzkriptumra az Effect (Hatás) oszlopban. Ebben az esetben csak a VEP¹⁷ szerint legnagyobb következményű hatás jelenik meg, amelyet egy szám (pl. +2) követ a többi rendelkezésre álló hatás esetében. Ezek részletei a megfelelő tooltipben láthatók.

¹² <https://www.omim.org/>

¹³ <https://www.deciphergenomics.org/genes>

¹⁴ <https://www.orpha.net/fr/disease/gene>

¹⁵ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/medgen/>

¹⁶ <https://search.thegencc.org/>

¹⁷ http://www.ensembl.org/info/genome/variation/prediction/predicted_data.html

Átadás. Ez az oszlop a GenCC és OMIM adatbázisokban szereplő génekkel kapcsolatos betegségek átadásának módját jelzi. Színes jelölések segítségével gyorsan azonosíthatók az átadási minták a DiagAI előrejelzései alapján:

- „De Novo”
- „Összetett heterozigóta – igazolt”
- „Recesszív hom
- „Összetett Het – gyanított”

A De Novo, összetett heterozigóta – igazolt és recesszív homozigóta jelölések csak a családelemzésekben jelennek meg.

Szűrő segítségével kiválaszthatók az ezekkel a jelölésekkel ellátott variánsok (lásd a **Variánsok szűrése – Átadás és fenotípusok című részt**).

TRANSMISSION	
AD AR	CompHet Verified
Nail disorder, nonsyndromic ... +1	
AD	CompHet Suspected
Coffin-Siris syndrome 2	
AD	De Novo
Advanced sleep phase syndrome..	
AR	Recessive Hom
Advanced sleep phase syndrome..	
AD	
Tarsal-carnal coalition syndrome +3	

Transmission
AR, AD

Leber congenital amaurosis 9
OMIM:7638289

AD, AR | OMIM
AD 3 2 GenCC
AR 3 GenCC

Leber congenital amaurosis 2
OMIM:0019200

AD, AR | OMIM
AR 3 GenCC

Leber congenital amaurosis 5
MONDO:739002

AR 3 GenCC

Retinis pigmentosa
OMIM:10939229

AD, AR | OMIM

Definitive to Moderate
Supportive
Limited to Unknown

Az oszlopban található átviteli módok linkjeire kattintva megnyílik egy felugró ablak, ahol a felhasználók megtalálhatják a betegségeket azok nevével és az adatbázisokhoz (OMIM, MONDO – ha az OMIM nem elérhető – vagy GenCC) vezető linkekkel együtt.

A betegségek egy meghatározott hierarchiában vannak rendezve: az OMIM-ben és a GenCC-ben egyaránt megtalálhatóak jelennek meg először, őket követik az OMIM-ben, majd a GenCC-ben szereplő

bejegyzések.

Minden bejegyzés színekkel jelölt címkéket tartalmaz: az OMIM-címkék zöld szegéllyel rendelkeznek, míg a GenCC-címkék a közlekedési lámpák színeit (zöld/sárga/piros) használják a bizonyítékok erősségének jelzésére:

- Zöld: Határozott + Erős + Mérsékelt
- Sárga: Támogató

- Piros: Korlátozott, Állati, Ismeretlen

Klinikai bizonyítékok. (SomaVar analysis v1.8 vagy újabb, csak SomaVar LF vagy SomaCGP). Ez az oszlop alapértelmezés szerint megjelenik a CKB-megjegyzéseket tartalmazó elemzésekben. Három aloszlopra van felosztva, amelyek mindegyike tartalmazza az adott típusú bizonyítékok teljes számát: A (cselekvőképesség), D (diagnózis) és P (prognózis). Az A oszlopban a szenzitív (bal oldali) és rezisztens (jobb oldali) terápiás állítások száma is megjelenik jelölőként.

CLINICAL EVIDENCES		
A	D	P
81 81 8	0	0
54 53 2	0	0
54 53 2	0	0

Az oszlopok értékei színkóddal vannak jelölve:

- Az ellenállás, ha megtalálható (> 0 állítás), mindig piros színnel jelenik meg, függetlenül a jelzéstől, egyéb esetben szürkével.
- Az érzékenység csak akkor jelenik meg zöld színnel, ha a megfelelő indikációt választották ki, egyéb esetben szürkével.

Ha legalább egy ilyen típusú bizonyíték egyezik a variánsok táblázatában (Indikáció panel) kiválasztott indikációval, akkor az indikáció címke előtti tooltipben egy pipa jelenik meg. Ha nem található egyezés, a címke nem jelenik meg.

Fenotípusok. Ez az oszlop, amely a Germline projektekben elérhető, lehetővé teszi egy gén és a HPO kifejezések összekapcsolását a PhenoGenius¹⁸ mátrix segítségével. Ha a HPO kifejezések kapcsolódnak a mintához, akkor a gén és a fenotípus közötti legnagyobb százalékos egyezés jelenik meg, a génhez kapcsolódó kifejezések arányával együtt. Ha nincs olyan gén, amely egyezne a bevitt HPO-kkal, az oszlop a „nincs egyezés” üzenetet jeleníti meg; ha a mintához nincs HPO-kifejezés, az oszlop a „lásd HPO” üzenetet jeleníti meg. Mindkét esetben a gén ismert kifejezései megjelennek a kapcsolódó felugró ablakban.

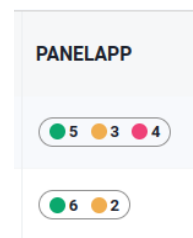
The image shows two overlapping windows from the PhenoGenius application. The top window, titled 'Phenogenius', displays 'Patient phenotypes matching P3H1' with a green checkmark. It lists five HPO terms with their matching percentages: 'Short ribs' (48%), 'Short long bone' (47%), 'Lambdoidal craniosynostosis' (0%), 'Vitreous floaters' (0%), and 'Hypoplastic vertebral bodies' (0%). Below this, it shows 'Other phenotypes described for P3H1' including 'Abnormal bone collagen fibril morphology', 'Abnormal cartilage collagen', 'Type 1 collagen overmodification', 'Decreased calvarial ossification', and 'Femoral bowing'. The bottom window, also titled 'Phenogenius', shows 'Known phenotypes described for SLC25A22' with terms like 'Epileptic encephalopathy', 'Encephalopathy', 'EEG with burst suppression', 'Focal myoclonic seizure', and 'EEG with spike-wave complexes'. In the background, a table with columns 'Transcript', 'NA Mutation', 'AA Mutation', 'Impact', 'Effect', 'Transmission', and 'Phenotypes' is visible.

11. ábra: Információk megtekintése a PhenoGenius

¹⁸ Kevin Yaury et al., „A genetikai betegségek fenotípusos mintáinak tanulmányozása a tünetek kölcsönhatásának modellezésével”, *medRxiv*, p. 2022.07.29.22278181, janv. 2022, doi: 10.1101/2022.07.29.22278181.

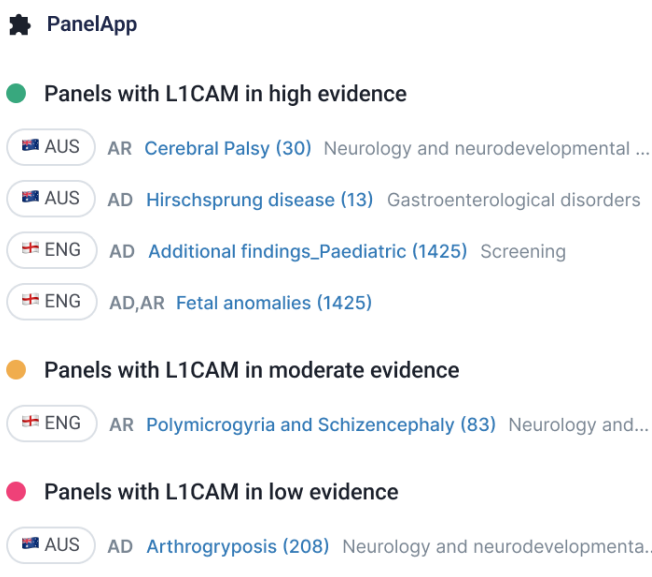
PanelApp. Ez az oszlop a *PanelApp Australia*¹⁹ és a *PanelApp England*²⁰ panel adatbázisokból származó annotációkat integrálja. A génhez kapcsolódó panelek számát jelzi, amelyeknél variánst észleltek, az alábbiakban leírt osztályozási szintnek megfelelően.

Ha egy gén nem található meg egy panelben, az oszlopban „N/A” jelenik meg.



A megjelenő ablakban megjelennek a gén/fenotípus összefüggés részletei, valamint a fenotípussal kapcsolatos átviteli mód, a fenotípussal kapcsolatos átviteli mód és az adatbázis, amelyből a panel származik, PanelApp Australia (**AUS**) vagy PanelApp England (**ENG**) (12. ábra).

Minden génhez egy vagy több panel tartozik, a gén és a fenotípus közötti összefüggés bizonyítékain alapuló háromszintű osztályozási rendszer szerint: magas bizonyíték **zöld**, közepes bizonyíték **sárga**, alacsony bizonyíték **piros**.

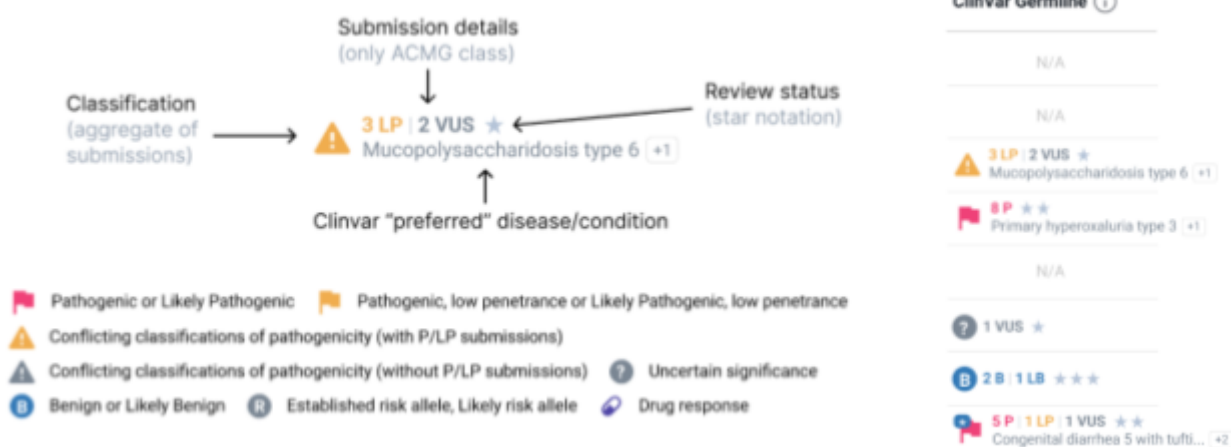


12. ábra: A PanelApp információk vizualizálása.

¹⁹ <https://panelapp-aus.org>

²⁰ <https://panelapp.genomicsengland.co.uk/>

ClinVar Germline. Ez az oszlop a ClinVar-ból az elemzés során kivont információkat jeleníti meg. Számos információt tartalmaz, beleértve a patogenitási osztályt, az egyes ACMG-osztályokhoz benyújtott adatok részleteit és számát, a felülvizsgálati státuszt és a ClinVar által preferált állapotot/betegséget. A variánsok táblázatában található cellára kattintva a felhasználó a megfelelő ClinVar oldalra kerül.



További információk: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/review_status/

GnomAD. Ez az oszlop a GnomAD adatbázisból 6 elemet jelenít meg egy adott variánusra vonatkozóan a populációban: az allélfrekvenciát (AF), az allélszámot (AC), a homozigóta számot (HOM), a hemizigóták száma (HEM), a fő allélgyakoriság (MAF) és a GRCh37 projektek esetében azt a GnomAD verziót, amelyben ez a variáns megtalálható (VER).

Az AF oszlopban megjelenő értékre kattintva a felhasználó átirányításra kerül a GnomAD adatbázis v4 verziójába, vagy ha ez nem lehetséges, akkor a v2 verziójába. Ha egy variáns nem szerepel az adatbázisban, akkor az ebben az oszlopban megjelenő érték N/A lesz.

GNOMAD				PROJ
	AC	HOM	VER	
e-1	47775	9503	v2	4 / 4

A VER oszlopban figyelmeztetés jelenik meg, ha ez a variáns szerepel a GnomAD-ban, de legalább az egyik adatkészlet (exom vagy genom) esetében nem felel meg az összes minőségi szűrőnek. Ebben az esetben a megjelenített értékek a variánshoz rendelkezésre álló értékekhez igazodnak, és a figyelmeztetést kiváltó szűrők megjelennek, valamint egy rövid üzenet, amely megemlíti

a problémás adatkészlet(ek)et.

UP² pontszám. Az -1 és 1 közötti UP² (Universal Pathogenicity Prediction) funkcionális predikciós pontszám gépi tanulási megközelítéssel három kategóriába sorolja a variánsok patogenitását: **P** (patogén: pontszám > 0,1), **VUS** (ismeretlen jelentőségű variáns: pontszám ≥ -0,1 és ≤ 0,1) vagy **B** (jóindulatú: pontszám < -0,1). Az UP² pontszám alapértelmezés szerint megjelenik a variánsok táblázatában, de a felhasználó letilthatja az UP² oszlopot az

oszlopkezelő panelen az „” ikonra kattintva.

CI-SpliceAI. Ez az oszlop a gépi tanulási megközelítéssel számított predikciós pontszámokat tartalmazza, amelyek a CI-SpliceAI²¹ módszerével azonosítják az alternatív splicingre hatást gyakorló variánsokat.

SpliceAI				
AG	DG	AL	DL	Link
0.01	0.02	0.62	0.84	↗
Position: -2bp				
0.01	0.22	0.01	0.09	↗
0.01	0.02	0.12	0.01	↗
0.01	0.62	0.02	0.01	↗
N/A	N/A	N/A	N/A	↗
Open variant in SpliceAI Lookup				
No splicing impact				
SpliceAI score was not significant (Delta score <0.2)				

A pontszámokat a következő kritériumoknak megfelelő variánsok egy részhalmazára számítják ki: VEP (splice_*) szerinti splice variánsok, amelyek GnomAD gyakorisága kisebb, mint 10⁻³ és amelyek megfelelnek a következő minőségi kritériumoknak (QA > 20, AO > 10, DP > 20).

Ha kiszámításra kerül, az oszlop 4 delta pontszámot ad az érintett variánsra az akceptor nyereség (AG), az akceptor veszteség (AL), a donor nyereség (DG) és a donor veszteség (DL) tekintetében.

A variáns delta pontszáma 0 és 1 között mozog, és annak a valószínűségnek felel meg, hogy a variáns módosítja a szplicinget. A delta pontszám küszöbértékekre színek kódokat alkalmazunk: **zöld** (>0,2 ; magas visszahívási arány), **sárga** (>0,5; ajánlott) és **piros** (> 0,8; magas pontosság). Ha a delta pontszám 0,2 alatt van, a pontszámot jelentéktelennek tekintjük. Az oszlopban ez esetben a „Nincs splicing hatása” felirat szerepel.

Minden variánshoz egy link található a megfelelő SpliceAI kereső²² felületre.

²¹ https://github.com/YStrauch/CI-SpliceAI__Annotation

²² <https://spliceailookup.broadinstitute.org/>

REVEL. A REVEL predikciós pontszám egy átfogó módszeren alapul, amely 13 különálló eszköz pontszámainak kombinációjával predikálja a missense variánsok patogenitását: MutPred, FATHMM v2.3, VEST 3.0, PolyPhen-2, SIFT, PROVEAN, MutationAssessor, MutationTaster, LRT, GERP++, SiPhy, phyloP és phastCons.

REVEL ⓘ

B

P

A pontszám 0 és 1 között változhat egy missense variáns esetében, ahol a magasabb pontszámok nagyobb valószínűséget jelentenek arra, hogy a variáns betegséget okoz. A következő küszöbértékek alkalmazandók: REVEL pontszám > 0,5 **P** (patogén) és REVEL pontszám < 0,5 **B** (jóindulatú) esetén. A pontszámot a felhasználó megjelenítheti a variánsok táblázatában, ha bejelöli a REVEL négyzetet a „Oszlopok” beillesztésnél, a „Funkcionális előrejelzés” részben.

ALM. Az AlphaMissense²³ predikciós pontszám az ALM oszlopban érhető el az Oszlopok beillesztésében, a Funkcionális predikció alatt. Az AlphaMissense egy predikciós modell, amely mélytanulással értékeli a missense variánsok patogenitását. A modell az AlphaFold szerkezeti predikcióin alapul, hogy javítsa pontosságát.

REVEL ⓘ **ALM** ⓘ

B

Likely Pathogenic score : 0.78

Az AlphaMissense integrálja az evolúciós konzervativitást és a szerkezeti kontextust, hogy értékelje a missense variánsok potenciális hatását a fehérje funkciójára.

A pontszám 0 és 1 között mozog, a magasabb értékek nagyobb valószínűséget jeleznek arra, hogy a variáns káros. Az alkalmazott küszöbértékek: ALM pontszám > 0,564 **P** (valószínűleg patogén) és ALM pontszám < 0,34 **B** (valószínűleg benignus) esetén. Egyéb esetekben (0,34 < ALM pontszám < 0,564) **VUS** (kétértelmű) jelölést kap.

Minta gyakorisága. Ez az oszlop minden variáns esetében megmutatja annak gyakoriságát a projektben (PROJECT aloszlop) és az entitás összes, hasonló metaadatokkal rendelkező projektjében (ALL aloszlop).

A projekt (PROJECT) mintavételi gyakorisága annak a minták számának felel meg, amelyekben a variáns kimutatható a projektben elemzett összes minta számához viszonyítva.

A minta gyakorisága ALL az elemzett minták százalékos arányát jelenti,

SAMPLE FREQ.	
PROJECT	ALL
2 / 13	7.41%
2 / 13	7.41%

²³ <https://alphamissense.hegelab.org/>

amelyekben a variáns megtalálható az entitáson, hasonló metaadat-projektekben. Az „ALL” oszlopban megjelenített értékre kattintva a felhasználó hozzáférhet a projektek nevéhez és a variáns előfordulási gyakoriságához, valamint az összes hasonló metaadat-projekt részleteihez („Minden projekt megjelenítése” opció).

Alapértelmezés szerint az ALL aloszlop el van rejtve a variáns táblázatban, de az oszlopkezelő panelen az x ikonra kattintva és a „Minta gyakorisága entitás (Entity)” gomb aktiválásával újra aktiválható.

Exon. Ez az oszlop a transzkriptumnak megfelelően a génben található exonok teljes számát, valamint a mutáció által érintett exonok számát törtszám formájában jelzi. Egy tooltip jelzi a variáns és a legközelebbi splicing hely közötti távolságot. Ha a variáns a splicing hely előtt található, az érték pozitív lesz, ha pedig utána, akkor negatív.

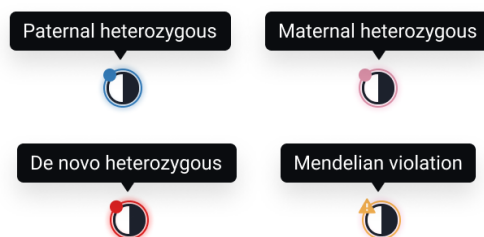
GT (Genotype). Ez az oszlop a variánsdetektáló programok által előre jelzett genotípust mutatja. A különböző lehetséges piktogramok leírása a **Variánsok szűrése** szakaszban található.

Trióelemzésben (GermlineFamily), ha a heterozigóta variáns eredete meghatározható, azt a következő színek jelzik:

- **rózsaszín** → anyai heterozigóta eredet
- **kék** → apai heterozigóta eredet
- **piros** → *De novo* heterozigóta variáns
- **narancssárga** → Mendel-törvény megsértése

Ha az átvitel nem határozható meg (pl. ha mindkét szülő heterozigóta), vagy homozigóta variánsok esetén, akkor nem alkalmaznak színt.

Patient				Father				Mother			
GT	VAF	QUAL	COV	GT	VAF	QUAL	COV	GT	VAF	QUAL	COV
	50.8%	34	61		N/A	N/A	82		44.6%	33	83
	53%	34	83		N/A	N/A	49		N/A	N/A	100
	46.9%	34	64		48.8%	33	84		N/A	N/A	86



13. ábra: A GermlineFamily átvitel alapján a heterozigóta genotípusokra alkalmazott színekód. A variánsok fázisba rendezése a GermVar Tertiary és GermVar Tertiary Family elemzésekhez elérhető az Oxford Nanopore Technologies szekvenálók VCF fájljaival. A variánsok fázisba rendezésekor a genotípus ikonok a következőképpen jelennek meg: . A pipa jelzi, hogy a variáns fázisba van rendezve. Azok a fázisba rendezett variánsok, amelyek fekete része ugyanazon az oldalon található és ugyanahhoz a „Phase ID”-hez tartozik, fázisban vannak, azaz ugyanazon a szálon.

A genotípusra kattintva megtekintheti a cis vagy trans variánsok listáját, ha vannak ilyenek. Csak a DiagAI által legmagasabb rangú 5 variáns jelenik meg, amint az a mellette látható.

A variánsok teljes listája a „Browse all variants” (Összes variáns böngészése) gombra kattintva érhető el.

Variants in trans
Phase set ID 283928 X
GT

! Compound heterozygous candidates for

4 SLC25A22 chr11:g.792142C>T

5 SLC25A22 chr11:g.792146_792147del

VAF (Variant Allele Frequency, variáns allél gyakoriság). Ez az oszlop a variáns allél gyakoriságát jelzi, azaz az alternatív allélt (AO) támogató olvasmányok arányát az adott pozícióban található

összes olvasmányhoz (COV) viszonyítva, százalékban kifejezve.

A SomaVar 2.5 vagy újabb verziójú, a SomaCGP 0.7 vagy újabb verziójú és a SomaVar LF 2.1 vagy újabb verziójú munkakészleteket használó elemzések a következő kiegészítő információkat jelenítik meg:

- egy tooltip jeleníti meg a VAF, AO és COV értékeket, amelyeket a variánst felismerő 2 *variánsazonosító*, a Freebayes és a Mutect2 számított ki.
- egy figyelmeztető ikon  figyelmezteti a felhasználót, ha a két variánsazonosító között eltérés van az alacsony VAF-értékkel azonosított variánsok esetében. Így a VAF oszlopban 5% alatti VAF-értéket mutató variánsok esetében a figyelmeztetés akkor jelenik meg, ha a Freebayes és a Mutect2 által számított VAF-értékek között 10% feletti eltérés van.

AO (Alternate Observation). Ez az oszlop a variánst hordozó olvasások számát jelzi.

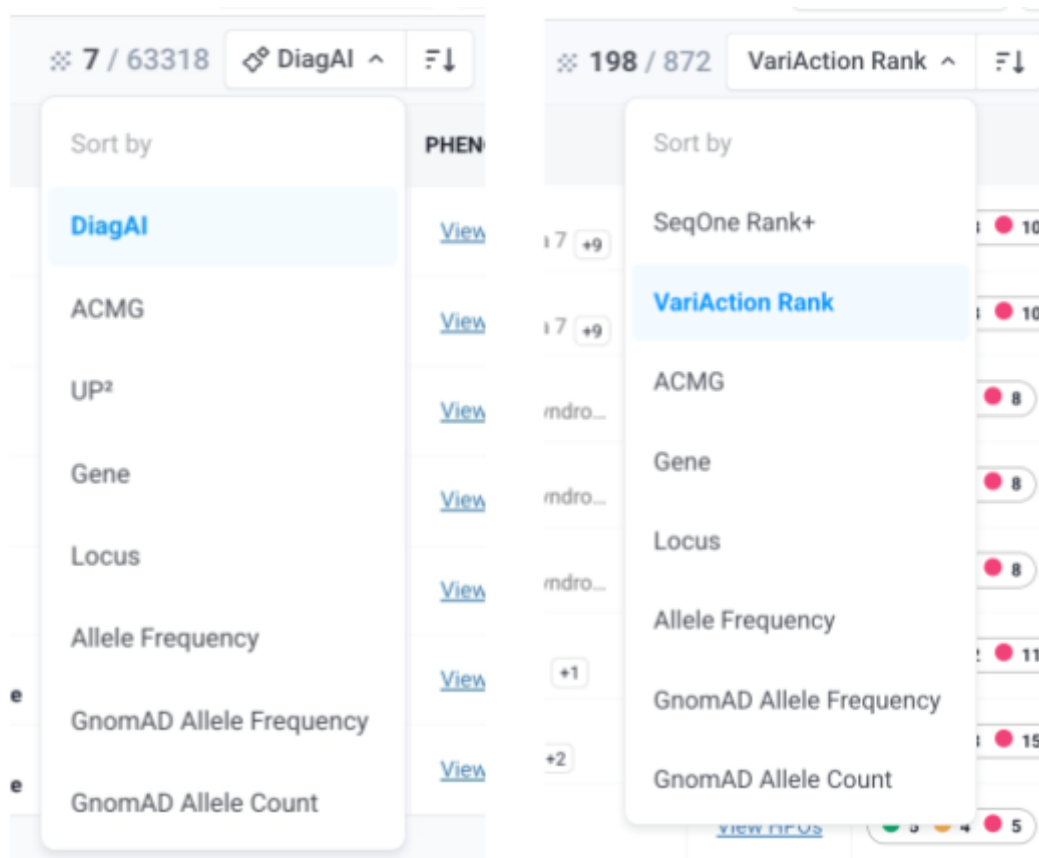
CAL (Caller). Ez az oszlop a variánst felismerő *variánsazonosító(k)* nevét jelzi.

Cov (Coverage). Ez az oszlop a variáns pozíciójában található összes olvasat számát jelzi.

SOR. A Strand Odds Ratio (SOR) egy szál-torzítási (strand-bias) metrika, amely a szimmetrikus esélyhányados (Symmetric Odds Ratio) tesztből származik, és a variánst támogató leolvasások egyensúlyhiányát méri a forward és reverse szálak között. A magasabb SOR az artifaktum nagyobb valószínűségére utal, míg az alacsonyabb SOR kiegyensúlyozottabb száltámogatást jelez, és inkább egy valódi variánsnak felel meg.

Variánsok rendezése

A Variants (Variánsok) fülön több lehetőség is rendelkezésre áll a variánsok rendezésére. Ezek a táblázat jobb felső sarkában található legördülő menüből érhetők el. Minden rendezési lehetőségnél a rendezés ikonra kattintva lehet növekvő vagy csökkenő sorrendbe rendezni a variánsokat . Alapértelmezés szerint minden lehetőség csökkenő sorrendben van rendezve, kivéve a „Locus” (Lókus) lehetőséget, amely növekvő sorrendben van rendezve.



14. ábra: A variánsok rendezési opcióinak kiválasztási ablaka

DiagAI pontszám. Ez a rendezési opció alapértelmezés szerint minden csírvonal-elemzésre vonatkozik, és lehetővé teszi a variánsok DiagAI pontszámuk szerinti rendezését (2024. október 2. után végzett elemzésekben a SeqOne Rank+ helyébe lép).

SeqOne Rank+. A SeqOne Rank+ prioritási algoritmus, amely a DiagAI pontszámnál régebbi mesterséges intelligencia modellen alapul, továbbra is elérhető, és alapértelmezés szerint minden 2024. október 2. előtt végzett elemzésre alkalmazásra kerül.

4 fő komponensre épül:

- Az ACMG osztályozás új implementációja, amely a ClinVar-on (UP² pontszám) képzett gépi tanuláson alapul
- A beteg fenotípusa (ha a HPO kifejezések kapcsolódnak a mintához)
- A megfigyelt genotípus és a GenCC, OMIM és PanelApp (Ausztrália) adatbázisokban leírt patológia átviteli módja közötti egyezés.
- Variánsminőség

VariAction Rank. A szomatikus variánsok prioritásainak meghatározására szolgáló VariAction Rank algoritmust a SomaVar elemzések v1.8 verziójától javasolják. Ez a rendszer a JaxCKB annotációt használja a variánsok prioritási pontszámainak kiszámításához azok klinikai alkalmazhatósága alapján. Ezek a prioritási pontszámok figyelembe veszik a variáns hatását, patogenitását a ComPerMed pontszám, az AMP Tier, a variáns molekuláris profiljának specifikitása, valamint az indikációval való összhang alapján, ha a betegséget az elemzés elindítása előtt rögzítették.

ACMG. Ezzel az opcióval a variánsok ACMG-besorolásuk szerint rendezhetők. Alapértelmezés szerint a variánsok csökkenő sorrendben vannak rendezve, a 5. patogén osztálytól az 1. benignus osztályig.

Locus. Ezzel az opcióval a variánsok genomikus pozíciójuk szerint rendezhetők.

Allélfrekvencia. Ezzel az opcióval a variánsok allélfrekvencia szerint rendezhetők. Alapértelmezés szerint a variánsok csökkenő sorrendben vannak rendezve. A rendezés ikonra

kattintva növekvő sorrendben is rendezhetők  .

GnomAD allélfrekvencia, GnomAD allélszám. A variánsok a GnomAD allélfrekvencia (AF) vagy allélszám (AC) szerint növekvő vagy csökkenő sorrendben rendezhetők (ha a GnomAD adatok rendelkezésre állnak).

UP². A variánsok a patogenitási UP² pontszám szerint rendezhetők, amely a DiagAI Score egyik összetevője.

Gene. A variánsok a génszimbólum alapján növekvő vagy csökkenő ábécérendbe rendezhetők. Az egymást átfedő géneket érintő variánsok esetében a rendezéshez használt génszimbólum a legnagyobb hatású variánshoz tartozó szimbólum, a fent leírt transzkriptum-priorizálási szabályok alapján. A transzkriptumlista kibontásakor a felhasználó láthatja a második átfedő gént, amely rendezetlennek tűnhet. Előfordulhat az is, hogy a rendezés nem látszik érvényesülni, ha több szűrőt alkalmaznak a variánstáblázatra.

A variánsok táblázatának oszlopainak konfigurálása

A variánstáblázatban megjelenített oszlopok a „Oszlopok szervezése” menüből konfigurálhatók,

amely a variánstáblázat jobb felső sarkában található  gombra kattintva érhető el. Az oszlopok megjelenítése a felhasználó által módosítható a  ikonokra kattintva, amelyekkel a bal oldali részben a kívánt oszlop(ok) aktiválhatók. A jobb oldali rész az elemzésben aktív oszlopokat jeleníti meg, és lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy a legördülő menüből oszlopprofilokat hozzanak létre és mentsenek a „Profil kiválasztása” ikonra kattintva.

Az aktív oszlopok sorrendje a kívánt helyre kattintással és húzással módosítható. Alapértelmezés szerint az oszlopok a „Germline” és „Somatic” profilok szerint vannak rendezve.

Amikor a felhasználók az előre beállított legördülő menüben az egérmutatóval egy oszlopprofil nevére mutatnak, egy eszköztipp jelzi, hogy melyik munkakészlet hozta létre azt a profilt. Ez figyelmezteti a felhasználókat, ha profiljukban vannak olyan oszlopok, amelyek nem kompatibilisek a jelenlegi munkakészlettel.

Új oszlopprofil létrehozásához egyszerűen írja be a nevet az „Új előre beállított profil létrehozása” mezőbe, majd kattintson a „Mentés” gombra.

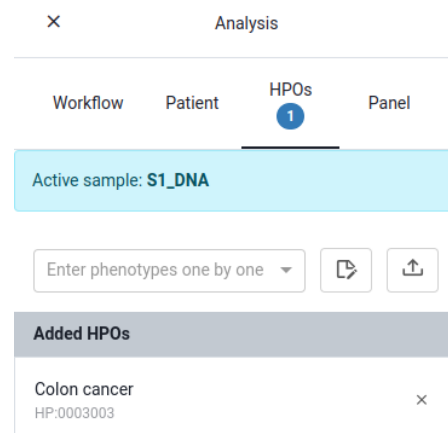
A minta metaadatainak szerkesztése az elemzési panelen

A felhasználó közvetlenül az elemzésből szerkesztheti a minta metaadatait, és beírhatja a beteg nemét vagy HPO-jait (csak germline elemzések esetén) az Elemzés fiókból, amelyre a lap jobb felső sarkában található „ Analysis” (Elemzés fiók megnyitása) gombra kattintva lehet hozzáférni (lásd az **Elemzéskezelés oldalsó panelen című** részt).

A „Beteg” nézetből a felhasználó hozzáférhet a nem szerkesztéséhez (lásd a **„Beteg” modális nézet** szakaszt).

A csírvonalas projektelemezésekben a HPO-nézetből a felhasználó több HPO-kifejezés szerkesztési funkcióhoz is hozzáférhet:

- Az elemzés elindítása előtt már beírt kifejezések megtekintése
- HPO-kódok vagy fenotípusok kézi hozzáadása az „Enter phenotypes one by one” (Fenotípusok egyenkénti bevitele) keresősávon keresztül
- HPO-kódokat tartalmazó szövegfájl importálása
- HPO-kifejezések generálása a beteg klinikai leírása



alapján, a DiagAI ikonra kattintva (). Ez a funkció felkéri a felhasználót, hogy írja le a beteg klinikai profilját angolul (a leírás hossza legfeljebb 4000 karakter lehet). Ezután a „HPO-k kivonása a DiagAI segítségével” gombra kattintva színekkel kiemelt HPO-k listája generálódik. Végül a felhasználó az „Add all” (Összes hozzáadása) gombra kattintva társíthatja a beteghez az összes javasolt HPO-kifejezést, vagy az egérrel a kiválasztott kifejezések fölé viszve, majd az „Add” (Hozzáadás) gombra kattintva egyenként is kiválaszthatja őket.

A HPO-k hozzáadása és szerkesztése ebben a nézetben lehetőséget ad a felhasználónak a DiagAI pontszám és a variánsok osztályozásának (rövid lista vagy SmartPick) újrafeldolgozására a „Re-process analysis” (Elemzés újrafeldolgozása) funkcióval a beírt új HPO-k alapján.

Variánsok szűrése

A *Variánsok* fülön a keresést az alábbi szűrő kategóriák segítségével finomíthatja. A szűrőpanel a variánsok táblázatának bal felső sarkában található „ Filters ” ikonra kattintva vagy a billentyűzet F gombjának megnyomásával érhető el. A szűrők a „Basic” fül alatt érhetők el. A szűrőpanel tetején található „Active Filters” szakaszban a jelenleg használt szűrők száma jelenik meg.

Gének és variánsok szűrői

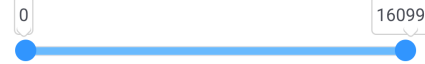
Szűrő neve és áttekintése	Leírás
▼ Genes ⓘ Search gene symbols	A variánsok listáját egy vagy több génre korlátozza.
▼ Variants ⓘ Search by HGVS	A variánsok listáját egy vagy több variánsra korlátozza a HGVS vagy HGVSz nomenklátúra szerint.

Minták és minőség szakasz

Szűrő neve és áttekintés	Leírás
▼ Coverage ⓘ 1 836	Meghatározza a lefedettség mélységének (COV) minimális küszöbértékét. A szűrő által megjelenített maximális érték a variánsok között azonosított legmagasabb lefedettségi értéknek felel meg.
▼ Allele Frequency ⓘ 0% 100% 0 100	A variánsokat az elemzett mintában előforduló mutáns allél gyakorisága szerint szűri.
▼ Quality ⓘ Low Medium High	A mutáns allélt hordozó egyes bázisok átlagos minősége (phred pontszám), amely a variánsok kimutatásának megbízhatóságát jelzi: - <i>Közepes</i> ($\geq \text{QUAL}=20$): 100-ból 1 esély a helytelen azonosításra, - <i>Magas</i> ($\geq \text{QUAL}=30$): 1000-hez 1 esély a helytelen azonosításra. Ez a szűrő minden mintára vonatkozik.

▼ Quality ⓘ All Low Medium High ≥Q8 ≥Q20 ≥Q30	Az Oxford Nanopore Technologies adatain végzett GermVar Tertiary és GermVar Tertiary Family elemzések esetében a Phred pontszámon alapuló minőség jelzi a variánsok kimutatásának megbízhatóságát. ≥ QUAL=8 (Alacsony): 8 az 1-hez az esélye a helytelen hívásnak, ≥ QUAL=20 (közepes): 100-ból 1 esély a helytelen hívásra, ≥ QUAL=30 (magas): 1000-hez 1 esély a helytelen azonosításra. Ez a szűrő minden mintára vonatkozik.
▼ Genotype ⓘ ● Homozygous 387 ● Heterozygous 1163 ○ None 1942 ⦿ Biallelic Variant 222 ⦿ Biallelic Variant 84 ⦿ Unknown 76 ⦿ Unknown 0	A variánsokat a megfigyelt genotípus szerint szűri.
▼ Alternate Observations ⓘ 0 458	Meghatározza a mutációt hordozó szekvenciák számát (alternatív megfigyelés vagy AO). A szűrő által megjelenített maximális érték a variánsok között azonosított legmagasabb AO értéknek felel meg.
▼ Strand Odds Ratio ⓘ 0 5 0 1 2 3 4 ≥5 min 0 max 5	Szűri a variánsokat a variáns helyén kiszámított strand odds ratio (SOR) pontszám alapján.

Frekvenciák szakasz

Szűrő neve és áttekintés	Leírás
▼ Sample frequency ⓘ  all rare	Kiküszöböli a vizsgált projektben előforduló variánsokat, a leggyakoribbaktól (minden) a legritkábbakig (ritka).
▼ Relative pop frequency ⓘ  all 10-2 10-3 10-4 10-5 10-6 absent	A variánsokat az ExAc és a gnomAD projektek kombinált populációjában előforduló mutáns allél gyakorisága alapján választja ki.
▼ Absolute pop frequency ⓘ  0 1609917	A variánsokat az ExAc és GnomAD kombinált populációban található allélszám alapján választja ki.
▼ Absolute homozygous pop frequency ⓘ  0 803576	Kiválasztja a variánsokat az ExAc és GnomAD kombinált populációban előforduló homozigóta gyakoriságuk alapján.

Genetika szakasz

Szűrő neve és áttekintés	Leírás
▼ Impact ⓘ Low Moderate High ☒ Keep <i>Modifier</i>	A mutáció hatása a fehérjére. <i>Módosító:</i> hatással van a nem kódoló génekre
▼ Effects ⓘ > Loss of Function 10 • Transcript ablation 10 • Splice acceptor 10 • Splice donor 10 • Stop gained 10 • Frameshift 10 • Stop lost 10 • Start lost 10 • Transcript amplification 10	SO (Sequence Ontology) kifejezések, amelyek a génszinten a leginkább zavaró következményeket írják le. Ez a szűrő lehetővé teszi a mutáció génre gyakorolt hatásának kiválasztását, és a lehetőségek logikai kategóriákba vannak rendezve a navigáció megkönnyítése érdekében: <i>Funkcióvesztés, Kódolás, Splicing régió, Csendes variáns, Intronikus, UTR, ncRNA, Upstream/Downstream, Szabályozó, Egyéb.</i>
▼ Gene panel ⓘ Select panel	Válasszon ki és alkalmazjon egy vagy több génpanelt. Ez a szűrő az entitáshoz rendelkezésre álló összes génpanelt megjeleníti. Ez a szűrő nem érhető el, ha az elemzéskezelő ablak Panel füléről korlátozott panel került alkalmazásra az elemzésre (lásd a Panel modális nézet szakaszt). Egy üzenet tájékoztatja a felhasználót, hogy a „Génpanel” szűrő nem használható korlátozott panellel.
▼ Panel in-silico ⓘ Dyslipidemia_panel_1_Twist★	Kiválaszt és alkalmaz egy in silico panelt. Ez a szűrő a csoport számára elérhető összes BED fájlt megjeleníti. Az elemzés során használt fájl neve csillaggal van kiemelve. Ez a szűrő csak azokat a variánsokat tartja meg, amelyek kezdőpozíciója (start) a kiválasztott bed fájl egyik intervallumán belül található.

PanelApp ⓘ Epi ENG Blepharophimosis ptosis and epicanthus ENG Early onset or syndromic epilepsy ENG Epidermodysplasia verruciformis	Lehetővé teszi a variánsok szűrését a PanelApp Australia és a PanelApp England katalógusokban található in-silico panelek listája alapján. Egy jelvény jelzi, hogy az in-silico panel melyik adatbázisból származik: AUS (Ausztrália) vagy ENG (Anglia). A két katalógusban egyaránt nem választhatók ki szuperpanelek, valamint olyan panelek, amelyek nem tartalmaznak legalább egy gént. Például egy csak STR-eket tartalmazó panel nem választható ki.
Gene occurrences ⓘ Usable only if they are fewer than 2000 selected variants.	Meghatározza egy adott gén előfordulási számának küszöbértékét a variánsok táblázatában.
Chromosomes & MT ⓘ X 25 Y 0 M 0	Megtartja a nemi kromoszómákon és/vagy a mitokondriális kromoszómán (M) található variánsokat.
RefSeq transcripts ⓘ BARD1_2transcripts.txt	Kiválasztja a RefSeq transzkriptumok listáját a variánsok szűréséhez.

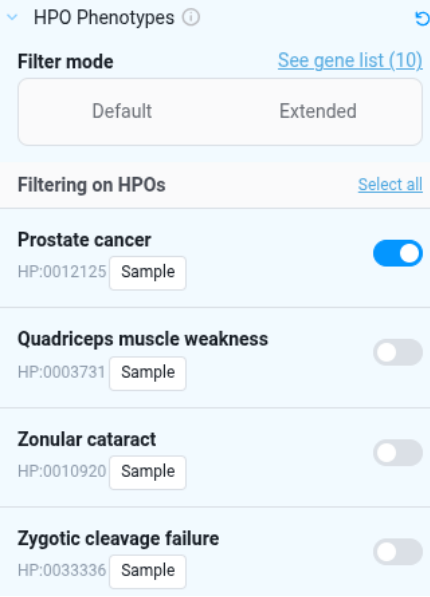
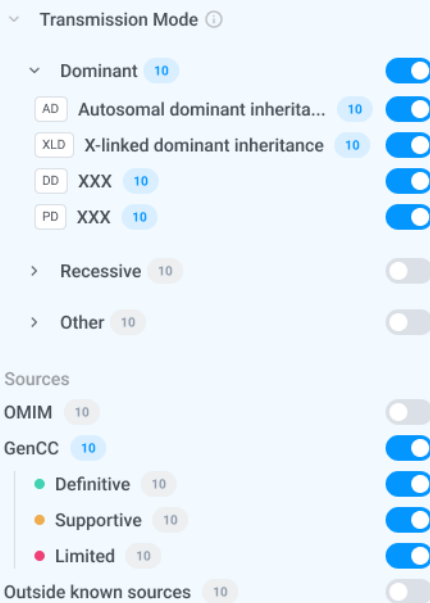
Adatbázisok szakasz

Szűrő neve és áttekintés	Leírás
Variant Databases ⓘ dbsnp 31 cosmic 31 civic 30 lovd 10 clinvar 3	Kiválasztja a következő adatbázisok által annotált variánsokat: dbsnp, cosmic, lovd, clinvar és civic.

▼ Clinvar ⓘ P or LP 3 P/LP low penetrance 0 Conflicting (with P/LP subs) 1 Conflicting (without P/LP subs) 0 Uncertain significance 4 B or LB 18 Risk allele 0 Drug response 2 ☐ Keep others	Lehetővé teszi a variánsok szűrését a ClinVar-on szereplő patogenitási státuszuk szerint. A „Keep others” (Mások megtartása) mezővel megtarthatók a ClinVar-ban nem jegyzett variánsok.
▼ OMIM ⓘ omim morbid clinic 111 omim without phenotypes 23 omim morbid 6	Lehetővé teszi a szűrést az OMIM morbid klinika, az OMIM fenotípusok nélkül és az OMIM morbid variánsok szerint. Ez a szűrő rendelkezik egy be/ki gombbal, amelynek segítségével kiválaszthatja vagy törölheti az állapotot.
▼ SeqOne Artifacts ⓘ ☐ Remove artifacts	Gomb a SeqOne algoritmus szerint artefaktumnak tekintett, 500 exom alkotta kohort 5%-ában előforduló ismétlődő variánsok eltávolításához.

Átadás és fenotípusok szakasz

Szűrő neve és áttekintés	Leírás
▼ Description keywords ⓘ	Kulcsszavakat használ a variánsokhoz kapcsolódó fenotípus(ok) jellemzésére az OMIM, Medgen és Litvar adatbázisok lekérdezésével. Ez a funkció nem veszi figyelembe a HPO-kat, mivel azokhoz külön szűrő tartozik (lásd alább). Két keresési mód áll rendelkezésre: egyesítés és metszés.

	Lehetővé teszi a variánsok szűrését a korábban bevitt HPO-kifejezések alapján, akár a mintaelemzés előtt (lásd: Minta metaadatok), akár az elemzés után az elemzési ablak HPO fülén (lásd: HPO modális nézet). Az egyezéseket a PhenoGenius módszerünkkel azonosítjuk, amely a gének kiválasztásához HPO-gén mátrixot használ. A Szűrő módban 2 lehetőség áll rendelkezésre: • Alapértelmezett szűrés, amely egyensúlyt teremt a pontosság és a visszkapott gének száma között. • Kiterjesztett szűrés, amely több génnel maximalizálja a pontosságot A „Génlista megtekintése” opció a szűrőben kiválasztott HPO-khoz kapcsolódó gének listáját jeleníti meg. Ez a funkció csak akkor érhető el, ha az HPO-kifejezések be vannak jelölve. Egy felugró ablak nyílik meg, amelyben minden gén azonosítója, szimbóluma, Phenogenius rangja és Phenogenius pontszáma látható. A génlistát a Letöltés ikonra kattintva lehet letölteni, vagy a másolás/beillesztés gombbal lehet másolni.
	Lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy az emberi orvosi genetikával kapcsolatos betegségek öröklődési kapcsolatait felhasználva szűrjék a variánsokat. A variánsok szűrhetők az átviteli módok (domináns, recesszív, egyéb) és az átviteli források (OMIM, GenCC vagy egyéb adatbázisok) szerint.

Transmission pattern ⓘ Compound Het - Suspected 10 Compound Het - Verified 10 Recessive Hom 10 De Novo 10	Lehetővé teszi a variánsok kiválasztását heterozigóta kompozit (gyanított vagy igazolt), homozigóta recesszív vagy de novo átviteli módok szerint a DiagAI alapján. Felhívjuk figyelmét, hogy a „Compound Het - Verified” (Összetett heterozigóta – igazolt), „Recessive Hom” (Recesszív homozigóta) és „De novo” szűrők csak családelemzésekben érhetők el.
---	--

Osztályozási szakasz

Szűrő neve és áttekintés	Leírás
VKB ⓘ NewUnknown variant 5Pathogenic 4Likely Pathogenic 3Uncertain Significance 2Likely Benign 1Benign Possible artifact ☐Analysis only ⓘ	Lehetővé teszi az ismeretlen, nem értékelt (Új – Ismeretlen variáns) vagy a VKB-ben validált variánsok kiválasztását az entitás összes elemzésében. Ha az „Csak elemzés” négyzet be van jelölve, a variánsok keresése csak a jelenleg annotált elemzésben történik.
ACMG ⓘ 5Pathogenic5 4Likely Pathogenic1 3Unknown significance (VUS)56 2Likely Benign49 1Benign6	A csírasejt-variánsok patogenitásának osztályozása, 1 (jóindulatú) és 5 (patogén) közötti skálán.
ComPerMed ⓘ 5Pathogenic7 4Likely Pathogenic6 3VUS102 2Likely Benign1 1Benign7	A szomatikus variánsokat a ComPerMed patogenitási osztályuk szerint választja ki 1 (jóindulatú) és 5 (patogén) közötti skálán.
Evidence Type (CKB) ⓘ Actionable1346 Diagnostic0 Prognostic0	A variánsokat 3 típusú bizonyíték (CKB) szerint választja ki: cselekvésre alkalmas, diagnosztikai, prognosztikai.

AMP/ASCO/CAP Tier ⓘ I II 1346 0	A variánsokat a hozzárendelt AMP szintjük (I, II és N/A szint) szerint választja ki, kizárólag szomatikus kontextuselemzésben.
---	--

Pontszámok szakasz

Szűrő neve és áttekintés	Leírás
CI-SpliceAI ⓘ all > 0.2 > 0.5 > 0.8 ☒ Keep unknown	Delta pontszámok kiválasztása. Az „Ismeretlen megtartása” jelölőnégyzet megtartja az „N/A” értékű variánsokat, de kizárja a splicingre nincs hatással lévő variánsokat („Nincs splicingre hatással” variáns).
Conservation ⓘ Low Conserved Highly Conserved	A hely konzervativitásának mértéke, több konzervativitási pontszám alapján számolva.
Metasvm ⓘ Tolerated Damaging Highly Damaging	Figyelembe veszi 10 variáns-előrejelző alkalmazás pontszámát és a 1000genomes populációban megfigyelt maximális gyakoriságot.
Universal Pathogenicity Predictor (UP²) ⓘ Benign VUS Pathogenic -1 0 1 Min -1 Max 1	Kiválasztja a variánsokat az univerzális patogenitási prediktor (UP ²) alapján.
LOEUF ⓘ Intolerant Tolerant 0 1 2 Min 0 Max 2 ☒ Keep unknown	Kiválasztja a variánsokat a LOEUF pontszám alapján.

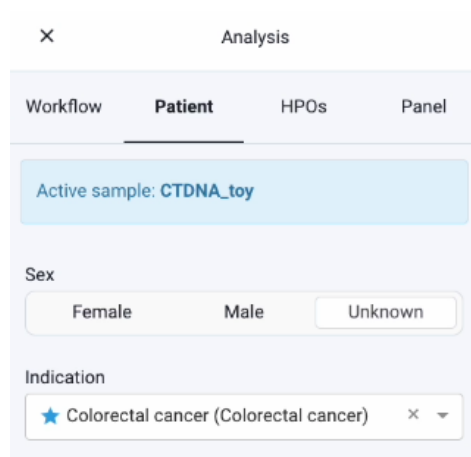
▼ CADD ⓘ Benign Pathogenic 1 99 Min 1 Max 99 ☒ Keep unknown	Kiválasztja a variánsokat a CADD Phred pontszám alapján.
▼ REVEL ⓘ Benign Pathogenic 0 0.5 1 Min 0 Max 1 ☒ Keep unknown	Kiválasztja a variánsokat a REVEL pontszám alapján.

Válasszon indikációt

A SomaVar, SomaVar LF és SomaCGP alkalmazásokban lehetőség van előre definiált patológiai indikáció kiválasztására a JaxCKB adatbázisból az elemzéskezelő oldalsáv „Beteg” fülén található legördülő menüből (lásd a „**Beteg modális nézet**” részt).

Az ontológiai rendszer a *Disease Ontology*²⁴ alapul, és tartalmazza a JaxCKB-specifikus kifejezéseket. Az érzékenységi információk a Klinikai bizonyítékok oszlop „A” aloszlopában (lásd a **Variáns oldal** szakaszt) csak akkor jelennek meg zöld színnel, ha a variáns indikációja megegyezik a kiválasztott indikációval. Ha egy variánsra ellenállási állítások találhatók, az „A” oszlop megfelelő cellája piros színnel jelenik meg, függetlenül az indikációtól. Ellenkező esetben szürkén jelenik meg.

Ha a betegséget a minta betöltése során és az elemzés előtt választották ki (lásd: **Minta metaadatok**), akkor az a minta és az elemzéskezelő oldalsáv *Beteg* fülén alapértelmezett indikációvá válik. Csillaggal van jelölve, és az első helyen jelenik meg a listában. Az indikáció megváltoztatása az elemzéskezelő oldalsávon nem frissíti a minta előre kiválasztott betegségét (Betegség metaadatok).



²⁴ <https://disease-ontology.org/>

Előre definiált szűrőprofil használata

A felhasználók a „Profil kiválasztása” ikonra kattintva kiválaszthatnak egy előre definiált szűrőprofil a legördülő menüből. A SeqOne platform alapértelmezés szerint több előre definiált szűrőprofil kínál: *GermVar*, *Saját kiválasztás*, *Kutatás*, *DiagAI*.

Szűrőprofilok szerkesztése és mentése

A felhasználók minden szűrőnél a kurzorok aktuális pozícióját szűrőprofilként menthetik el úgy, hogy nevet adnak a profilnak, majd a „Mentés újként” gombra kattintanak. A szűrőprofil ezután a „Privát” kategória ugyanazon legördülő menüjében lesz elérhető.

Szűrőprofil mentésekor megnyílik egy létrehozási űrlap, és a felhasználó kiválaszthatja az entitás nevével ellátott gombot, hogy az entitás többi felhasználója is hozzáférhessen hozzá. Ha a felhasználó a „Privát” gombot választja, a profil csak annak a felhasználónak lesz hozzáférhető, aki létrehozta.

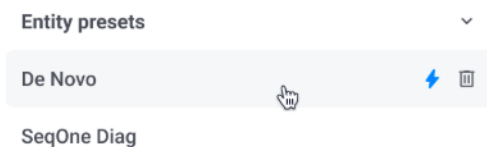
Csak az a felhasználó tudja szerkeszteni a szűrőprofil, aki eredetileg létrehozta, az „Update” (*Frissítés*) gombra kattintva; ha a profilt egy másik felhasználó módosítja az entitáson belül, akkor azt a felhasználót felkérjük, hogy más néven mentse el. Ha a felhasználónak nincs jogosultsága nyilvános szűrőprofil módosítására, akkor felkérjük, hogy vegye fel a kapcsolatot az entitás rendszergazdjával. A SeqOne szűrőprofilok nem módosíthatók és nem menthetők el más szűrőprofil alatt.

Egy vagy több szűrő is visszaállítható. Ehhez egyszerűen kattintson a szűrő jobb oldalán vagy a „Szűrők” mező jobb felső sarkában található „” (Visszaállítás alapértelmezett értékekre) ikonra.

Kedvenc szűrőprofilok

A felhasználók a profil jobb oldalán található  ikonra kattintva beállíthatják a szűrőprofilokat kedvenceknek, így azok közvetlenül a változatok táblázat feletti gyorselérési sávon jelennek meg.

A szűrőprofil eltávolításához a kedvencek közül egyszerűen kattintson ugyanarra az ikonra (). Alapértelmezés szerint a *My Selection* profil van beállítva kedvencként.

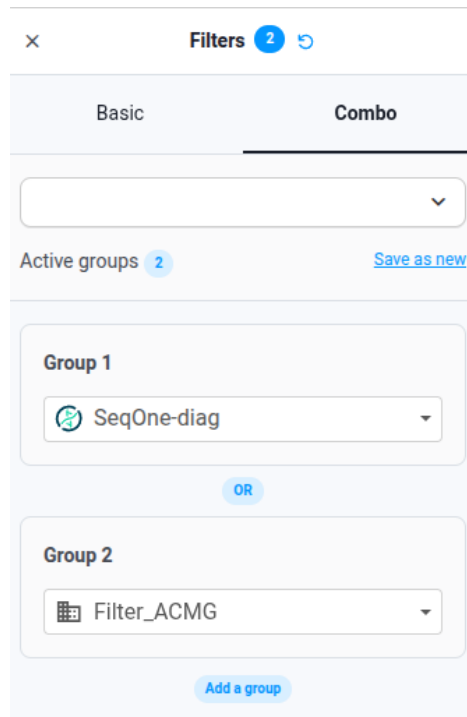


Szűrőprofilok kombinálása

A szűrőprofilok az **OR** feltétel alatt kombinálhatók, ha a szűrőpanelen a Combo fülre, majd a „Create a combo” gombra kattint. Alapértelmezés szerint a létrehozási űrlap 2 csoport szűrőprofil jelenít meg, de a felhasználók a „Add a group” gombra kattintva továbbiakat is hozzáadhatnak.

A profilok kiválasztása után a felhasználók a „Save as new” (Újként mentés) gombra kattintva menthetik el kombinált profiljukat. A szűrőprofilokhoz hasonlóan a felhasználó a létrehozási űrlapon hozzáférhetővé teheti kombinációját az entitás összes felhasználója számára. Csak az a felhasználó szerkesztheti a kombinált profilt, aki azt eredetileg létrehozta, a „Update” (Frissítés) gombra kattintva.

Ha a profilt egy másik felhasználó módosítja az entitáson belül, akkor azt a felhasználót felkérjük, hogy más néven mentse el. Ha a felhasználónak nincs jogosultsága nyilvános kombinált profil módosítására, akkor felkérjük, hogy vegye fel a kapcsolatot az entitás rendszergazdájával.



SeqOne szűrőprofilok

Saját kiválasztás. Ez a szűrőprofil lehetővé teszi, hogy a 3 (VUS), 4 (valószínűleg patogén) és 5 (patogén) besorolású variánsok közvetlenül a VKB-ben jelenjenek meg az értelmezett elemzésben.

DiagAI. Ez a szűrőprofil, amely a csírasejt-elemzésekben (GermlineVar, GermlineFamily, GermVar Tertiary, GermVar Tertiary Family) elérhető, a beteg betegségének okaként nagy valószínűséggel felmerülő variánsok rövidített listáját jeleníti meg. Ez a profil a DiagAI prioritási algoritmust és a variáns előfordulását a projektben (Sample Frequency szűrő) használja ki.

Alkalmazható akkor, ha a HPO-kifejezések kapcsolódnak vagy nem kapcsolódnak a mintához, de érzékenysége megnő a HPO-kifejezések jelenlétében. Családelemzés esetén a szűrőprofil automatikusan alkalmazkodik az elemzett család méretéhez, mivel figyelembe veszi, hogy a variáns előfordulása a projektben nagyobb lehet. A felhasználók bármikor módosíthatják a projekt Sample Frequency szűrőjét.

Adja meg a HPO-kat a betegség kialakulásának legnagyobb valószínűséggel járó SmartPick variánsok megjelenítéséhez.

Családi profilok. A GermlineFamily és GermVar Tertiary Family elemzésekben a *De Novo (új)*, *Recessive Hom (új)* és *Compound Het (új)* szűrőprofilok csak olyan trióelemzésekben lesznek elérhetők, amelyek egy érintett index esetet, az érintetlen apát és az érintetlen anyát tartalmazzák. Ellenkező esetben ezek a profilok le lesznek tiltva.

Személyes profil létrehozásakor és mentésekor nem ajánlott módosítani a *De Novo (új)*, *Recessive Hom (új)* és *Compound Het (új)* szűrőprofilokat. Ezeknek a profiloknak a változatai létrehozásakor ajánlott teljesen újat kezdeni.

Hordozószűrés. Ez a szűrőprofil csak a Germline családban érhető el duóelemzésekhez (indexminta nélküli szülők) és azonosítja a recesszív géneket, amelyek potenciálisan patogén heterozigóta variánssal rendelkeznek mindkét nem érintett szülőben a fogamzás előtti vizsgálatokhoz.

Szomatikus FFPE. Ez a szűrőprofil a szomatikus elemzésekben (SomaVar, SomaCGP) a FFPE DNS-en végzett szomatikus variánsok csökkentett listáját jeleníti meg.

Szomatikus LF. Ez a szűrőprofil a SomaVar LF elemzésekben a szomatikus variánsok csökkentett listáját jeleníti meg.

Megtekintettként jelölés funkció

A „Megtekintettként jelölés” funkció lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy bizonyos variánsokat szelektíven elrejtse. Ehhez egyszerűen válassza ki a kívánt variánsokat, majd kattintson a variánsok táblázatának alján megjelenő „ Mark as viewed” ikonra. A kiválasztott variánsok ezután szürkén jelennek meg. A kiválasztás eltávolításához a felhasználó vagy a variánsok táblázatának tetején található „ Reset all viewed” ikonra kattintva állíthatja vissza a nézetet, vagy kiválaszthatja a variánsokat, majd a „ Mark as not viewed” gombra kattintva törölheti a jelölést.

A felhasználó a keresztre kattintva elrejtheti a felugró ablakot. Ezzel az összes változat kijelölése megszűnik, de azok szürkén maradnak.

Változatok kiválasztása

A variánsok hozzáadhatók a „Kiválasztás” panelhez az értékelés alatt álló variánsok mellé (lásd az alábbi szakaszt). Ehhez jelölje be a variánsokat a variánstáblázat bal oldalán található

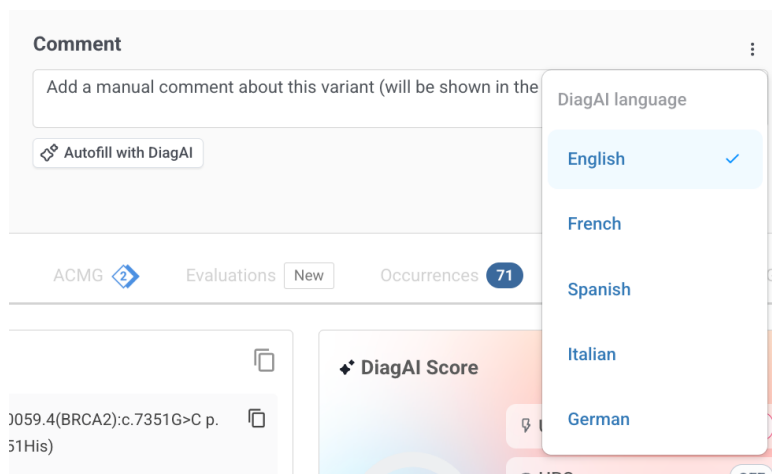
jelölőnégyzetek bejelölésével, majd kattintson a táblázat alján található „Hozzáadás a kiválasztáshoz” ikonra.

Változatok értékelése

A variánsok gyorsan értékelhetők a variánstáblázatból, ha rákattintunk a VKB oszlopra, és megadjuk a patogenitási osztályukat és egy opcionális megjegyzést. Ezek az értékelések és megjegyzések az elemzésben található „Kiválasztás” ikonon keresztül elérhetők az azonos entitáson belüli összes platformfelhasználó számára (lásd az **Értékelések kezelése** című részt). A variánsok a nekik szentelt oldalon is értékelhetők.

A megjegyzéseket manuálisan lehet beírni vagy automatikusan generálni. A felület tartalmaz egy üres „Osztályozás” mezőt a megjegyzésekhez és egy „Automatikus kitöltés DiagAI-val” gombot az automatikus generáláshoz. A megjegyzés generálása során egy jelzőfény jelenik meg. A meglévő megjegyzéseket a „Javítás a DiagAI segítségével” opcióval lehet javítani. Minden generált megjegyzést jóvá lehet hagyni, módosítani vagy visszaállítani. A jóváhagyás után a megjegyzéseket a patogenitási osztályukkal, dátumukkal és tartalmukkal együtt mentik. A jóváhagyás után módosíthatók vagy törölhetők, miközben a történetük megmarad.

A DiagAI nyelvének kiválasztásához kattintson a megjegyzésmező jobb felső sarkában található három pontra, és válassza ki a legördülő menüből a kívánt nyelvet.

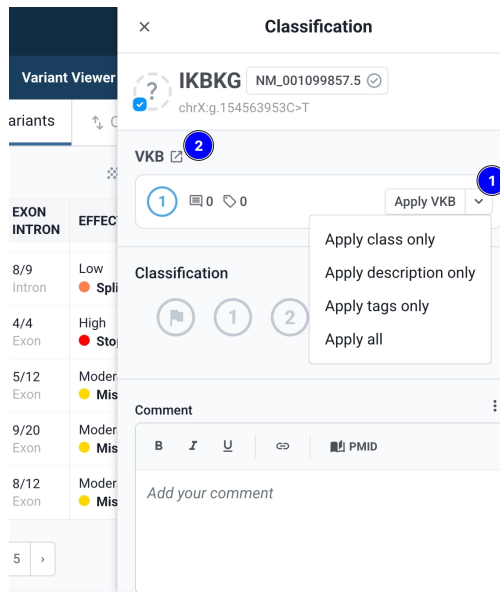


A variánsok a besorolási oszlopra kattintva is osztályozhatók, amelynek fejlécében egy zászló található. Variáns osztályozásához kattintson a + ikonra. Megnyílik egy osztályozási oldalpanel, amely lehetővé teszi a felhasználó számára a patogenitási osztály, egy megjegyzés és egy címke (tag) hozzáadását.

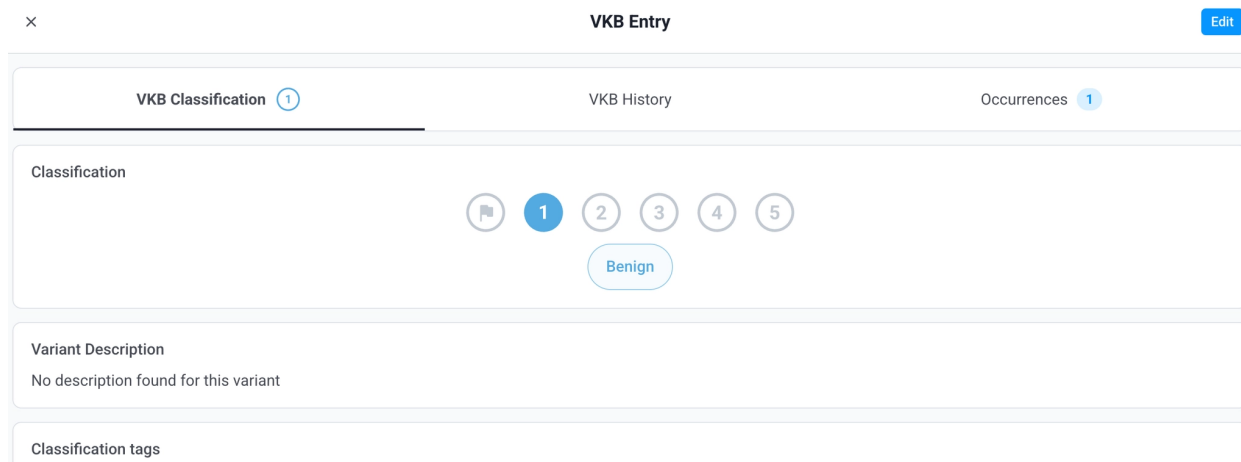
Az osztályozás VKB adatbázishoz való hozzáadásához kapcsolja be az "Add to VKB" kapcsolót. Ha az osztályozás már létezik a VKB adatbázisban, kattintson az "Apply VKB" gombra, hogy alkalmazza azt az aktuális bejegyzésre. További opciók az "Apply VKB" melletti nyílra kattintva érhetők el (lásd az 1. lépést az alábbi ábrán).

Az osztályozást az oldalpanel jobb felső sarkában található "Save" gombra kattintva hagyhatja jóvá.

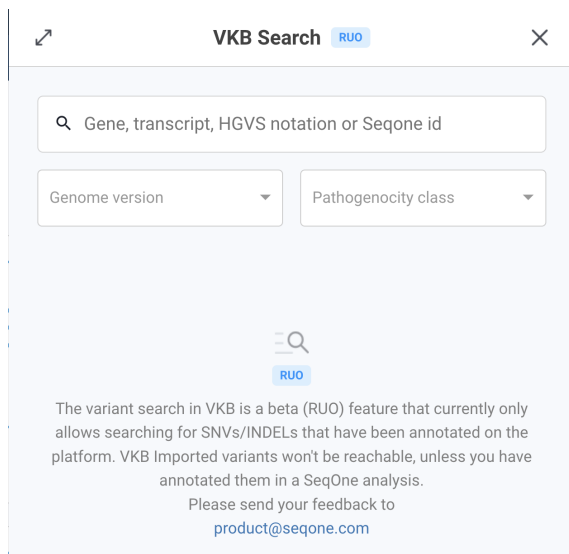
Az osztályozás közvetlen szerkesztéséhez a VKB adatbázisban kattintson a VKB átirányítási linkre (lásd a 2. lépést az alábbi ábrán) a "VKB Entry" ablak megnyitásához.



A "VKB Entry" ablakban kattintson az "Edit" gombra a jobb felső sarokban az értékelés módosításához, majd kattintson a "Save" gombra a módosítások alkalmazásához. A VKB előzmények és a variáns-előfordulások a dedikált füleken keresztül érhetők el.



VKB Search (VKB keresés). A SeqOne fejléc keresőszávjában található „VKB” gombra kattintva megnyílik egy oldalsó panel. Ez lehetővé teszi a VKB adatbázisban szereplő annotált variánsok keresését génnév, transzkript, HGVS annotáció vagy SeqOne azonosító (Genome_variant_chromosome_location_REF_ALT) alapján. A keresés szűrhető referenciagenom (GRCh37 vagy GRCh38) és/vagy patogenitási osztály szerint.



VKB Search RUO

Gene, transcript, HGVS notation or Seqone id

Genome version Pathogenicity class

RUO

The variant search in VKB is a beta (RUO) feature that currently only allows searching for SNVs/INDELs that have been annotated on the platform. VKB Imported variants won't be reachable, unless you have annotated them in a SeqOne analysis.

Please send your feedback to product@seqone.com

15. ábra: VKB keresőablak

Ha rákattint egy értékelt variánsra, megnyílik egy részletesebb oldal, amelyen információk találhatók a variánsról, például a genomikus pozíciója, a komplementer DNS-en (cDNS) és a fehérjén található HGVS annotációi, a patogenitási osztályok, az elemzések és a hozzájuk tartozó megjegyzések, ahol értékelték, majd egy link az elemzésekhez.

←

Details

×

BRCA1

NM_007294.3

c.2834_2836delinsC p.Ser945ThrfsTer6

gDNA

chr17:g.41244712_41244714delinsG

cDNA

NM_007294.3:c.2834_2836delinsC

Protein

NP_009225.1:p.Ser945ThrfsTer6

VCF

17-41244712-TAC-G

Latest classification

5

5

7

4

0

3

0

2

0

1

0

0

0

5

Apr 19, 2024

demo • GermlineVar

PP5: Found a Clinvar Pathogenic entry (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/54694>) having at least 1 star. PM1: Found pathogenic hotspot in ClinVar with 28 pathogenic variants out of 68 (73.68%) on 36bp window, above 66.67% threshold. PM2: GnomAD max frequency (0.0 for population) is inferior to 1/10000. PVS1: Predicted LoF variant (frameshift variant) in BRCA1 gene where there is 3418 out of 3641 pathogenic LoF variants found in Clinvar (93.88%) above 10.00% threshold.

Open on analysis

16. ábra: Variáns részletei ablak a VKB-ben

Variáns oldal

Ha rákattint egy variánusra a variánsok táblázatában, megnyílik egy oldalsó panel, amely több fülön további információkat tartalmaz. A felhasználók a jobb felső sarokban található „Új ablakban megnyitás” gombra kattintva megnyithatják a variáns oldalt egy másik fülön. Az oldalsó panel az „Esc” billentyűvel zárható be.

A felhasználók ebben az ablakban értékelhetik és kommentálhatják a variánsokat. A fő variánstáblázatban megadott értékelésekhez és megjegyzésekhez hasonlóan ezeket az értékeléseket és megjegyzéseket is a platformot használó összes csoporttag láthatja.

Ezen az oldalon a felhasználók hozzáférhetnek a variáns információihoz is, beleértve a genotípust (GT), az allélfrekvenciát (VAF), a lefedettség mélységét (COV) és a phred pontszámot (QA).

A variáns oldalon található fülek leírása az alábbiakban található.

Variant (Variáns). A fül több blokkra van felosztva, amelyeket az alábbiakban ismertetünk.

- **Nomenklatúra:** a különböző nomenklatúrák (g., c., p., VCF bejegyzés) felsorolva vannak, lehetőség van az egész blokk vagy az egyes sorok információinak a vágólapra másolására a  ikon segítségével.
- **DiagAI pontszám:** a variáns oldalon található DiagAI pontszám fülön elérhető DiagAI pontszám számítási összefoglaló blokkot használja (lásd a **DiagAI pontszám** bekezdést).
- **ClinVar:** a variáns táblázat ClinVar Germline oszlopából vett információk, amelyek megadják a variánshoz rendelt patogenitási osztályt, klinikai állapotát és a ClinVar-ban szereplő bejegyzések számát (lásd a **Kis variánsok** szakaszban a **Vizualizáció és értelmezés** részt). A  ikon megnyitja a ClinVar oldalt egy új lapon.
- **Megjegyzések:** transzkriptumra gyakorolt hatás, érintett exon, a legközelebbi splicing helytől való távolság és a mutáció típusa.
- **Transmission:** linkek az OMIM és GenCC adatbázisokhoz, ha egy vagy több betegség kapcsolódik a génhez.
- **Összetett heterozigóta jelöltek**, ez a blokk 2 részre oszlik:
 - A *Rövid variánsok* szakasz az azonos génen (a génazonosító alapján) található összes SNV jelöltet csoportosítja, és a DiagAI pontszámuk szerint rangsorolja őket. A Variánsok oldalon kiválasztott variáns jelenik meg elsőként, és szürkén jelenik meg a listában.
 - A *CNV-k* szakasz jelzi, hogy találtak-e CNV-ket, ACMG osztály szerint rendezve. Ez a szakasz csak akkor érhető el, ha CNV-elemzést futtattak, ellenkező esetben a „CNV-k nem elérhetők” figyelmeztető üzenet jelenik meg.

Az egyik eredményre kattintva új lap nyílik meg a variáns oldallal (ha kis variánsról van szó) vagy a CNV oldallal (ha másolat variánsról van szó). Ha nem találtak CNV-ket, a „no CNVs found” (nem találtak CNV-ket) figyelmeztető üzenet jelenik meg.

- **Eszközök:** linkek más adatbázisokhoz (LitVar, LOVD, VarSome, dbSNP, Cosmic, GnomAD, CKB, UCSC, Decipher, Ensembl).
- **GnomAD:** ha a variáns ismert ebben az adatbázisban, megjelenik egy táblázat, amely összefoglalja a variáns gyakoriságát a különböző populációkban, és a GnomAD-hoz való közvetlen hozzáférés az ikonon keresztül érhető el:  .

Nomenclature

gDNA chr4(GRCh38)g.154611883G>C

cDNA NM_021870.3(FGG):c.323C>G

Protein NP_068656.2 p.Ala108Gly

VCF 4-154611883-G-C

Clinvar

Likely Pathogenic

Criteria Provided, Multiple Submitters, No Conflicts ★★☆☆

Review status **Reclassified by SeqOne**

Submissions **2 P | 9 LP | 2 VUS**

Disease Congenital Fibrinogen Deficiency, Thrombus

Annotations

Impact/Effect **Moderate** ● missense

Exon/Intron 4/9

Biotype protein coding

Transmission

AR

DISEASE	OMIM	MEDGEN
Hypofibrinogenemia, congenital	AR	N/A

Compound Heterozygous candidates

Short variants

79 4 New c.323C>G ● missen...

7 1 New c.*16C>T ● 3 prime ...

1 to 2 of 2 1

CNVs

No CNVs found

Tools

Variant database

Gene database

Genome database

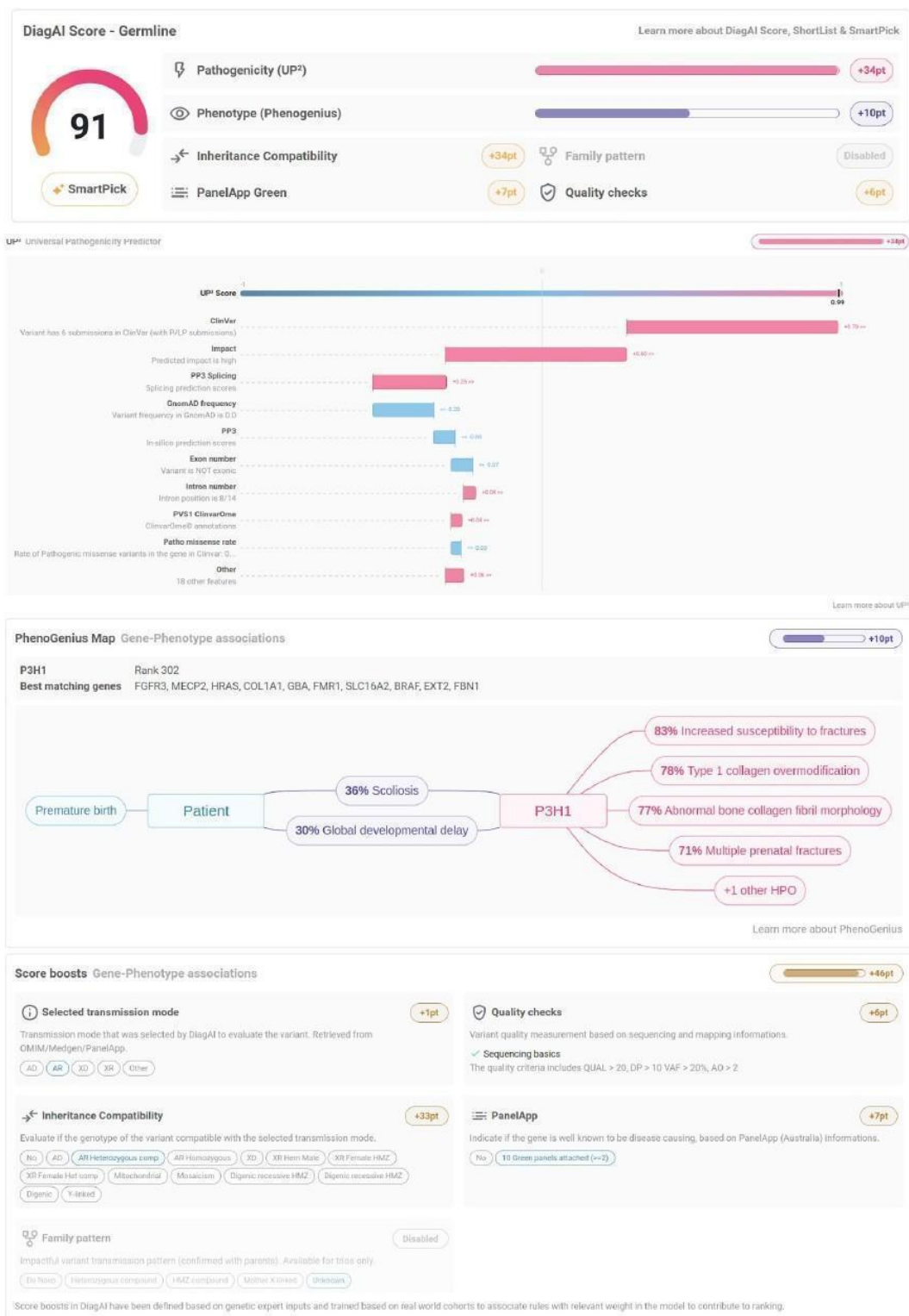
GnomAD

MAF 3.84e-3 ALL 3.03e-3

QC Exome | PASS QC Genome | PASS

Population	AF	AC	HOM
African/American population	6.13e-4	46	0
American population	6.67e-4	40	0
Amish	0.00e+0	0	0
Ashkenazi Jewish	1.52e-3	45	0
East Asian population	0.00e+0	0	0
Finnish population	1.06e-3	67	0
Middle Eastern population	6.61e-4	4	0
Non-Finnish European population	3.84e-3	4526	11
Other populations	1.63e-3	102	1
South Asian population	6.05e-4	55	0
Non-UKB combined population	2.38e-3	1854	5
Combined population	3.03e-3	4885	12

17. ábra: Variáns fül a variáns oldalon



18. ábra: A DiagAI fül megjelenítése a variáns oldalon

DiagAI. A fül tartalmazza a variánshoz rendelt DiagAI pontszám magyarázatát. Ez a fül csak a GermlineVar, GermlineFamily , GermVar Tertiary és GermVar Tertiary Family (v1.8-tól) elemzéseknél érhető el.

A DiagAI fül 4 fő részre oszlik:

- A **DiagAI pontszám – Germline** összefoglaló blokk, amely megmutatja a pontszámot, a SmartPick állapotot, és felsorolja az általános pontszámhoz hozzájáruló főbb jellemzőket és a hozzájuk tartozó pontszámokat.
- A **UP² (Universal Pathogenicity Predictor)** pontszámot magyarázó vízésésdiagram. A „ Transcript” (A variáns nem használható a UP² kiszámításához) figyelmeztető üzenet akkor jelenik meg, amikor a felhasználó olyan variáns oldalát nézi meg, amelynek transzkriptuma eltér a UP² kiszámításához használtól.
- A **PhenoGenius térkép** magyarázhatósági blokkja, színezett, ha a HPO-kifejezések kapcsolódnak a mintához. A blokk tartalmazza a gén rangját, a 10 leginkább kapcsolódó gén listáját és a PhenoGenius térképet, amely színekkel jelöli a beteg HPO-i és a gén közötti megfelelést: kék csak a beteg HPO-i esetén, lila a beteg HPO-i és a gén esetében, piros csak a gén HPO-i esetén. A szakasz szürkén jelenik meg, ha a beteghez nem adtak meg HPO-kifejezéseket.
- A **pontszámot növelő** szakasz 5 alfunkciót integrál, amelyek hozzájárulhatnak (Disabled) a pontszámhoz: átviteli mód, öröklődési kompatibilitás, családi mintázat, PanelApp és minőség-ellenőrzés.

ACMG. A fülön a felhasználók megtekinthetik és áttekinthetik az automatizált ACMG-osztályozás során alkalmazott kritériumokat. A kiválasztást módosíthatják a különböző szükséges kritériumok bejelölésével, majd az osztályozást felhasználva értékelhetik a variánst az „Értékeléshez használat” gombra kattintva. Lehetőség van a bizonyíték szintjének (*támogató, közepes, erős és nagyon erős*) módosítására is, hogy minden kritériumhoz különböző pontszámot rendeljenek, amelyet figyelembe vesznek a végső ACMG-pontszám kiszámításakor. Az egyes bizonyítékok szintjei a következő pontszámokat eredményezik: 1 pont a *támogató*, 2 pont a *mérsékelt*, 4 pont az *erős* és 8 pont a *nagyon erős* bizonyítékok esetében. Az egyes kritériumok pontszámait összeadják, hogy ACMG státuszt rendeljenek a variánshoz:

- *Patogén*: 10 pont
- *Valószínűleg patogén*: 9–6 pont
- *Bizonytalan jelentőségű*: 5–0 pont
- *Valószínűleg jóindulatú*: -6–1 pont
- *Jóindulatú*: -7 ponttól

A BA1 kritérium esetében a felhasználó nem választhatja ki a bizonyíték szintjét, mivel ez egy önálló osztály.

TP53 protein coding

NM_000546.6 c.1083del p.S362AfsTer8 ● Frameshift

sample
GT / VAF ☐ 1.25%
COV / QA 319 34

1 2 3 4 5 Add a manual comment about this variant (will be shown in the output report) ... Add comment Cancel

Variant **ACMG** TP53 Compermed Evidences Evaluations **New** Occurrences **6** Scores IGV Gene

☒ Use ClinGen point-based system Use for evaluation

Predicted:
Likely Pathogenic

Automatic tags: **PVS1** | Strong **PM2** | Moderate **PP5** | Moderate

First level tags: No selected tags.

Second level tags: No selected tags.

Tags that do not apply: No selected tags.

Automatic tags (3 / 3)
These tags are automatically selected.

☒ **PVS1** Strong Strong ⓘ

Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease
Non-sense or frameshift variant, NOT predicted to undergo NMD, but truncated region is critical to protein function (11 non-truncating pathogenic variants found in Clinvar).

19. ábra: Az ACMG fül megjelenítése a variáns oldalon

TP53. A fül csak akkor érhető el, ha a variáns a TP53 génre van annotálva. Ez a fül az IARC²⁵ adatbázis szerint információkat nyújt a TP53 mutációkról és azok klinikai jelentőségéről. A TP53 fül több blokkra van felosztva, amelyeket az alábbiakban ismertetünk.

A megjegyzésblokk (*Annotations*) a variánssal kapcsolatos következő információkat jeleníti meg:

- Mutációs arány: a variáns pozíciójához kapcsolódó szubsztitúciós arány
- Hotspot (igen/nem): a variáns jelenléte egy visszatérő mutációs helyszínen (hotspot)
- Szerkezeti motívum: a mutáció által érintett szerkezeti motívum
- Domain: a mutáció által érintett fehérje funkcionális doménje

A Funkcionális adatok blokk a variánssal kapcsolatos osztályozásokat és funkcionális információkat jeleníti meg:

- DNE osztály: domináns negatív hatás (DNE) a vad típusú p53 fehérje transzaktivációjára
- DNElof osztály: funkcionális osztályozás a növekedés gátlásának és a negatív domináns aktivitások elvesztése esetén

²⁵ <https://tp53.cancer.gov/>

- Transzaktivációs osztály: globális transzkripció aktivitás (TA) alapján történő funkcionális osztályozás
- Szerkezet-funkció osztály: funkcionális előrejelzések.

A „Grafikonok” és „Mintaadatok” blokkok az IARC adatbázisban a variánsra hivatkozott minták részleteit tartalmazzák. A felhasználó a „Szomatikus” vagy „Csírasejt” opció kiválasztásával dönthet úgy, hogy a szomatikus vagy a csírasejt mintákhoz kapcsolódó adatokat szeretné megtekinteni.

A „Grafikonok” blokk két grafikont jelenít meg legördülő menüvel, amelyek a minták jellemzői szerinti eloszlását mutatják.

A „Mintaadatok” blokk táblázatos formában jeleníti meg a minták részletes adatait.

[ComPerMed](#). (csak szomatikus elemzés). Az egyes variánsok patogenitási osztályát a belga ComPerMed (Commission for Personalized Medicine) szakértői bizottság ajánlásai alapján számítják ki. A felhasználó a variáns oldalán található külön fülön keresztül férhet hozzá a besorolás részletes információihoz.

[Evidences \(Bizonyítékok\)](#). A fül a JaxCKB adatbázisból kiválasztott variánshoz kapcsolódó terápiák listáját tartalmazza. A felhasználó lefelé görgetve minden sorban megtalálja a terápiák vagy indikációk részleteit.

BRCA2
protein coding

NM_000059.4
c.1310_1313del
p.K437IfsTer22
frameshift

sample

GT / VAF
43.7%

COV / QA
126 29

1

2

3

4

5

Add a manual comment about this variant (will be shown in the output report) ...

Add comment
Cancel

Variant
ACMG
Compermed
Evidences
Evaluations
New
Occurrences
Scores
IGV
Gene

The following information is provided for informational purposes only

Actionable
25

Prognostic & Diagnostic
0

Risk factor & emerging

Therapy	Tier	Response	Indication
Olaparib	IA	Sensitive	Breast cancer Her2-receptor negative breast cancer FDA +6
Evidence type Actionable Molecular profile BRCA2 inact mut Approval N/A Drugs Olaparib (PARP Inhibitor (Pan)) Description Lynparza (olaparib) is included in guidelines as systemic treatment for patients with recurrent or metastatic breast cancer harboring BRCA1/2 germline mutations (NCCN.org).			
Rucaparib	IA	Sensitive	Ovarian cancer FDA Prostate cancer FDA +3

20. ábra: A Bizonyítékok fül megjelenítése a variáns oldalon

Evaluations (Értékelések). Ez a fül hozzáférést biztosít a variáns értékeléseinek és értelmezéseinek időbeli alakulásához:

- A jelenlegi elemzésben (a fül bal oldala)
- A csoporton belül elvégzett egyéb elemzésekben (a fül jobb oldala)

Occurrences (Előfordulások). Ez a fül felsorolja az összes többi mintát, amelyben a variáns jelen van, az értékelési eredmények figyelembevétel nélkül. Minden egyes esetben a következő információk szerepelnek: a minta neve, az allél gyakorisága, a megfelelő elemzésre mutató link és a projekt neve.

Publications (Publikációk). Ez a fül hozzáférést biztosít a variánshoz és a génhez kapcsolódó tudományos irodalomhoz. Kattintson a "Variant" (Variáns) vagy a "Gene" (Gén) alfültre a variánusra vagy a génre hivatkozó PubMed publikációk megtekintéséhez. A PMID link átírnyít a PubMed bejegyzésre, a teljes szöveg linkje pedig megnyitja a teljes cikket, ha elérhető.

Scores (Pontszámok). A fül a missense, start lost vagy stop gained hatásokkal rendelkező variánsok esetében érhető el. Ezen esetek kivételével a pontszám szürkén jelenik meg. Ez a fül lehetővé teszi több eszköz, például a *REVEL*, *DANN*, *FATHMM*, *FATHMM-MLK*, *LRT*, *MetaLR*, *MetaSVM*, *MutationTaster 2*, *PROVEAN*, *SIFT* és *PLi* predikciós pontszámainak eredményeinek megtekintését. Emellett hozzáférést biztosít olyan konzervációs pontszámokhoz is, mint a *GERP++*, *PhastCons100way Vertebrate*, *PhastCons20way Mammalian*, *PhyloP100way Vertebrate*, *PhyloP20way Mammalian* és *SiPHhy*.

IGV. Ez a fül lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy az IGV Genom Böngésző webes verzióján keresztül megtekintse a variáns pozíciójához igazított olvasmányokat. A magas olvasási lefedettségű területeken az olvasmányok alapértelmezés szerint alulmintázottak, azaz nem minden olvasmány jelenik meg. Az alapértelmezett megjelenítési paraméterek kerülnek alkalmazásra, azaz maximum 100 olvasat 50 nukleotid ablakonként. Ezek a régiók a lefedettségi profil alatt található fekete vonallal azonosíthatók (lecsökkentett mintavétel). Ha rákattint, megjelenik a kijelzőről eltávolított olvasatok száma (# lecsökkentett). Az ikonról

elérhető menü  három lehetőséget kínál:

- *Open in new tab* (Új lapon megnyitás): az IGV variáns nézetét új lapon nyitja meg.
- *Track setting* (Nyomkövetési beállítás): lehetővé teszi, hogy ugyanabból vagy más projektekből származó további mintákat adjon hozzá a nézethez.
- *Open local IGV (Helyi IGV megnyitása)*: átirányítja az IGV Desktop alkalmazást a jelenleg értelmezett variáns koordinátáira. Az SNV-k vagy más variánsok megtekintéséhez először be kell tölteni a minta BAM-ját az IGV Desktop alkalmazásba. Ez az opció csak az IGV Desktop 17-es vagy annál újabb verzióival kompatibilis.

Az IGV támogatja az osztott nézeteket, például két koordinátakészletet másolva a lókuszkereső sávba, szóközzel elválasztva. Különböző beállítások érhetők el a Genom böngésző jobb oldalán található fogaskerekre kattintva. Például az igazítatlan olvasmányok (soft clips) közvetlen megtekintéséhez válassza a „Show soft clips” opciót.

Gene (Gén). A fül további információkat tartalmaz a génről és a kapcsolódó bibliográfiáról.

Klinikai jelentés létrehozása

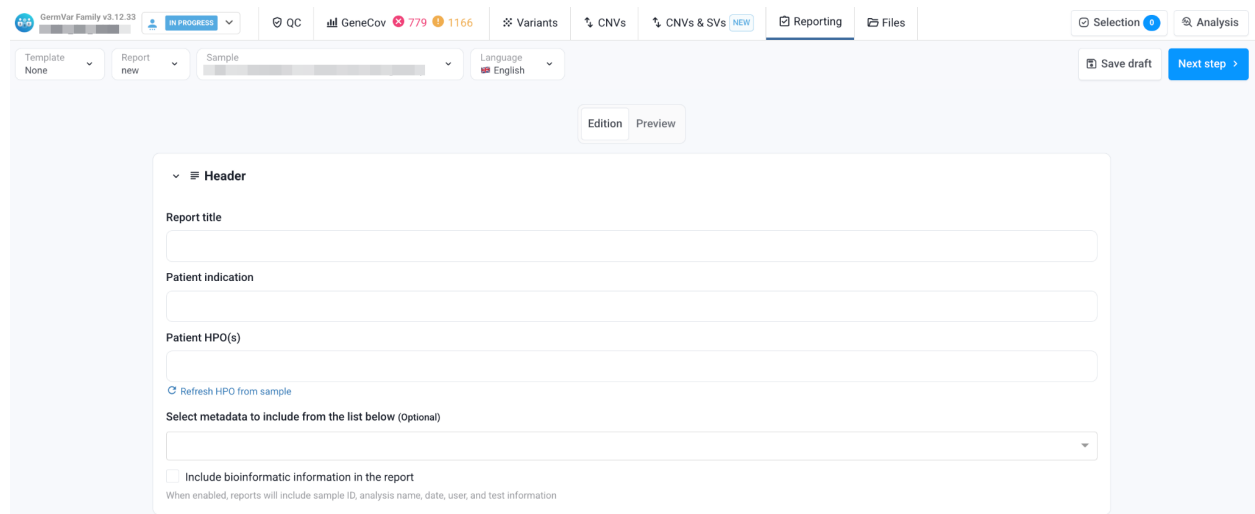
A felhasználó szerkeszthet egy exportálható klinikai jelentést PDF és .docx formátumban, ha az elemzésben való navigálás közben a "Selection" (Kiválasztás) fülön a "Generate report" (Jelentés generálása) gombra kattint.

A szerkesztési oldal tetején a felhasználó kiválaszthat egy sablont, beállíthatja a jelentés állapotát újra vagy piszkozatra, kiválaszthat egy mintát (családi elemzésekhez több minta is kiválasztható), és kiválaszthatja a szerkesztés nyelvét. A felhasználó a piszkozat mentése vagy a következő lépésre lépés előtt válthat az "Edition" (Szerkesztés) nézet és a "Preview" (Előnézet) nézet között is a "Save Draft" és a "Next Step" gombok használatával.

A jelentéssablonok a "Reporting" szakaszban hozhatók létre, a "Template list" alatt az entitás beállításában (Entity settings).

A szerkesztés nézetben a felhasználó szerkesztheti a jelentés különböző szakaszait, és több lehetőséget is kiválaszthat. Az előnézet nézetben a felhasználó áttekintheti a jelentést a szerkesztés folytatása, a piszkozat mentése vagy a jelentés érvényesítése előtt.

A felhasználó elmenthet egy piszkozatot, és újra hozzáférhet a "Selection" fülről, majd a "Generate report" gombra kattintva, akár csak egy új jelentés létrehozásakor. Amikor egy PDF jelentés létrejön, az automatikusan megjelenik az elemzés "Reporting" (Jelentések) fülén. A jelentés csak az érvényesítés után exportálható .PDF vagy .DOCX formátumban. A felhasználó törölheti a jelentést, vagy további jelentéseket hozhat létre ugyanahhoz az elemzéshez.



21. ábra: A klinikai jelentés lapjának megtekintése.

13.1.5. CNV

13.1.5.1. CNV génpanelekben

Módszertan

A génpanel-adatokban, a GermlineVar, GermVar/GermVar Family, SomaVar és SomaHemato programokban a CNV-k kimutatása a közös elemzésben részt vevő kohorszból a korrelációjuk alapján kiválasztott kontrollmintákra épül.

A korrelációt egy lefedettségi táblázatból számítják ki, amelyet viszont a manifesztumban szereplő összes régióból számítanak ki, kivéve a nemi kromoszómákat.

A CNV-elemzésre alkalmas mintákra vonatkozó kritériumok a következők:

- Ahhoz, hogy egy régiót megtartsanak a CNV-elemzésben, a minimális lefedettség 50 olvasat.
- A kontrollminták kiválasztásának küszöbérték-korrelációja 0,90 a csírasejtek esetében és 0,75 a szomatikus sejtek esetében.
- Minden mintához legalább hat kontrollra van szükség.

A minták nemét (minta metaadatok) meg kell határozni a CNVcapture vagy a SomaCNVCapture elindítása előtt, hogy elvégezhessek a nemi kromoszómákon lokalizált gének azonosítását. Végül, legalább nyolc minta szükséges a CNVcapture vagy a SomaCNVCapture elemzés elvégzéséhez a SeqOne-on.

A panelgének CNV-elemzésre való alkalmasságának felhasználói manifesztumára alkalmazott kritériumok a következők:

- a manifeszt régiókat az NCBI MANE Select forrás alapján meghatározott kanonikus transzkriptumokból annotálják. Ha MANE Select transzkriptum nem áll rendelkezésre, az annotáció az NCBI RefSeq forráson alapul.
- csak azok az exonok kerülnek elemzésre, amelyeknél a manifeszt intervallum és az exon között $\geq 80\%$ átfedés van. Ha egyetlen gén exonja sem fedi át $\geq 80\%$ -ban a manifeszt intervallumot, akkor a gén nem kerül be a CNV-elemzésbe.
- csak azok az intronok kerülnek elemzésre, amelyeknél a manifeszt intervallum és az intron között $\geq 60\%$ átfedés van.

A CNVcapture elemzés (2.4 vagy újabb verzió) magában foglalja a manifeszt által lefedett gének 20 kb-os upstream és downstream régióit, ha ezek a régiók szerepelnek a manifeszt tervezésében. Konkrétan, a 20 kb-os régiót alkotó 20 db 1 kb-os szegmens mindegyikét elemezzük, ha a szegmens legalább 20%-a átfedi a kezdeti manifesztet.

Megtekintés és értelmezés

A CNV-k fülön megjelenik egy táblázat, amely tartalmazza a másolatváltozásokkal rendelkező gének listáját. Ez a fül a fenti Módszertan szakaszban leírt munkakészletekben érhető el.

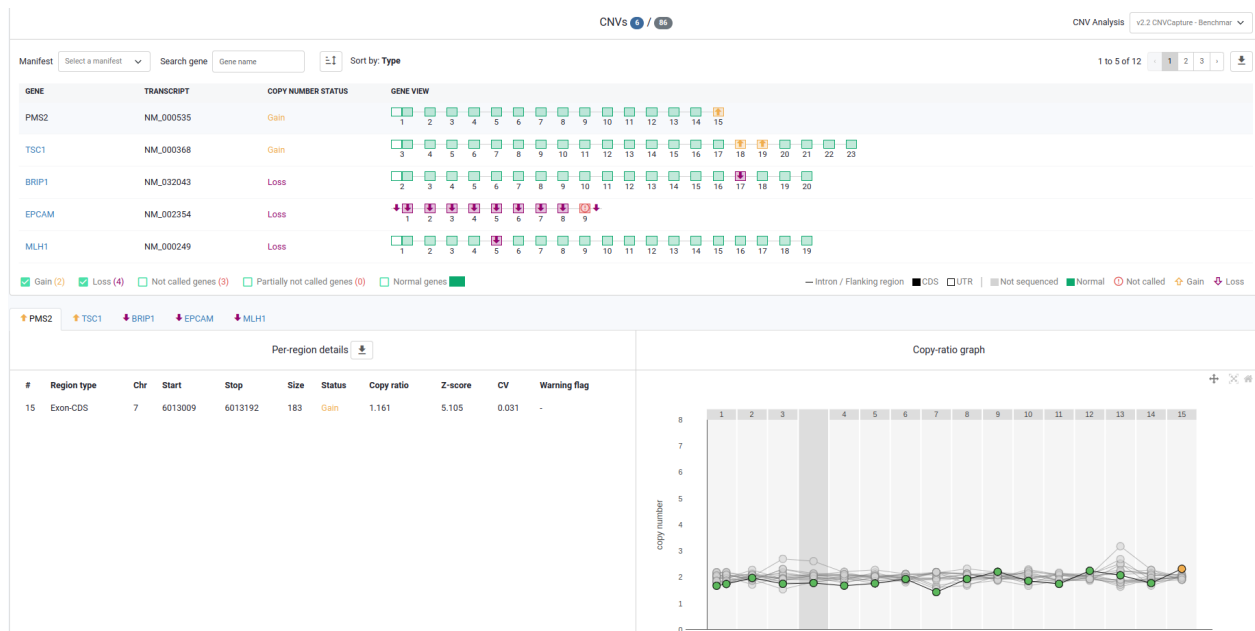
A megjelölt gének állapotának leírására a következő terminológia használatos:

- Növekedés: a gén részleges vagy teljes amplifikációval érintett
- Loss (veszteség): a gén részleges vagy teljes delécióval hordoz
- Normális: a gén nem hordoz CNV-t
- Részben nem azonosított: a gén részben azonosított
- Nem azonosított: a gén kizárt a CNV-elemzésből

A részlegesen nem azonosított státuszt akkor kapja meg egy gén, ha másolatának státusza normális, de legalább egy exonja nem lett azonosítva (a „sikertelen” státusszal).

Annak ellenére, hogy alkalmas a CNV-elemzésre, egy gén kizárásra kerül (nem azonosított) az elemzésből, ha:

- a gén nemi kromoszómán található, és a nemre vonatkozó metaadatok nincsenek kitöltve,
- az összes exon nem felel meg az alábbi kritériumoknak: kontrollok száma, variáció százalékos aránya. A gén „sikertelen” státusza csak a CDS-en van meghatározva. Az intronikus és upstream/downstream régiók kizárásra kerülnek, ha a CDS exonok azonosítva vannak.



22. ábra: A CNV-k fül megjelenítése egy GermlineVar elemzésben.

Szűrők és rendezési lehetőségek

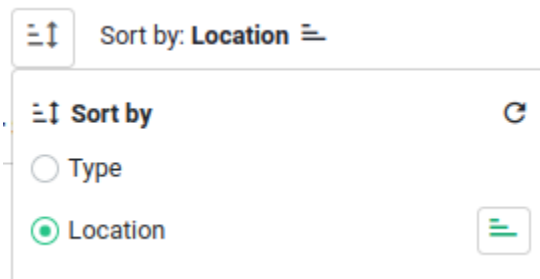
A szűrő menü a következőkre használható:

- A megjelenítés korlátozása egy régiók/gének részhalmazára egy BED fájl segítségével, amelyet korábban a „Manifest” funkcióval töltött fel a felületre
- Egy adott gén keresése a „Search gene” funkcióval

Két CNV-rendezési lehetőség áll rendelkezésre:

- **Típus** (alapértelmezett): jelenlegi rendezési logika (növekedés, majd csökkenés)
- **Hely:** a CNV-k kromoszómák és kezdőpozíciójuk szerint történő rendezésére szolgál, növekvő vagy csökkenő sorrendben, a

rendezés ikonra kattintva



A felhasználó a géneket állapotuk szerint is kiválaszthatja: Növekedés, Csökkenés, Normál gének, Részben nem azonosított gének vagy Nem azonosított gének.

☒ Gain (0) ☒ Loss (0) ☐ Not called genes (69) ☐ Partially not called genes (0) ☐ Normal genes

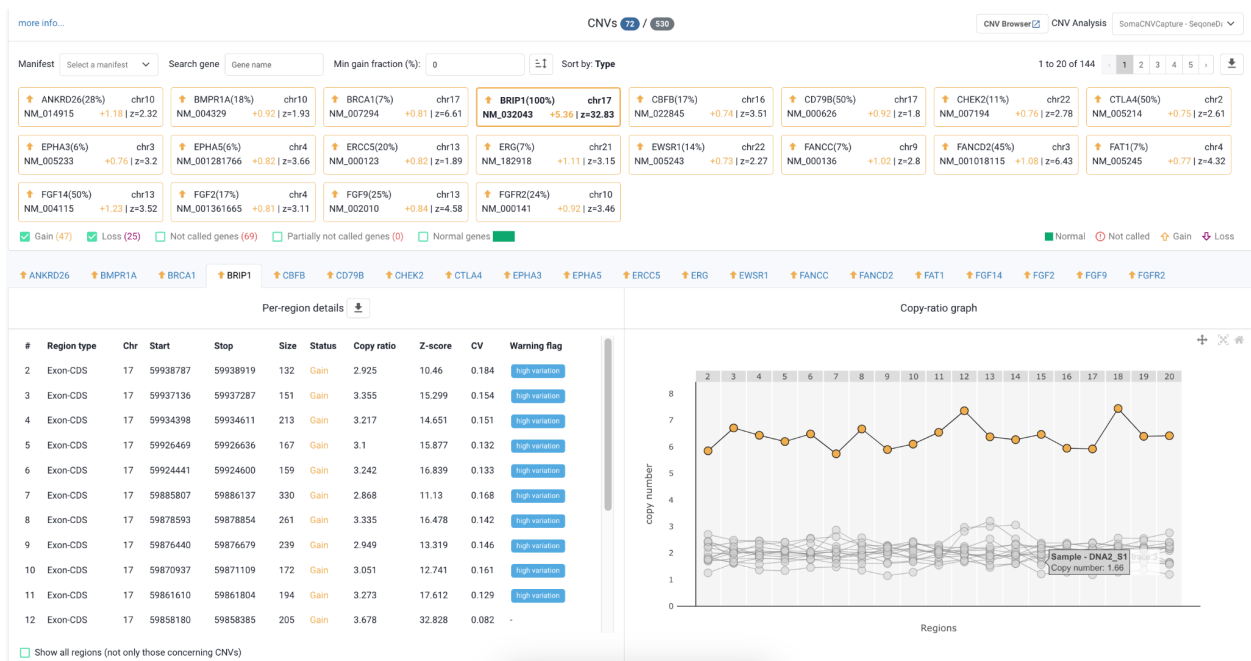
Részletek régióként

A Régiókénti részletek táblázat az egyes gének minden régióra vonatkozó részleteit mutatja:

- **#:** régió száma (exonok és intronok)
- **Régiótípus:** a régió típusa (upstream, utr-exonic, coding-exonic, intronic, downstream)
- **Chr:** kromoszóma
- **Start/Stop:** CNV kezdő és végpozíció
- **Méret:** CNV mérete (bp)
- **Állapot:** régió állapota (növekedés = duplikáció, veszteség = deléció, normális = nincs CNV, nem nevezett = a régió nem szerepelt a CNV-elemzésben)
- **Másolási arány:** a másolatok számának aránya a normálishoz képest (n=2).
- **Z-pontszám:** az eredményt az átlagtól elválasztó standard eltérések száma. A magas pozitív vagy negatív értékek a CNV-meghatározás nagyfokú megbízhatóságát jelzik.
- **CV:** a kohort minták közötti relatív szórást mérő variációs együttható.
- **Figyelmeztető jelzés:** A következő kritériumok alapján esetenként hibaüzenet jelenhet meg:
 - **Alacsony z-pontszám:** Z-pontszám abszolút értéke <4
 - **Magas variáció:** variációs együttható (CV) > 0,1
 - **Alacsony lefedettség:** a minta régiólefedettsége <100

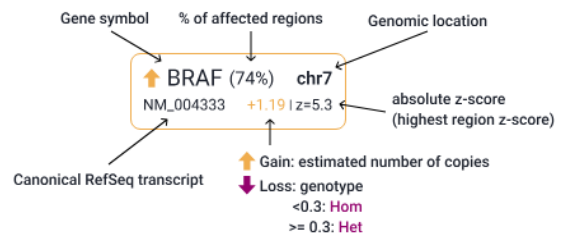
- **Kontrollok száma:** A kontrollok száma nem elegendő ahhoz, hogy elvégezhessük a régió azonosítását
- **Változékonyság százalékos aránya:** A minták közötti változékonyság túl nagy ahhoz, hogy a régióban el lehessen végezni a hívást
- **Olvasási mélység:** elégtelen régiólefedettség (<50) és másolási arány >0,1
- **Hiányzó nem:** a régió egy nemi kromoszómán található, és a nemre vonatkozó metaadatok nem lettek megadva.

Figyelmeztetés: a puha klipekben gazdag régiók, például nagy indelek vagy Alu-beillesztések, a CNVCapture és SomaCNVCapture munkakörökben lefedettségcsökkenésként értelmezhetők, és másolatvesztésként észlelhetők, ha a beillesztés mérete megegyezik a hívott régió méretével.



23. ábra: A CNV-k fül megjelenítése egy SomaVar-elemzésben

SomaCNVCapture elemzések esetén, bár az észlelési módszer hasonló a CNVCapture-éhez, a variánsok grafikus ábrázolásához használt skála a gén, nem pedig az exon. Az ábrázolás egy sor dobozként jelenik meg. Ez tartalmazza a gén szimbólumát, a genomikus pozíciót, a kanonikus Refseq transzkriptumot, az abszolút z-pontszámot, valamint nyereség esetén a másolat számát, vagy vesztesség esetén a genotípust.



Ezeket a dobozokat magyarázó felugró ablak a szűrők felett, a „további információk...” részben érhető el.

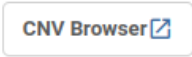
Az egyes dobozokban megjelenített százalékos érték a génnek a detektált CNV által érintett részét (*minimális nyereség arány*) tükrözi. A darabarány a eredmények szűrésére használható. Alapértelmezés szerint a szűrő 0%-ra van beállítva, és csak a másolatok nyereségére vonatkozik.

Az ezen folyamat során észlelt deléciók nem tartoznak a szűrő hatálya alá, ezért azokat óvatosan kell értelmezni. Valójában ez az eszköz génmásolatok variációinak észlelési képessége a minta jellegétől és minőségétől, különösen a tumor frakciótól függ.

Figyelem: Ha ugyanazon génen amplifikációt és deléciót is észlelnek, a gén alapértelmezés szerint amplifikáltnak minősül, és ezért a fent leírt minimális nyereséghányad szűrő hatálya alá tartozik.

CNV böngésző

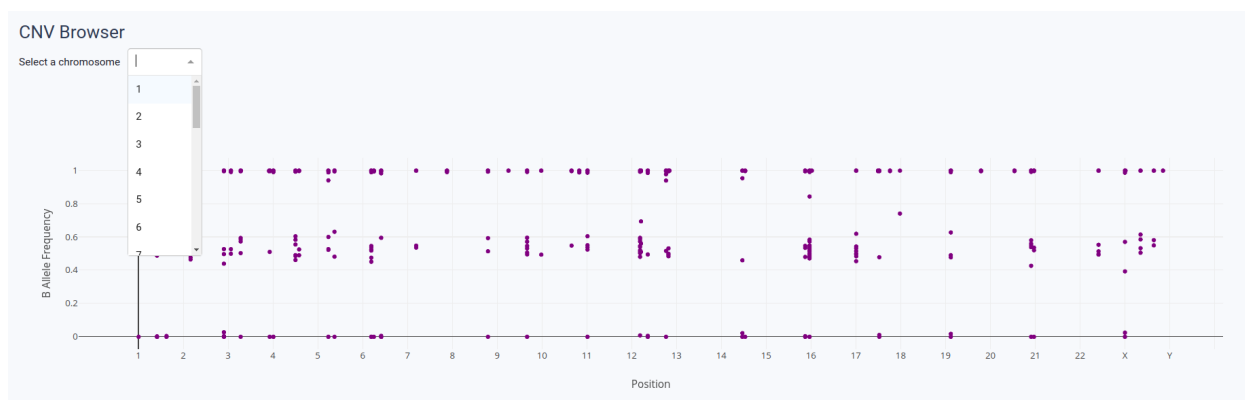
A GermlineVar, GermlineFamily, SomaVar vagy SomaHemato elemzések CNV megjelenítési

lapján található ikon () segítségével új lapon nyitható meg a CNV böngésző. A CNV böngésző grafikonja megjeleníti az SNP-k (egynukleotid-polimorfizmusok) B allélfrekvenciáját (BAF) az elemzett minta manifesztumában és az Illumina SNP-tömbökből, valamint más alapokból, például az Agilent OneSeq-ből származó SNP-k adatkészletében, hogy megkönnyítse bizonyos típusú események, például a LoH (heterozigóta veszteség) vizualizálását.

A BAF a nem referenciális allél (B allél) gyakorisága, amelyet egy csírasejt-heterozigóta SNP esetében figyelték meg.

Alapértelmezés szerint a grafikon a variánsok BAF-ját (y-tengely) ábrázolja a teljes genomon (x-tengely), kromoszómák szerint bontva (1-22, X és Y). Egy szűrő segítségével a felhasználó a bal felső sarokban megjelenítheti az adott kromoszómán található variánsokat.

A CNV-elemzések kontextusában ez a BAF-információ felhasználható az allélspecifikus másolatok számának változásának, a heterozigóta elvesztésének vagy az allél egyensúlyhiányának megjelenítésére.



24. ábra: A CNV böngésző fül megjelenítése egy GermlineVar elemzésben.

CNV-adatok exportálása

A jobb felső sarokban található ikon () segítségével a CNV-elemzési adatok .tsv fájl formátumban exportálhatók, amely a következő oszlopokat tartalmazza:

- gén (gén_név),
- RefSeq transzkript (refseq_id),
- gén státusza (status),
- kromoszóma (chr),
- a CNV genomikus koordinátái: kezdő és végpozíciók,
- a CNV által érintett gén aránya (gene_fraction_cnv),
- a másolatok számának aránya (copy_ratio) a normálshoz képest (n=2),
- az eredményt az átlagtól elválasztó standard eltérések száma (zscore)
- a CNV-vel átfedésben lévő exonok száma (exons), CNVCapture elemzés esetén.

Minden gén esetében a „Per-region details” (Régiónkénti részletek) mellett található ikon () segítségével a kiválasztott gén CNV-elemzési adatait .tsv fájl formátumban lehet exportálni, amely a következő mezőket tartalmazza:

- gén (gene_name),
- kromoszóma (chr),
- genomiális koordináták: kezdő és végpozíciók,
- exon vagy intron szám (exon_intron_number),
- állapot,
- típus (exon vagy intron, típus),
- kapcsolódó hibaüzenetek (warning_flags, fail_flags),
- kiigazított kritikus valószínűségi érték (padj),
- kritikus valószínűségi érték (pvalue),
- a másolatok számának aránya a normálshoz képest (arány),
- a minták közötti relatív szóródás mértéke (variability),
- az eredmény szórása az átlagtól (zscore)

13.1.5.2. CNV a SomaCGP és SomaLBx elemzésben

Módszertan

A SomaCGP és a SomaLBx a PureCN²⁶ alkalmazást használja a CNV-k és a LOH-k (heterozigóta veszteség) kimutatására. A PureCN a variánsdetektálási adatokból azonosítja a szomatikus variánsokat a minta ploiditásának és tumor tisztaságának értékelése érdekében. Ez az információ az egyes események másolatainak számának meghatározásához használatos.

Vizualizálás és értelmezés

A SomaVar Tertiary elemzés CNV-megjelenítési lapja ugyanúgy működik, mint a SomaCGP és a SomaLBx esetében, az alábbiakban leírtak szerint.

A CNV-k szűrhető táblázatban jelennek meg. Minden CNV a következő információkat jeleníti meg:

- **Gén:** gén neve
- **Hely:** citoszómás sáv
- **Esemény koordinátái / Esemény mérete:** esemény koordinátái és mérete
- **Transzkript:** referencia transzkript
- **Exonok:** érintett exonok
- **Típus:** esemény típusa (LoH, veszteség vagy nyereség)
- **Másolatok száma:** másolatok abszolút száma
- **Funkció:** génfunkció, ha alkalmazható, onkogén vagy tumor szupresszor gén (TSG)

A felhasználó egy keresőmező segítségével kereshet egy adott gént érintő CNV-ket, és a „Show genes in LOH regions” (Gének megjelenítése LOH régiókban) jelölőnégyzet bejelölésével kiválaszthatja, hogy a LOH régiókban jelen lévő géneket is megjeleníti-e. Az eredménytáblázat a jobb felső sarokban található letöltés ikon segítségével exportálható.

 CNV Browser

A „ ” ikon egy új lapon megnyitja a CNV böngészőt. Ez a lap egy grafikont jelenít meg, amely az elemzett mintában található SNP-k B allélfrekvenciáját (BAF) és a kiválasztott publikációkból származó LOH SNP-ket, valamint a OneSeq Agilent gerincet mutatja. A második grafikon a PureCN által generált logRatio adatokat ábrázolja. További részletek a „CNV: Gene Panels” (CNV: génpanelek) részben található a CNV böngésző alatt.

²⁶ <https://github.com/lima1/PureCN>

13.1.5.3. CNV az exomokban és genomokban

Az exom adatok CNV-megjelenítési lapja a GermlineVar, GermlineFamily, GermVar és GermVar Family elemzésekben érhető el, ha FASTQ fájlokat használunk elsődleges bemenetként, és CNVExome elemzést futtatunk. Ez a lap a GermVar és GermVar Family elemzésekben a FASTQ fájlokat használó genom adatok CNV-eredményeit is megjeleníti, valamint a GermVar Tertiary és GermVar Tertiary Family elemzésekben a VCF fájlokat vagy CGH mikroszkópikus adatait használókat is.

Az exom módszertana

Ez a módszertan kifejezetten a CNVExome eszközre vonatkozik. Csakúgy, mint a génpanel-adatokon végzett CNV-elemzési folyamatok, a variánsok azonosítása ebben az esetben is a lefedettség mélységének elemzésén alapul. A [GATK GermlineCNVCaller](#) eszközzel végzett CNVExome-elemzés azonban egyedi, mivel minden mintát összehasonlítottunk a SeqOne által számított HHMM (*Hierarchical Hidden Markov Model*) modellel.

A minták előkészítése során felmerülő technikai eltéréseket figyelembe véve ez a modell egy nagy, egytől több százig terjedő mintakörre épül, amelyet a laboratórium a következő módszerekkel szekvenált:

- Ugyanazt a könyvtár-előkészítési protokollt
- Ugyanazt a befogókészletet
- Ugyanazt a szekvenálási platformot és olvasási hosszúságot

Ezek a követelmények és a modell felállításához szükséges változó számú minta azzal magyarázható, hogy homogén lefedettségi szintet biztosító kohorszra van szükség. Számos tényezőt kell figyelembe venni, például a szekvenálási mélységet, a kohorsz belüli variabilitás mértékét és a mintaelőkészítési protokollok reprodukálhatóságát.

A CNVExome elemzés megkezdése előtt ki kell tölteni a nemre vonatkozó metaadatokat (lásd: **Minta metaadatok**), hogy lehetővé váljon a nemi kromoszómák ploiditásának ellenőrzése. Ha ez nem történik meg, a CNV megjelenítő felületén „Ploidy” figyelmeztető üzenet jelenik meg.

Korlátozás: A GATK GermlineCNVCaller dokumentációja azt javasolja, hogy a PAR (PseudoAutosomal Regions) régiókat, azaz a PAR1 és PAR2 régiókat zárjuk ki, ha azok aránya a teljes X kromoszóma lefedettségéhez képest aránytalan. Valójában a SeqOne által számított számos modell esetében nehéz kiszámítani a ploiditást a PAR régióknak megfelelő X kromoszóma végein. Ennek eredményeként a ploidia nem kerül helyesen kiszámításra ezekben a régiókban, amelyek mesterségesen 1 példányban kerülnek kimutatásra, míg a teljes X kromoszóma 2 példányban kerül kimutatásra.

A felhasználók a support@seqone.com címen vehetik fel a kapcsolatot a felhasználói támogató csapattal, hogy többet megtudjanak a CNVExome csoportjukban történő beállításának eljárásáról.

A genom módszertana

A v3.6-ig terjedő verziókban a GermVar és GermVar Family genomadatokon végzett elemzések a Sentieon CNVScope²⁷ eszközt integrálják a CNV-detektáláshoz. A v3.7-es verziótól kezdve a GermVar és GermVar Family munkakörök a Cue²⁸ eszközt használják a genomadatokon végzett CNV-meghatározáshoz.

A szegmentális duplikációs adatokat a Sentieon's SegDup Caller segítségével detektálják, amelyet kifejezetten arra terveztek, hogy azonosítsa a kópiaszám-eseményeket az erősen homológ genomikai régiókban a WGS adatokon, kizárólag a GermVar használatával. Ez a hívó klinikailag releváns gének egy válogatott halmazát célozza meg, amelyekről ismert, hogy kihívást jelentenek a standard variánsdetektálási megközelítések számára. Az eredményül kapott események automatikusan integrálódnak az elemzési folyamatba, és a CNVs & SVs nézegetőben CNV-ként (nyereség és veszteség egyaránt) jelennek meg, lehetővé téve a variánsok azonosítását olyan genomikai régiókban, amelyek korábban hozzáférhetetlenek voltak a standard elemzés számára.

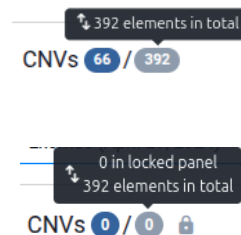
Megtekintés és értelmezés

A CNVExome, GermVar és GermVar Family, GermVar Tertiary vagy GermVar Tertiary Family elemzésekhez értelmezési felület áll rendelkezésre a **CNV** fülön. A felület két részre oszlik: bal oldalon a CNV eredménytáblázat, jobb oldalon pedig a részletes CNV oldal több füllel.

CNV eredménytáblázat

Az eredménytáblázat az azonosított CNV-ket jeleníti meg, valamint egy szűrőmenüt, amely a morbid OMIM génekben [<https://omim.org/>] való jelenlétük, méretük, a kohortban való előfordulásuk gyakorisága vagy a MicroArray CGH elemzés esetében a LogRatio alapján szűri őket.

A szűrt CNV-k száma (kiválasztott CNV-k) és az összes észlelt CNV száma (összes elem) a CNV-táblázat tetején jelenik meg.



²⁷ <https://support.sentieon.com/appnotes/cnvscope/>

²⁸ <https://github.com/PopicLab/cue>

A lakat ikon jelzi, hogy az elemzés korlátozott panelt használ, és a CNV-k részletei a kapcsolódó eszköztípekben jelennek meg.

Figyelmeztető üzenet jelenik meg (), ha rendellenes ploidia értéket észlelnek és/vagy ha a nemre vonatkozó metaadatokat (lásd: **Minta metaadatok**) nem töltötték ki az elemzés elindítása előtt.

A „Ploidia” ikonra kattintva a felhasználó megtekintheti az egyes kromoszómák ploidiját és a beteg nemét. A rendellenes értékek sárga színnel vannak kiemelve.

Sample

IntervalBasedReport

Bind NGS

Search Analysis name

CNVs 30 / 40

^ Filters

OMIM morbid only

☒

Size

min kb 0

max kb 10262,639

Sample frequency

min % 0

max % 100

Log Ratio

min for gain 0

max for loss 0

Probes

min # 1

max # 759

Gene list

In-silico Panel

Select a genes file

1 to 10 of 30

< 1 2 3 >

ACMG	VKB	Location	Size	Freq.	Type	LogRatio	# Probes
		3p26.3-p25.3	10.26 Mb	2.59%		-0.97	759
		Yp11.32-p11.31	2.53 Mb	2.59%		-0.35	289
		17q11.2	210.94 kb	2.59%		0.26	154

Sample

sampleD

CNV Analysis

CNVExome - sampleD (April 29, 2025)

Ploidy

CNVs 3 / 26

CNV Browser

^ Filters

OMIM morbid only

☒

Size

min kb 0

max kb 10000

Sample frequency

min % 0

max % 100

Gene Panel

Select panel

Genes

Search gene symbols

ACMG	VKB	Location	Size	Freq.	Type	QUAL	OMIM
		1p36.33	1.76 Mb	0.81%		19	
		Xp11.21	37.89 kb	0.81%		101	
		1p34.2	32.34 kb	0.81%		520	

25. ábra: Az észlelt CNV-k áttekintése és a CGH-elemzés (bal oldalon) és a standard elemzés (jobb oldalon) szűrőmenüje.

CGH MicroArray elemzés és SNP array (CGH+SNP) kombinációja esetén a CNV eredménytáblázatban jelentik a kimutatott heterozigóta veszteség (LOH) eseményeket. Ezek az események a másolat-semleges heterozigóta veszteségnek (CN-LOH) felelnek meg. Más szavakkal, a régió két másolatot őriz meg, de ezek azonosak, homozigóta SNP-k jelenlétével jellemezhetők.

CGH MicroArray elemzés esetén a „Bind NGS” legördülő menüből kiválasztható egy nem CGH SNV elemzés (GermlineVar, GermlineFamily, GermVar Tertiary és GermVar Tertiary Family) annak érdekében, hogy megjelenjenek a detektált CNV-vel átfedésben lévő variánsok.

Szűrők

Csak OMIM morbid. Ez a szűrő alapértelmezés szerint aktiválva van, hogy könnyen azonosíthatóak legyenek a klinikai géneket érintő CNV-k, amelyek NCBI azonosítójuk (NCBI gene_id) alapján, vagy ha ez nem lehetséges, a gén neve és szinonimái (gene_symbol és gene_synonyms) alapján OMIM Morbid jelöléssel vannak ellátva. Egyszerűen emelje fel ezt a szűrőt, hogy a mintában észlelt összes CNV megjelenjen.

Méret. A felhasználó a CNV-ket a várható méretük (kb-ban) szerint szűrheti.

Minta gyakoriság. A felhasználó a CNV-ket méretük és gyakoriságuk szerint szűrheti. Ez a gyakoriság a CNV előfordulásának arányát jelenti az elemzés dátumáig elemzett összes minta között, összehasonlítva ugyanazzal a modellel, beleértve a modell felépítéséhez használt mintákat is. A minta gyakorisága 95%-os átfedésen alapul, és ugyanazt a CNV-típust (növekedés/vesztés/deléción) veszi figyelembe. Ha az egérmutatót a százalékban megjelenített érték fölé viszi, a felhasználó láthatja a megfelelő hányadot. A gyakoriság frissítése az elemzés megnyitása után néhány percre tarthat.

Génpanel. Az in silico panelhez hasonlóan ez a szűrő lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy a legördülő menüből kiválasszon és alkalmazjon egy génlistát az elemzés során észlelt CNV-k szűrésére (lásd: **Felhasználói paraméterek kezelése**). Ez a szűrő nem érhető el, ha az elemzés kezelőpaneljének Panel fülén korlátozott panelt alkalmaztak az elemzésre (lásd: **Panel modális nézet** szakasz).

Gének. Lehetővé teszi a szűrővel kiválasztott géneket tartalmazó, észlelt CNV-k szűrését.

Log arány. A MicroArray CGH adatokon alapuló elemzések esetében az Agilent bemeneti fájlokban szereplő logaritmikus arány (a nyers jel és a kontrolljel között) egy további oszlopban jelenik meg. A kapcsolódó szűrő lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy kiválassza a másolatok növekedésének minimális értékeit (minimális növekedés) és a másolatok törlésének maximális értékeit (maximális vesztés). A LoH (heterozigóta vesztés) események akkor is megmaradnak, ha ezt a szűrőt alkalmazták.

#Probes. A CGH MicroArray adatokon alapuló elemzések esetében a #Probes oszlop jelzi az egyes régiókban (exonikus, intergenikus vagy intronikus) használt próbák számát. Ezek az értékek az IntervalBasedReport.xls bemeneti fájlból származnak, és a kapcsolódó szűrő lehetővé teszi a felhasználó számára a használt próbák minimális és maximális számának kiválasztását. Kombinált CGH+SNP elemzés esetén a próbák száma a LOH régióban található homozigóta SNP-k számát jelzi.

CNV-rendezés

A CNV-k listája ACMG patogenitási osztály (ACMG), genomikus pozíció (Location), méret (Size), minta gyakoriság (Freq.), másolatok száma (Type), minőségi pontszám (QUAL) szerint is rendezhető a GermVar Tertiary-ban, valamint LogRatio szerint a CGH MicroArray-ban (LogRatio).

ACMG. Az egyes variánsok patogenitási osztályát félig automatikusan számolják ki az *American College of Medical Genetics and Genomics* ajánlásai alapján. A patogenitási osztály az alapértelmezett rendezési mód a CNV táblázatban.

A CGH MicroArray-ban a LoH (heterozigóta veszteség) események mindig a 3. osztályba (VUS) kerülnek besorolásra.

Típus (másolatok száma). Az autoszomális kromoszómákon (1–22) észlelt CNV-k esetében a másolatok számának változása (pl.: +2, -1, +3) jelenik meg, mivel a másolatok száma alapértelmezés szerint 2.

Azonban a gonoszómákon (X és Y nemi kromoszómák) észlelt CNV-k esetében az abszolút másolatok száma (pl.: 0, 1, 2) jelenik meg, és nem a szorzóváltozás.

A génpanel-elemzéssel ellentétben a nemhez kapcsolódó minta-metaadatok nem szükségesek a nemi kromoszómák exom CNV-meghatározásához.

A kombinált CGH+SNP elemzések esetében a két másolatot megtartó CN-LOH események a Típus oszlopban a **LOH** jelöléssel vannak feltüntetve.

QUAL. A Phred minőségi pontszámot a CNVExome-ban a GATK caller számítja ki. Ha egy CNV több genomikus intervallumból áll, akkor a CNV-hez az összes intervallum közül a legmagasabb QUAL pontszámot rendelik hozzá. A tercier elemzések esetében a megjelenített QUAL pontszám a bemeneti VCF fájlból (DRAGEN vagy ONT) származik.

CNV böngésző

Az ikon egy új lapon megnyitja a CNV böngészőt, amely megjeleníti az elemzett mintában jelen lévő SNP-k (egynukleotid-polimorfizmusok) B allélfrekvenciáját (BAF). A grafikon leírása az előző szakaszban található (CNV: Génpanelek, a CNV böngésző alatt).

Részletes CNV oldal

CNV összefoglaló. Ez az első lap rengeteg információt és megjegyzést tartalmaz a kiválasztott CNV-ről, többek között:

- Az automatikus ACMG osztályozás részletei
- A variáns által érintett intervallumban található klinikai régiók és gének. A klinikai régiók megjegyzései a [ClinGen](#) és [OMIM](#) adatbázisokon alapulnak. Alapértelmezés szerint csak

az OMIM Morbid megjegyzéssel ellátott klinikai gének jelennek meg. Az összes klinikai gén megjelenítéséhez a felhasználó aktiválhatja az oldal jobb oldalán található „Minden gén megjelenítése” funkciót.

- Az észlelt CNV és a [DGV](#) adatbázis közötti átfedések.
- A CNV által érintett génekben észlelt kis variánsok (SNV-k és indelek). Alapértelmezés szerint a SeqOne-diag szűrő aktiválva van. A szűrő deaktiválásához kattintson a SeqOne-diag gombra, és törölje a SeqOne-diag jelölését a szűrőprofilok közül. Az összes variáns megjelenítéséhez a felhasználók aktiválhatják az oldal jobb oldalán található „Minden variáns megjelenítése” funkciót.
- Külön szakasz a variánsok tudásbázisának (VKB) számára, amelynek célja a csoportban már validált, 95% feletti azonosságú variánsok és azok értékeléseinek azonosítása.

ACMG Classification (Automatic) ⓘ
Likely Pathogenic (+0.9)

Genomic content
1A 0

Genes or Genomic regions
2C,1 +0.9

Gene number
3A 0

Literature and databases
No selected tags, only 40 is assessed.

Inheritance patterns
Not assessed

Clinical regions

Region name	Overlap	Link	Description
CHROMOSOME 16p13.3 DELETION SYNDROME, PROXIMAL	0.29%	OMIM	
CHROMOSOME 16p13.3 DUPLICATION SYNDROME	0.29%	OMIM	
ALPHA-THALASSEMIA/IMPAIRED INTELLECTUAL DEVELOPMENT SYNDROME, DELETION TYPE	0.29%	OMIM	

Clinical genes
Show all genes

Gene symbol	Databases	Phenotype(s)	ClinGen haploinsufficiency score	pLI (GnomAD)	Exons	Fraction overlap	Variants
PKD1	omim	[AD] Polycystic kidney disease, ad...	3 (Sufficient evidence for dosage pathogenicity)	0.12051	12/46	48.39%	

DGV overlaps

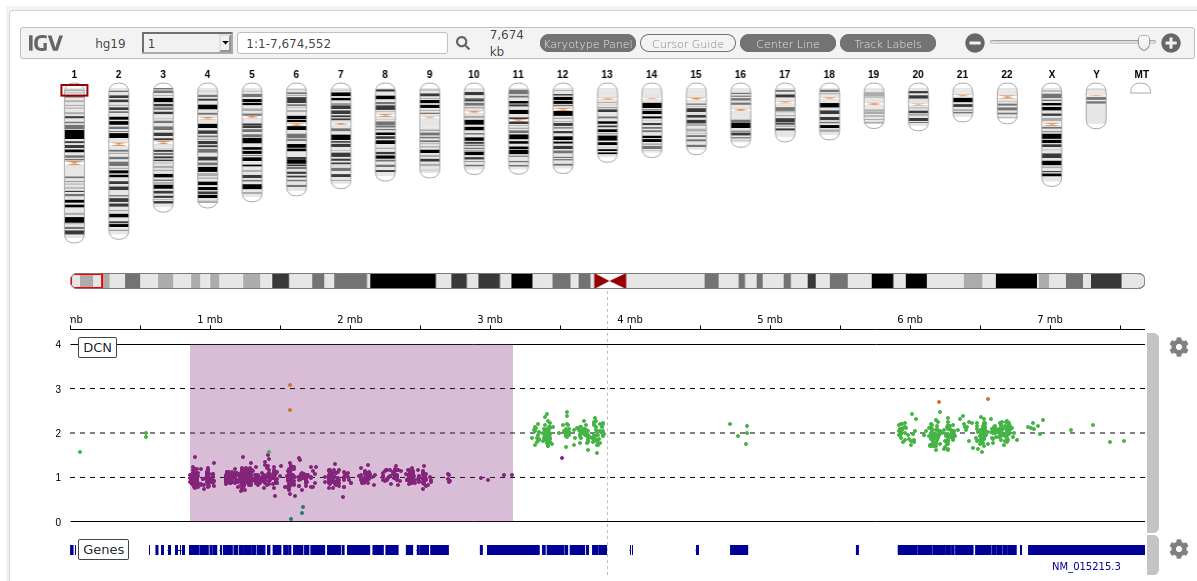
4	100%	1.54%	26	11			
Overlapping CNV	Max DGV overlap	Corrected frequency	Samples	Studies			
ID	Fraction overlap	CNV type	CNV size	Localisation	Frequency	# Samples	# Studies
gssvG13891	100%	Gain	51.76kb	16:2,138,711-2,190,473	20.24%	17	5
gssvG13898	88.78%	Gain	25.42kb	16:2,165,630-2,191,053	0.13%	2	2
gssvL42059	44.04%	Loss	25.71kb	16:2,147,425-2,173,136	100%	2	2
gssvL42061	32.63%	Loss	10.27kb	16:2,178,475-2,188,740	7.46%	5	2

Variants
SeqOne-diag 0 / 51
Show all variants

No variant found

26. ábra: A CNV összefoglaló fül áttekintése

- Az IGV genom böngésző, ahol a CNV-k megjeleníthetők (nem elérhető a *GermVar Tertiary* és *GermVar Tertiary Family* elemzésekben). A jel stabilitásának ellenőrzéséhez a másolatok számát (DCN) ábrázoló diagram „” (Egyéni elemzés) konfigurációs menüjében az elemzett egyén mellett legfeljebb öt másik beteg is megjeleníthető.



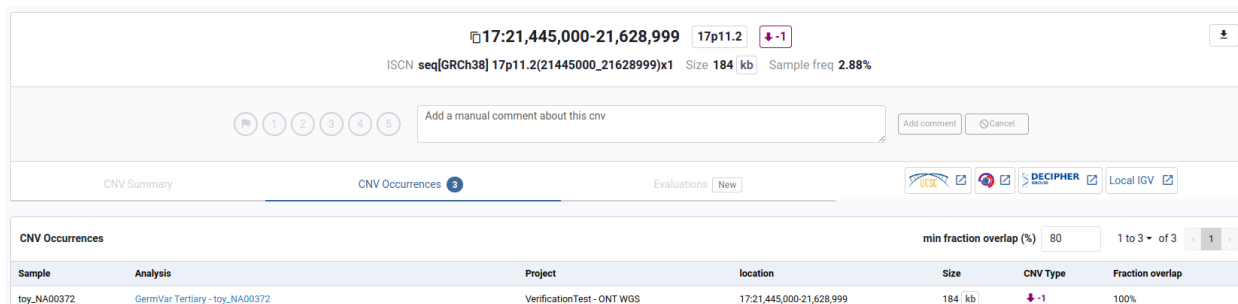
27. ábra: A CNV-k megtekintése egy integrált IGV böngészőből

A kiválasztott beteg esetében a színkód a következő: kék (0–0,5 másolat), lila (0,5–1,5 másolat), zöld (1,5–2,5 másolat), narancssárga (2,5–3,5 másolat) és piros (>3,5 másolat). Az egyéb minták szürkével jelennek meg.

CNV előfordulások. Ez a fül a CNV-t tartalmazó egyéb minták azonosítására szolgál, bármilyen értékeléstől függetlenül. Minden előforduláshoz a következő információk kerülnek bejegyzésre:

- a minta neve (Minta),
- az elemzés neve és az ahhoz vezető link (Analysis),
- a projekt neve (Project),
- a CNV genomikus helye (location),
- a CNV mérete (Size),
- a CNV típusa,
- az átfedés aránya.

A találatok az átfedés százalékos arányának csökkenő sorrendjében vannak rendezve. A lista tetején található „minimális átfedés (%)” mező kitöltésével lehetőség van a megjelenített CNV-k szűrésére a minimális átfedés aránya szerint. Alapértelmezés szerint ez a szűrő 80%-ra van beállítva.



28. ábra: A CNVExome elemzés CNV előfordulások fülének áttekintése

Értékelések. Az egyes CNV-k patogenitási besorolását a felhasználó határozhatja meg, kommentár formájában megadott értelmezésekkel kiegészítve. Minden új értékelés hozzájárul a laboratórium személyes tudásbázisának bővítéséhez.

UCSC. Az [UCSC](#) Genome Browser külső linkje lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy megtekinthessék a CNV genomikus régióját. Ez az oldal a böngésző egy további lapjában nyílik meg, és tartalmazza a felhasználó személyes beállításait az adott böngészőhöz, így személyre szabott nézetet kínál.

CNV-Hub. A [CNV-Hub](#) osztályozóhoz vezető külső link lehetővé teszi a CNV osztályozás vizualizálását több osztályozó eszköz figyelembevételével. A link egy további böngésző fület nyit meg, és integrálja a felhasználó személyes böngészőbeállításait, így személyre szabott vizualizációt kínál.

DECIPHER Genom Böngésző. A [DECIPHER](#) Genom Böngészőhöz vezető külső link lehetővé teszi a CNV-k megtekintését a genomban. A link egy további böngésző lapot nyit meg, és integrálja a felhasználó személyes böngésző beállításait, így személyre szabott megjelenítést kínál.

Helyi IGV. Ez a link átirányítja az *IGV Desktop*²⁹ alkalmazást a jelenleg értelmezett CNV koordinátáira. A CNV megtekintéséhez előzetesen be kell tölteni a minta BAM-ot az IGV Desktop alkalmazásba. Ez az opció csak az IGV Desktop 17-es vagy annál újabb verzióval kompatibilis.

Az igazítási fájlok mellett a CNVExome elemzés *Fájlok* lapján különböző fájlok is letölthetők:

- A CNV-elemzés eredményei táblázatos fájlban (cnv.tsv)
- Az egyes kromoszómák ploiditása (contig_ploidy.tsv)
- A manifesztben szereplő egyes exonok becsült másolatainak száma (denoise.tsv)

²⁹ <https://igv.org/doc/desktop/>

CNV-adatok exportálása

A jobb felső sarokban található „” ikon segítségével exportálhat egy TSV fájlt, amely a következő adatokat tartalmazza az érintett CNV-ről:

- VKB-besorolása és megjegyzései,
- ISCN besorolása,
- ACMG osztályozás,
- kromoszóma, kezdő és végpozíciók és citoszáv,
- CNV mérete és típusa,
- másolatok száma
- másolatok száma
- minta gyakoriság
- minőségi pontszám (Phred skála)
- Log2Ratio
- érintett próbák száma (Probes)
- a CNV által érintett gének száma.

A kapcsolódó génekkel kapcsolatos információk a következő oszlopokban található:

- gén neve (Gene_Symbol),
- OMIM fenotípus (OMIM_Phenotypes),
- a gén LoF-intoleranciájának valószínűsége (Pli_Score)
- ClinGen haploinsufficiency és triplosensitivity pontszámok (HI_Score, TS_Score)
- a CNV által átfedett exonok száma (Nb_overlap_exon),
- a génben található exonok teljes száma (Nb_total_exon).

Ha bizonyos leíró mezők csak bizonyos CNV-kre vonatkoznak (például MicroArray CGH esetén), akkor ezeknek a mezőknek az értéke „NA”.

13.1.6. Nagy variánsnézegető CNVs és SVs számára (LVV)

A nagy variánsnézegető (Large Variant Viewer, LVV) lehetővé teszi a felhasználó számára a CNVs és a strukturális variánsok (SVs) egyetlen fülön történő megjelenítését és elemzését. A felület egy központi variánstáblázatból, egy bal oldali szűrőpanelből és egy oldalsó panelből áll, amely jobbra nyílik meg egy variáns kiválasztásakor, a variánsok fülhöz hasonlóan (Kis variánsok szakasz).

Kompatibilis elemzések esetén a nézegető egy "CNVs & SVs" (CNVs és SVs) vagy "SVs" feliratú fülön található, az adattípustól függően:

- A CNVs & SVs fül a CNVs (Veszteség/Nyereség), SVs (Deléción/Duplikáció) és LOH/UPD eseményeket jeleníti meg.
- Korábbi "CNV" fül: A CNVs a régebbi nézegetőben is megjelennek a meglévő munkafolyamatokkal való visszafelé kompatibilitás fenntartása érdekében.
- Az SVs csak a "CNVs & SVs" vagy az "SVs" fülön érhetők el.

Az adatok elérhetősége a nagy variánsnézegetőben az elemzés típusától függ:

- WGS: Teljesen kompatibilis (CNVs, SVs, UPDs).
- WES: Teljesen kompatibilis (CNVs, SVs, UPDs). A CNVs csak akkor jelennek meg, ha a CNV-hívó modul az elemzés részeként lefut.
- Panelek: Részben kompatibilis (csak SVs).
- Harmadlagos elemzés (VCF/aCGH):
- aCGH: Minden kópiaszám-esemény megjelenik.
- VCF: A CNVs és SVs (szimbolikus ALT allélok) jelennek meg. A specifikus ALT szekvenciájú SVs a kis variánsnézegetőben jelennek meg.

CNVs & SVs eredménytáblázat

A kis variánsok táblázatához hasonlóan a fő táblázat eseményenként egy sort jelenít meg, a következő oszlopok pedig a variánsspecifikus metrikákat biztosítják:

DiagAI. Priorizálási pontszám 1-től 100-ig, nagy variánsokhoz igazítva, amely a variánsokat aszerint rangsorolja, hogy mekkora valószínűséggel okoznak betegséget és diagnosztikailag relevánsak az adott eset kontextusában (különösen, ha HPO kifejezések is meg vannak adva). A DiagAI pontszám több összetevőt kombinál, többek között: patogenitási előrejelzés az UP² pontszám alapján, fenotípus egyezés a PhenoGenius (HPO-vezérelt) segítségével, valamint szakértői/öröklődési és minőségi szabályok.

ACMG. A nagy variánsokon alapuló ACMG osztályozási mutató 1-től 5-ig terjedő osztályozási pontszámként jelenik meg az LVV táblázatban. A részletek fiókjában egy ACMG fül mutatja a

mögöttes kritériumokat és egy élő osztályozási összefoglalót a Patogéntól a Jóindulatúig (főként CNV Nyereség/Veszteség esetén).

Osztályozás (Zászló ikon), amely lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy a variánst a VKB-ban osztályozza.

CNV/SV típus. CNV/SV típus (nyereség vagy veszteség), méret, hely és citosáv.

Régiók (exonikus, intronikus, UTR) és a CNV-vel átfedésben lévő gének (HGNC génnevek), OMIM jelenlét, a kódoló gének töredéke és az átfedő exonok részletei. A variánsokat az átfedő génekkel és a töréspontok 5 kb-os körzetében elhelyezkedő génekkel (5 kb kitöltés) annotálják.

Gének A variánshoz társított gének klinikai relevancia (pl. OMIM morbid állapot, átfedés százaléka, korlátozó pontszámok) szerint vannak rendezve. A három legrelevánsabb gén a fő táblázatban jelenik meg. A teljes lista az oldalpanel "Genes & Regions" (Gének és Régiók) fülén található ("Details Drawer" (Részletek fiókja)).

RMSK %. A RepeatMasker annotációkkal (pl. ismétlődő régiók) átfedésben lévő esemény százaléka.

ClinVar & Decipher (Klinikai adatbázisok). Mindkét oszlop a megfelelő klinikai adatbázisból származó egyezések számát mutatja. A legjobb egyezés egy olyan eseményként van meghatározva, amelynél az adatbázis átfedése > 50%. A ClinVar és Decipher osztályozások jóindulatú (B), VUS vagy patogén (P) kategóriába vannak besorolva.

DGV Gold & GnomAD (Populációs adatbázisok). A táblázat a variánshoz talált maximális populációs gyakoriságot mutatja. Az események akkor tekinthetők egyezőnek, ha a variáns átfedése > 80%, és az eseménytípus egyenértékű. Az oldalpanel Gyakoriságok füle felsorolja az összes > 1%-os átfedéssel rendelkező átfedő eseményt.

Phenotypes (Fenotípusok). A Phenogenius algoritmus eredményeinek megfelelő oszlopokban megjelenő számokra kattintva a felhasználó hozzáférhet:

- az egyezési százalékhöz, amely a legmagasabb egyezési pontszám egyetlen érintett gén és a beteg HPO kifejezései között.
- az egyezési töredékhez, amely azon beteg HPO kifejezések száma, amelyek legalább egy érintett génnel megegyeznek.
- Családi elemzés esetén az egyezés a proband HPO kifejezéseinek felhasználásával történik.

SampleFreq (Belső minta gyakorisága). A variáns gyakorisága az aktuális projektben és entitásban a megfelelő oszlopokban jelenik meg.

A találatok > 80%-os variáns átfedésen és azonos eseménytípuson alapulnak.

Frissítés gyakorisága: az adatok az aktuális elemzés elindítása előtt elvégzett elemzések pillanatképén alapulnak. Ezen adatok frissítéséhez egy manuális "Refresh" (Frissítés) gomb érhető el a Details Drawer-ben.

Pontszám oszlopok. A felhasználó több pontszámot is megjeleníthet:

UP²: patogenitási előrejelzési pontszám, amely a DiagAI egyik összetevője.

pLI, LOEUF: funkcióvesztéssel szembeni intolerancia.

pTriplo, pHAPLO: Triploszenzitivitás és Haploelégtelenség.

HI ClinGen, TS ClinGen.

Minta oszlopok. Ezek az oszlopok az adatforrásra jellemző eseménymetrikákat jelenítik meg:

- Családi elemzések esetén (kivéve aCGH) a mintametrikák az összes családtagra vonatkozóan megjelennek.
- Genotype: olyan CNVs esetén, ahol a hívó (caller) nem ad meg genotípust, a rendszer a ploidiahoz viszonyított abszolút kópiaszám alapján következtet a genotípusra:
 - Homozigóta (hmz) teli sötét ponttal
 - Heterozigóta (htz) félig sötét ponttal
- VAF / #Reads: variáns allél gyakoriság és támogató leolvasások (SVs esetén érhető el).
- #Copy: abszolút kópiaszám (CNVs esetén érhető el).
- LogRatio / Probes: aCGH adatokhoz érhető el.
- QUAL: minőségi pontszám a variáns hívótól vagy a bemeneti fájlból.

Rendezés, szűrés, megtekintés és értelmezés

Szűrés. A szűrőpanel lehetővé teszi a felhasználó számára a variánsok szűrését az oszlopadatok alapján, a Kis variánsok fül szűrőrendszeréhez hasonlóan (lásd a vonatkozó szakaszt).

- Génpanel: a meghatározott génlistában lévő génekkel átfedésben lévő események szűrése.
- Minőség: a QUAL oszlop alapján szűr. Alapértelmezés szerint a minőségi pontszám (N/A) nélküli események rejtve vannak, kivéve, ha a "Keep unknown" (Ismeretlenek megtartása) opciót választja.
- Előbeállítások: a szűrőkonfigurációk előbeállításként elmenthetők későbbi használatra.
- Családi elemzések esetén a Minőség szűrő "OR" (VAGY) logikát használ. A variáns akkor jelenik meg, ha legalább egy családtag megfelel a minőségi küszöbnek.

Rendezés. Alapértelmezés szerint a táblázat a DiagAI Score szerint van rendezve (csökkenő). A felhasználó rendezhet az UP2, Size, Location vagy Sample Freq. Entity szerint, növekvő vagy csökkenő sorrendben.

A korábbi CNV fülhöz hasonlóan a felhasználó megnyithatja a ploidia ablakokat és a CNV böngészőt a táblázat tetején (lásd a CNV: Megtekintés és értelmezés szakaszt). Egy oszlopkezelő ikon is elérhető a fejléc jobb szélén.

CNV/SV oldalpanel (Details Drawer)

A variáns oldalhoz (Kis variánsok szakasz) hasonlóan a Large Variant Viewer egy variánsának kiválasztásakor a képernyő jobb oldalán egy részletes oldal nyílik meg. Ez az oldal több fület tartalmaz:

Variánsok. Ez az összefoglaló fül tartalmazza a variáns nomenklatúráját, a DiagAI pontszámot, a gyanúsított összetett heterozigóták listáját (Suspected Het Compound), a gén és a régió információkat, valamint az adatbázisokra mutató hivatkozásokat.

ACMG. Részletes osztályozás.

Gének és régiók. a variánshoz társított gének és régiók teljes listája, részletes klinikai információkkal, mint például az OMIM morbid állapot, átfedés százaléka, korlátozó pontszámok és fenotípus egyezés.

Osztályozás. Osztályozza az aktuális variánst a VKB-ban az oldalpanel tetején, és mentse el. A variáns jelenlegi osztályozása és előfordulásai más elemzésekben ezen az oldalon található.

Gyakoriságok. A felhasználó hozzáférhet a variánsok gyakoriságának részleteihez a DGV Gold és a GnomAD adatbázisokban, valamint az entitás és az aktuális projekt esetében.

Klinikai adatbázisok. ClinVar & Decipher.

Viewer. A felhasználó választhat, hogy a variánst a SeqOne viewer-ben vagy az IGV-ben tekinti meg. Az IGV alfülön a felhasználó megtekintheti az esemény "Start" (Kezdés) vagy "End" (Befejezés) pontját, vagy a "Start to End" (Kezdetől a befejezésig) részt. A SeqOne alfülön a felhasználó hozzáférhet a Genome Browser-hez, és megjelenítheti az eseményt a rendelkezésre álló több réteg egyikében: CNV, SV, UPD, Gene, CN (copy number), BAF, DGV.

13.1.7. Aláírások a SomaCGP elemzésben

Az MSI pontszám kiszámításának módszertana

Az MSI-elemzés egy szabványosított referencia alapján végzett egyedi elemzés. Ez a referencia egy előzetesen kiválasztott és összevont negatív mintákból álló készletből áll. A tumor mintát az *MSI*sensor eszközzel hasonlítják össze ezzel a referenciával. Ezután kiszámítják a pontszámot, amelyet a panel által lefedett instabil mikroszatellit régiók százalékos aránya képvisel.

A SomaCGP által jelenleg támogatott normál panel az Agilent SureSelect Cancer CGP panelnek felel meg. Más készlet vagy a CGP-ből származó egyedi tervezés használata esetén egy speciális normál panel létrehozása szükséges.

A TMB pontszám kiszámításának módszertana

A TMB három lépésben kerül kiszámításra:

1. A panelben szereplő kódoló régiók méretének kiszámítása
2. A szomatikus variánsok azonosítása
3. A megabázisonkénti szomatikus mutációk számának kiszámítása (mut/Mb)

A szomatikus variánsok azonosítása az alábbi szűrőkészlet alapján történik:

- Variánstípus- és hatás-szűrők
 - Csak SNV-k (MNV-k kizárva)
 - Megtartott hatások: stop kodon nyereség, leolvasási keret eltolódás, splice variáns (akceptor és donor), transzkript abláció, fázisban lévő deléció/inszerció, missense variáns, szinonim variáns.

A szinonim variánsok kizárásra kerülnek a nem szinonim TMB pontszám kiszámításából.

- Variánsminőség-szűrők
 - A Mutect2 által észlelt variánsok, amelyek megfelelnek a FilterMutectCalls szűrőknek
 - Fedezeti mélység (DP) $\geq 50X$
 - Minőségi pontszám > 30
 - Allél támogatottsági arány (ASR) $> 0,1$
- Szomatikus variáns szűrők
 - Variáns allélfrekvencia (VAF) 5% és 40% között
 - Általános populációs gyakoriság (GnomAD) $\leq 0,0001$

A szintetikus TMB kontrollminták használatának kockázatai

- Természetellenes mutációs eloszlás:
 - A mesterségesen előidézett mutációk nem feltétlenül tükrözik a valódi tumorok genomikus kontextusát (pl. mutációs klaszterek, szálas torzítás, szekvencia kontextus).
- A tumor heterogenitásának hiánya:
 - A szintetikus minták nem utánozzák a klónok sokféleségét vagy a tumorok tisztaságát, ami befolyásolja a variáns allél gyakoriság (VAF) eloszlását.
 - Nincs háttérzaj vagy FFPE-artefaktum: a valódi mintákban szekvenálási artefaktumok, FFPE-károsodás és kópiaszám-változások fordulnak elő, amelyek a szintetikus anyagokban nem jelennek meg.
- Különböző fragmensméret és kémiai viselkedés:
 - A szintetikus konstrukciók gyakran eltérően viselkednek a könyvtár előkészítése, a hibrid befogás és a szekvenálás során.

Vizualizálás és értelmezés

A „Signatures” (Jelek) fül két szakaszban jeleníti meg az MSI és a TMB elemzések eredményeit:

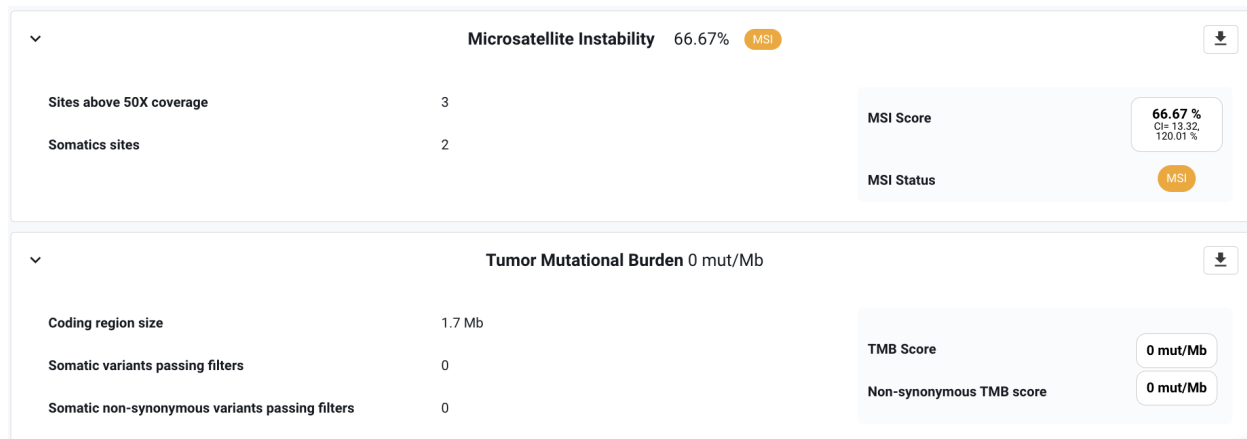
Mikroszatellit instabilitás. Ez a nézet olyan információkat jelenít meg, mint:

- az 50X-nél nagyobb lefedettségű mikroszatellit régiók száma (50X-nél nagyobb lefedettségű helyek),
- a szomatikus helyek száma,
- MSI pontszám százalékban és 95% konfidencia intervallumban (CI),
- MSI állapot

Tumor mutációs terhelés. Ez a nézet a következő információkat jeleníti meg:

- a kódoló régió mérete Mb-ben kifejezve (kódoló régió mérete),
- a szűrőket átjutó szomatikus és nem szinonim variánsok száma (szűrőket átjutó szomatikus variánsok és szűrőket átjutó szomatikus nem szinonim variánsok),
- az összes szűrőn átesett szomatikus variáns TMB pontszáma mut/Mb-ben (TMB pontszám),
- a mut/Mb szűrőket átjutó nem szinonim variánsok TMB pontszáma.

Minden eredmény letölthető a jobb felső sarokban található ikonra kattintva () tsv fájlként.



29. ábra: A SomaCGP-elemzés „Signatures” (Aláírások) fülének megtekintése.

13.1.8. Rövid tandem ismétlődések (STR-ek)

A rövid tandem ismétlődések (STR-ek) vizualizálása elérhető a GermVar Tertiary és GermVar Tertiary Family elemzési munkakészletekhez, amelyek a teljes genom szekvenálás (WGS) adatok elemzésére szolgálnak, ha azok az Oxford Nanopore Technologies szekvenálásával készültek.

A rövid tandem ismétlődések (STR) detektálása a GermVar és a GermVar Family elemzési munkakészletekben is elérhető a WGS-hez Illumina, Element Biosciences, MGI és Oxford Nanopore Technologies segítségével generált FASTQ adatokból.

Módszertan

Rövid tandem ismétlődések FASTQ-ból

A rövid tandem ismétlődés (STR) adatokat az ExpansionHunter segítségével detektálják, amely a BAM fájlt egy referenciagenommal és a cél lókuszt meghatározó variánskatalógussal együtt dolgozza fel. Az eredményül kapott VCF-et ezután a Stranger annotálja, amely minden lókuszt Normál, Pre-mutáció vagy Patogén kategóriába sorol a megfigyelt ismétlődésszám és az ismert betegségeküszöbök alapján.

Mindkét eszköz közvetlenül integrálva van a GermVar és a GermVar Family folyamatokba.

ExpansionHunter: <https://github.com/Illumina/ExpansionHunter>

Stranger: <https://github.com/moonso/stranger>

Rövid tandem ismétlődések VCF-ből

A tandem ismétlődés adatait az EPI2ME alkalmazás (Oxford Nanopore Technologies) wf-human-variation v2.3.0 munkafolyamatából generált és a felhasználó által biztosított VCF fájlból (sample.wf_str.vcf.gz) nyerjük ki. Mivel ezeket az adatokat az EPI2ME által karbantartott variációk katalógusából minden STR-t tartalmazó lókuszhöz megjegyzésekkel látták el, folyamatunk nem módosítja a megjegyzéseket. Az egyes allélok premutált vagy patogén státuszát a szekvenált ismétlődések száma és az ismert premutációs és patogenitási küszöbértékek alapján határozzuk meg.

Megtekintés és értelmezés

Az STR-ek fülön megtekintheti a rövid tandem ismétlődéseket táblázat formájában, amely az egyes genotipizált lókusztok következő adatait tartalmazza:

Lókuszt információk és megjegyzések

- **Gén:** gén neve (HGNC) és a megfelelő link.
- **Helyszín:** az ismétlődés genomikus koordinátái.
- **Ismétlődő egység:** az ismétlődő nukleotid motívum.

- **Betegség:** az OMIM adatbázis szerint a kapcsolódó betegség és a megfelelő link.
- **Átadás:** az ismert átadási mód.
- **Premutációs tartomány:** a premutált állapotot meghatározó minimális és maximális ismétlődésszámnak megfelelő premutációs tartomány.
- **Patogén tartomány:** a patogén állapotot meghatározó ismétlődések alsó küszöbértéke.

Az egyes mintákra vonatkozó részletek

- **GT:** a lókuszt homozigóta, biallelikus vagy heterozigóta genotípusa.
- **Allélismétlések:** az allélismétlések száma allélönként. A homozigóta lókusztok egyetlen értéket hordoznak. A biallelikus és heterozigóta lókusztok esetében mindkét allél ismétléseinek száma feltüntetésre kerül. Az egyes allélok státusza az ismétlések száma alapján kerül meghatározásra: a vad típus zöld, a premutált narancssárga, a patogén pedig piros színnel jelölve.
- **Kiegészítő olvasmányok:** az egyes allélra vonatkozó kiegészítő olvasmányok száma. A homozigóta lókusztok egyetlen értéket hordoznak, míg a biallelikus és heterozigóta lókusztok esetében a 2 allél értékei kerülnek feltüntetésre.

STRs 34										
Gene	Site	Repeat unit	Disease	Transmission	Premutation range	Pathogenic range	GT	Allele repeats	Supp. reads	
PABPN1	chr14:23321472-23321490	GCG	Oculopharyngeal Muscular Dystrophy	AD	10 - 11	> 11	●	16 - 6	0 - 0	
ATXN3	chr14:92071009-92071042	CTG	Machado-Joseph disease	AD	44 - 60	> 60	●	15	0	
ATXN10	chr22:45795354-45795424	ATTCT	Spinocerebellar Ataxia types 10	AD	32 - 800	> 800	●	14 - 12	0 - 0	
NIPA1	chr15:22786677-22786701	CGCGGG	Amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism/dementia complex, susceptibility to	AD	8 - 10000	> 10000	●	6 - 4	0 - 0	
NOP56	chr20:2652733-2652757	GCCTGG	Spinocerebellar Ataxia types 36	AD	14 - 650	> 650	●	8 - 5	0 - 0	
NOP56	chr20:2652757-2652775	GCCTGG	Spinocerebellar Ataxia types 36	AD	14 - 650	> 650	●	7 - 4	0 - 0	
ATN1	chr12:6936716-6936773	CAG	Dentatorubropallidoluysian Atrophy	AD	35 - 48	> 48	●	25 - 19	0 - 0	

30. ábra: A GermVar tercier elemzés STR-k fülének megtekintése.

A táblázat a táblázat jobb felső sarkában található „” ikonra kattintva „repeats.tsv” fájlként letölthető. Ez a fájl az elemzés „Files” fülén is elérhető.

13.1.9. Fúziós gének

13.1.9.1. A DNS-ből kimutatott fúziók

Módszertan

A genomátrendeződések kimutatására specializálódott [GRIDSS](#) (Genome Rearrangement IDentification Software Suite) modul, amelyet a SomaVar és SomaVar LF munkakörben valósítottak meg, a DNS-szekvenálásból származó génfúziók kimutatására szolgál, és egy génpanel célzott befogásával gazdagított.

Megtekintés és értelmezés

A szomatikus elemzés (SomaVar, SomaVar LF, SomaCGP, SomaVar Tertiary) Fúziók fülén megjelenik a különböző GRIDSS szűrőkön átesett fúziók listája táblázat formájában, amely részletes információkat tartalmaz a fúzióról és az egyes résztvevő partnerekről:

Fúziós információk

- fúzió az egyes partnerek génszimbólumaival,
- az esemény típusa (transzlokáció, duplikáció, inverzió vagy deléción),
- a fúzió előfordulása a COSMIC adatbázisban,
- az allélfrekvencia (VAF),
- a fúziót alátámasztó olvasások száma,
- teljes lefedettség,
- a GRIDSS által hozzárendelt szűrők.

Partnerrel kapcsolatos információk

- a fúzió pontjának (breakend) genomikus koordinátái,
- a részt vevő RefSeq transzkript,
- a fúziós pontnak (töréspontnak) megfelelő hely: 5'UTR, 3'UTR, intron, exon (nem kódoló töréspont), CDS (kódoló töréspont) vagy splice hely,
- a fúzióban részt vevő exon vagy intron számozása, az exonok vagy intronok teljes számához viszonyítva.

A szűrők menüjével

- keresési sávon keresztül kereshet egy adott fúzióra vagy egy fúzióban részt vevő génre,
- a „Szűrt fúziók megjelenítése” négyzet bejelölésével megjelenítheti a GRIDSS szűrőkön (LOW_QUAL) nem átment fúziókat. Ez a négyzet alapértelmezés szerint nincs bejelölve.

FUSION	BREAKEND 1	BREAKEND 2	TYPE	DATABASES	TRANSCRIPT 1	SITE 1	EXON/INTRON 1	TRANSCRIPT 2	SITE 2	EXON/INTRON 2	VAF	SUPP. READS	COVERAGE	FILTER
ALK::EML4	2:29446685 (-)	2:42523824 (+)	inversion	cosmic	NM_004304	intron	19/28	NM_019063	intron	12/22	0.329 %	14	4251	PASS
NRAS::LINC00486	1:115256634 (-)	2:33141297 (+)	translocation	N/A	NM_002524	intron	2/6	NR_027098	intron	3/5	5.629 %	128	2274	PASS
LINC00486::RET	2:33141301 (+)	10:43612238 (+)	translocation	N/A	NR_027098	intron	3/5	NM_020975	intron	11/19	3.617 %	118	3262	PASS
LINC00486::FGFR3	2:33141349 (+)	4:1803528 (+)	translocation	N/A	NR_027098	intron	3/5	NM_000142	intron	5/17	0.352 %	28	7963	PASS
PRIM2::HRAS	6:57331998 (+)	11:533875 (-)	translocation	N/A	NM_000947	intron	6/13	NM_005343	CDS	3/6	0.126 %	6	4753	LOW_QUAL

31. ábra: A Fusions (Fúziók) fül megjelenítése SomaVar vagy SomaVar LF elemzés esetén.

A táblázat adatai genomikus koordináták (breakend), a fúzió jelenléte a COSMIC-ban (adatbázisok), allélfrekvencia (VAF) és a fúziót alátámasztó olvasások száma (Supporting reads) szerint rendezhetők.

Az egyes töréspontok genomikus koordinátáihoz tartozó link megnyitja a fúziós pont osztott nézetét az IGV-n. A tooltípek részletesen megmutatják az osztott olvasások számát és az eltérő párokat a Supporting reads (Támogató olvasások) oszlopban, valamint a lefedettséget az egyes töréspontokon (Cov. 1 és Cov. 2) a Coverage (Lefedettség) oszlopban.

A Szűrő oszlop a GRIDSS által használt 3 minőségi szűrőt jeleníti meg, amelyek a fúziós hívás megbízhatóságát jelzik:

- PASS: a fúzió megfelelt a minőségi szűrőkön. A minőségi pontszám 500 vagy annál nagyobb, és közepes vagy magas megbízhatóságú azonosításnak tekinthető (ha > 1000).
- LOW_QUAL: a fúzió minőségi pontszáma 500 alatt van a fúzióban részt vevő két töréspont közül legalább az egyiknél, és alacsony megbízhatóságú hívásnak tekinthető.
- ASSEMBLY_ONLY: a fúziót összeállítás alapján határozzák meg, és nem az azt alátámasztó olvasás alapján. Az összeállítás a potenciális fúziós pontok körüli szekvenciák rekonstrukcióját jelenti, amelyeket ezután újra igazítanak a fúzió azonosítása érdekében.

Ha ugyanazon fúzióhoz több szűrő is rendelkezésre áll, a „+” jel a Szűrő oszlopban az összes szűrőt megjeleníti.

Az interfészen megjelenített eredményeken kívül a felismert fúziókat részletező fusions.tsv fájl

letölthető a Fájlok fülről vagy a lap jobb felső sarkában található  ikonról. A fájl a következő információkat tartalmazza:

- fúzió neve az egyes partnerek (fúziók) génszimbólumaival

- minden egyes fúziós pont genomikus koordinátái (breakend_1 és breakend_2)
- kanonikus transzkriptum minden partner számára (transcript_canonical_1 és 2)
- minden partner fúziós pontjának megfelelő hely (site_1 és site_2)
- az exonok vagy intronok számozása a kapcsolódó RefSeq transzkriptum szerint (exon_1 és 2)
- a fúziós pontot körülvevő 60 bp-es szomszédos szekvenciák (flanking_region_1 és 2)
- a GRIDSS által hozzárendelt minőségi szűrők (szűrő)
- eseménytípus (type)
- a felosztott olvasmányok száma (split_reads)
- a diszkordáns olvasási párok száma (discordant_pairs)
- lefedettség minden partner esetében (coverage_1 és coverage_2)
- a fúziót támogató olvasások aránya (read_fraction)
- a fúziót támogató olvasások száma (supporting_reads)
- teljes lefedettség (coverage)
- COSMIC fúziós azonosító (cosmic_id)

Ez a fájl a következőket tartalmazza:

- Az interfészen megjelenített fúziók, amelyek megfeleltek a minőségi szűrőknek (filter = PASS),
- A fúzióban részt vevő két töréspont közül legalább az egyiknél 500 alatti minőségi pontszámmal rendelkező, de észlelt fúziók (szűrő = LOW_QUAL).

Az egyes töréspontok minőségi pontszáma a gridss.raw.vcf.gz fájlban található (QUAL oszlop), amely a Fájlok fülről tölthető le.

13.1.9.2. RNS-ből észlelt fúziók

SomaRNA eszköz az RNS-szekvencia-adatok elemzésére célzott megközelítésekből, például befogásból és amplikon szekvenciákból, ami azt jelenti, hogy a felhasználók azonosíthatják és megtekinthetik a génfúziós eseményeket transzkriptszinten.

Módszertan

A SomaRNA két eszköz kombinációját használja a fúziók észlelésére és megtekintésére:

- [STAR](#): egy RNA-seq adat-összehangoló, amelyet nem összefüggő szekvenciák közvetlen összehangolására terveztek a referencia genomhoz
- [Arriba](#): kiméri illesztésekből azonosítja a génfúziókat

A STAR kiméra-illesztései alapján az Arriba egy sor szűrőt alkalmaz a ismert artefaktumok és a nem patológiás kontextusban megfigyelt transzkriptumok kiszűrésére. Minden potenciális fúziós eseményhez bizalmi pontszámot rendel, amely több kritériumtól függ:

- A fúziót alátámasztó szekvenciák száma
- A felosztott olvasmányok és a diszkordáns párok közötti egyensúly
- A töréspontok közötti távolság, azok közelsége (intragénikus vagy egyéb)
- Az esemény típusa

Az Arriba által közepes vagy magas bizalommal észlelt fúziók megjelennek a SeqOne-on. Az alacsony bizalommal észlelt fúziók az „arriba_discarded” fájlokban szerepelnek (lásd alább). Az Arriba bizalmi pontszáma tükrözi az egészséges szövetekben nem megfigyelt rendellenes transzkriptumok valószínűségét, az alapul szolgáló genomikus átrendeződés lehetőségét és az artefaktumok kizárását.

További részletek a bizalmi szintről az Arriba dokumentációjában találhatók: <https://github.com/suhrig/arriba/blob/master/documentation/08-Interpretation-of-results.md>

Ha meg szeretné érteni, miért „alacsony a bizalomszint” egy fúzió esetében, tekintse meg a „discarded” fájl „filters” (AA) oszlopát. Ez jelzi azt a szűrőt, amelyik elvetette az eseményt. Az egyes szűrők részletei: <https://github.com/suhrig/arriba/blob/master/documentation/11-Internal-algorithm.md>

Megtekintés és értelmezés

A SomaRNA-elemzés Fúziók fülén a felhasználó különböző fülek formájában megkapja a fúziós előrejelzések listáját.

Az oldal felső része a fúzió és az egyes résztvevő partnerek részleteit tartalmazza:

Általános információk a fúzióról

- a fúziót átívelő kapcsolódási pontok száma, amely megegyezik a fúzióban részt vevő 5' és 3' génnek megfelelő szétválasztási pontjainak összegével,
- a diszkordáns párok száma,
- az Arriba által hozzárendelt bizalmi pontszám (magas, közepes vagy alacsony),
- a fúzióhoz vezető esemény típusa (transzlokáció, duplikáció, inverzió vagy deléció),
- a fúzió hatása az olvasási keretre,
- adott esetben a fúzió előfordulása a COSMIC adatbázisban.

Információk az egyes fúziós partnerekről

- az egyes gének szimbóluma,
- a Refseq transzkriptum vagy, ha az nem áll rendelkezésre, az ENSEMBL minden gén esetében,
- a fúzióban részt vevő exonok számozása,
- az egyes töréspontok genomikus koordinátái,

- a fúziós pont teljes lefedettsége (Coverage),
- a fúziót alátámasztó olvasási frakció.

A felosztott olvasmányok olyan olvasmányok, amelyek elsősorban az 1. vagy a 2. génben vannak igazítva, és átfedik a fúziót. Az egymással nem egyező olvasmánypárok esetében az egyik olvasmány az 1. génben, a másik pedig a 2. génben található, anélkül, hogy feltétlenül átfednék a fúziót.

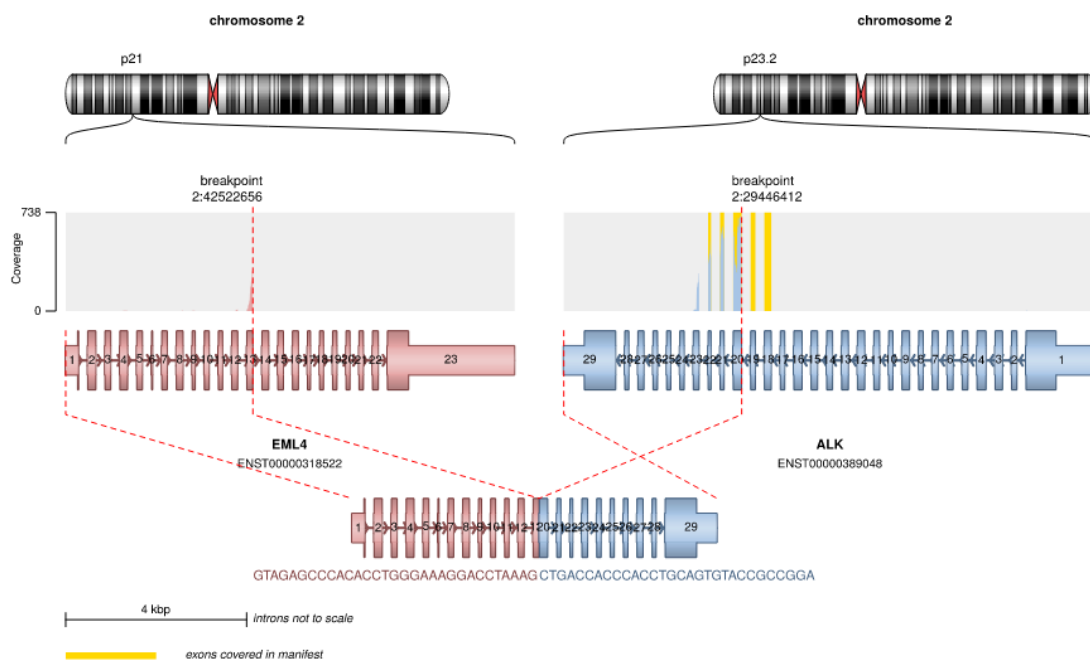
Az olvasási frakció egy génhez kapcsolódó osztott olvasások és diszkordáns olvasási párok összege, osztva a teljes lefedettséggel. Az olvasási frakció értéke meghaladhatja a 100%-ot, ha egy génhez kapcsolódó osztott olvasások egyben diszkordáns olvasási párok részét is képezik. Ezeket az olvasásokat akkor kétszer számolják, nem egyszer.

DHRX - TCEANC E3 - E4	POLR2J2 - EFCAB13 E3 - E18	POLR2J2 - EFCAB13 E4 - E18	MEGF8 - CNFN E3 - E4
General informations		Partners informations	
# of spanning junction reads	568	5prim	3prim
# of discordant mates	246	Gene	NPM1
Confidence ⓘ	high	Transcript	ENST00000517671 ⓘ
Fusion type	translocation	Exons	5 / 12
Reading frame	in-frame	Breakpoint	5 : 170818803 (+)
Database	cosmic	Coverage	14004
		Read fraction	3.9%

32. ábra: Fúziós információk vizualizálása SomaRNA-elemzésből.

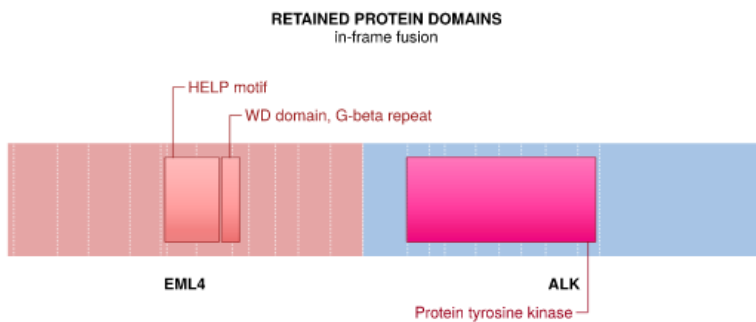
Az oldal alsó része a fúzió grafikus ábrázolását mutatja, mind gén- és exon szinten, mind fehérje szinten. Ez az utolsó szakasz két fülre oszlik:

- Az első fül a fúzió szerkezetét és a részt vevő partnereket mutatja be, ahol az elemzés által lefedett exonok lefedettségét sárga háttérrel ellátott diagramon ábrázolják:



33. ábra: Két gén közötti fúziós esemény megtekintése

- A fúziós esemény után megmaradt fehérjedomének egy második nézetben vannak kiemelve:



34. ábra: Két gén fúziójából származó polipeptid ábrázolása

Az interfészen megjelenített eredményeken kívül különböző fájlok is letölthetők:

- Az Arriba által megtartott fúziók TSV formátumban (arriba.tsv fájl),
- Az Arriba szűrők által kiszűrt fúziók TSV formátumban (arriba_discarded_standard.tsv fájl),
- az Arriba szűrők által kiszűrt és a COSMIC-ban TSV formátumban felsorolt fúziók (arriba_discarded_cosmic.tsv fájl),
- az interfészen SVG formátumban megjelenített különböző ábrák

13.1.10. Klonalitás

A SomaHemato elemzés „Klonalitás” fülén található „IGHV mutációs állapotjelentés” a mutációs állapot eredményeit mutatja.

Az „IGHV eredmények” szakasz a következőket jeleníti meg:

- IGHV mutációs állapot és homológia százalékos aránya:
 - Mutált: ha a homológia <98% identitás a csírasejtekhez képest
 - Nem mutált: ha a homológia ≥98% identitás a csírasejtekhez képest
 - Határérték: 97–98% identitás tartományban lévő klónok esetében
 - Poliklonális: nincs 20% feletti jelentős klón
 - Nem egyértelmű: ha bármely alapvető minőség-ellenőrzés sikertelen
- A meghatározott alcsoport (klinikai hatással) és a bizalom: *2 (magas kockázat), *8 vagy Nincs
- Figyelmeztető értesítés, ha a jelentésben figyelmeztetések jelennek meg.

A „Klonalitás” szakasz felsorolja az azonosított klónokat azok gyakoriságával és termelékenységi állapotával (termékeny, nem termékeny).

Minden klónnak van egy külön szakasza, amely bemutatja mutációs állapotát, gyakoriságát, IMGT_quest oldal linkjét és további részleteket (homológia, teljesség), valamint a minőség-ellenőrzési vizsgálatokat.

13.1.11. Splicing variánsok

Módszertan

A SomaRNA munkakészlet a *Regtools* eszközkészletet használja az exonugrások észlelésére és az alternatív splicing variánsok azonosítására az RNS-szekvenálásból, amelyet egy génpanel célzott befogásával gazdagítottak. A RegTools kivonja az exon-exon kapcsolódási pontokat a STAR RNA-seq adat-összehangoló által generált BAM fájlból, és GTF fájl és Ensembl annotációk alapján ismert transzkript struktúrához igazodva annotálja azokat.

Vizualizálás és értelmezés

A SomaRNA-elemzés Splice variants (Splicing-variánsok) fülén a következő klinikailag releváns gének splicing-variánsainak és azok főbb akcióra alkalmas variánsainak vizualizálására összpontosítunk:

- MET (MET proto-onkogén, receptor tirozin-kináz) és a cselekvésre alkalmas variáns MET Δ 14
- EGFR (epidermális növekedési faktor receptor) és a cselekvésre alkalmas splice-variáns EGFRvIII
- AR (androgén receptor) és a cselekvésre alkalmas splice-variáns AR-V7

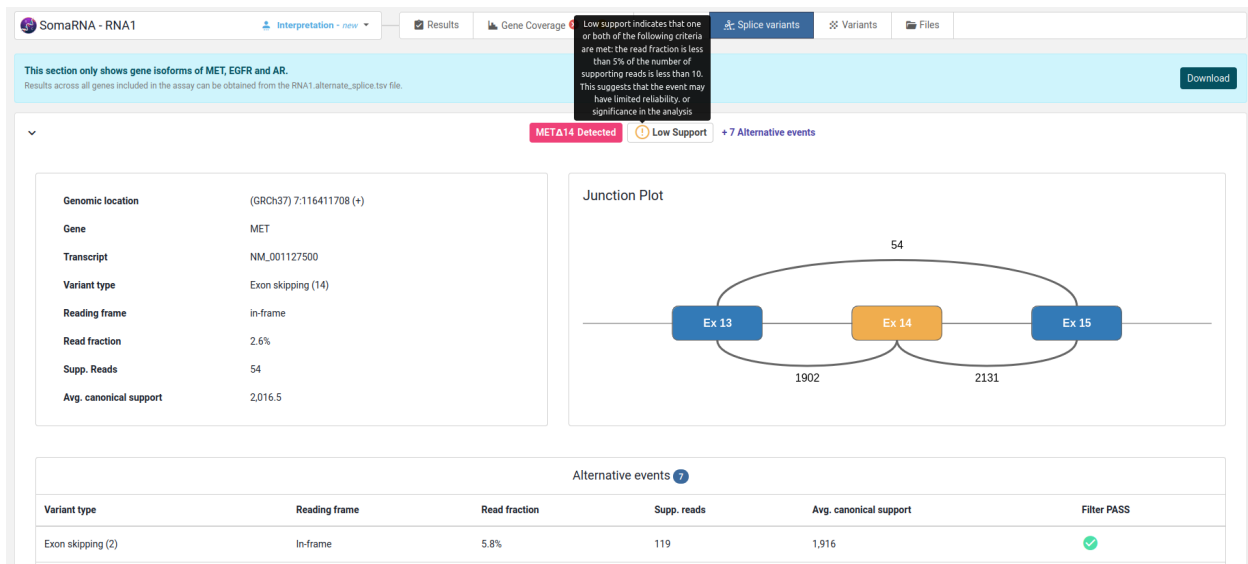
A SomaRNA-elemzésben észlelt splice-variánsok teljes listája a fent felsoroltakon kívül közvetlenül TSV-fájlként letölthető a felületen található Letöltés ikonra kattintva, vagy az elemzés Fájlok füléről.

A fent említett gének mindegyikénél megjelenik a fő cselekvésre alkalmas variáns detektálási állapota (Detected vagy Not detected), valamint az adott génnél detektált egyéb alternatív események száma.

A felhasználók a főbb splice-variánsok részleteit egy erre a célra szolgáló beillesztés megnyitásával tekinthetik meg, amely három részre oszlik:

- A bal oldalon a főbb cselekvésre alkalmas splice-variánssra vonatkozó információk láthatók: genomikus koordináták, génnev, RefSeq transzkript, az észlelt variáns típusa a hiányzó exonok részletezésével, olvasási fázis, az olvasások aránya és a variánst alátámasztó olvasások száma. Végül megadják az átlagos kanonikus támogató olvasásokat. Ez az exon beépítését alátámasztó 5' és 3' olvasások átlagának felel meg.
- A jobb oldalon egy sashimi plot (Junction Plot) ábra szemlélteti az exonok között észlelt kapcsolódási pontokat, valamint az egyes kapcsolódási pontokat támogató olvasások számát.

- alul az észlelt alternatív eseményekre vonatkozó információk szerepelnek, azaz a fent leírt fő változatotól eltérő izoformák: az észlelt változat típusa (hiányzó exonok száma zárójelben), olvasási fázis, a változatot támogató olvasások aránya és száma, a kanonikus transzkriptumot támogató olvasások átlagos száma (átlagos kanonikus támogatás), PASS vagy FAILED állapot az alábbiakban leírt szűrők szerint.



35. ábra: A SomaRNA-elemzés *Splice variants* (*Splice-variánsok*) fülének megjelenítése.

A Splice variants fülön megjelenített gének splice variánsainak észlelése nem függ a detektálási szűrők alkalmazásától.

Mindazonáltal a MET Δ 14 és EGFRvIII detektáláshoz kapcsolódó „Alacsony támogatás” ikon jelzi a felhasználónak, hogy a támogató olvasásokkal kapcsolatos mutatók a következő küszöbértékek alatt vannak: olvasások aránya < 5% vagy támogató olvasások száma < 10.

Az egyéb alternatív események PASS vagy FAILED státusza szintén ezeket a küszöbértékeket használja:

- **PASS** : olvasmányok aránya $\geq$ 5% és olvasmányok száma $\geq$ 10.
- **FAILED** : olvasások aránya < 5% vagy olvasások száma < 10.

A letölthető TSV fájl az összes észlelt splicing eseményre vonatkozóan a következő információkat tartalmazza: RefSeq transzkript, gén, szál iránya (+ vagy -), a variánst támogató olvasások aránya és száma, a hiányzó exonok száma és a megfelelő exonok száma, olvasási fázis, a csatlakozások genomikus koordinátái. A fájl a FILTER_PASS (igen/nem) alatt meghatározza, hogy a variáns megfelel-e a támogató olvasásokra alkalmazott

küszöbértékeknek (olvasások aránya $\geq 5\%$ és olvasások száma ≥ 10), az Actionable (igen/nem) alatt pedig a variáns cselekvőképességét.

13.1.12. MSI/MSS állapot

A SomaMSI elemzési munkakészlet akkor érhető el, ha új elemzést futtatunk génpanel-adatokon, és a tumorminta MSI vagy MSS állapotának meghatározására szolgál.

Módszertan

Ez a nem egyéni kohortelemzés hasonló a CNVCapture vagy SomaCNVCapture elemzéshez. Az elemzés futtatásához legalább nyolc minta szükséges.

Az eszköz referenciamintát generál a kohortban lévő, negatívnak becsült mintákból. Mivel a minták állapota előre nem ismert, ez a becslés a mikroszatellit régiókban megfigyelt deléciók arányának kiszámításán alapul: ezért a kohortban a legalacsonyabb arányú minták felét választják ki referenciaminta generálásához, így minden minta a szekvenciáinak egy részével járul hozzá.

Ezt követően minden tumorminta összehasonlításra kerül a referencia mintával az MSIsensor eszköz segítségével. Kiszámításra kerül egy pontszám, amely a vizsgált mikroszatellit régiók instabilitásának százalékos arányát jelenti. A vizsgált régiók a panel által lefedett és az MSIsensor által észlelt mikroszatellit régiók.

Ezen pontszám alapján a különböző minták MSI vagy MSS állapotát egy küszöbérték határozza meg, amelyet a következőképpen számolnak ki: $\max(10, \text{medián} + \max(3 \cdot \text{medián} - \text{abs-dev}, 0,3 \cdot \text{medián}))$

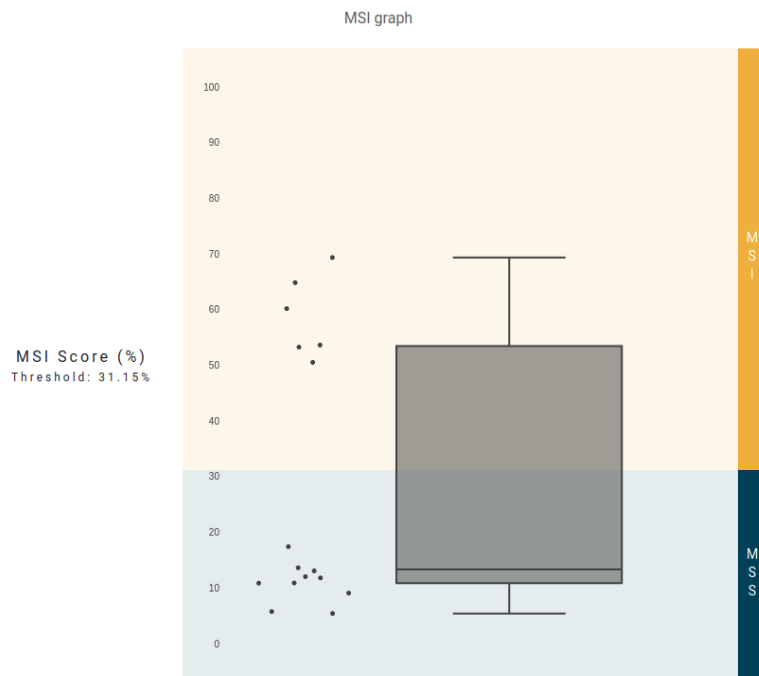
A pontszám mögötti elv a következő:

- Az MSI és MSS mintákat bemutató elemzésben a küszöbérték általában a medián + $3 \cdot \text{medián} - \text{abs-dev}$.
- Ha azonban az összes minta MSS állapotú, a pontszámok nagyon alacsonyak és eloszlásuk rendkívül közel van egymáshoz, a küszöbértéket 10-re állítják be, hogy elkerüljék a hamis pozitív eredményeket.

Megtekintés és értelmezés

Az elemzés befejezése után az összes minta eredménye megtekinthető a SomaMSI elemzésből. Az Eredmények fül két részre oszlik:

MSI grafikon: az eredmények grafikus ábrázolása, ahol minden minta a pontszáma szerint jelenik meg. A minta kohorsz által meghatározott küszöbérték két zónát hoz létre a grafikonon, amelyek az MSI-nek, illetve MSS-nek tekintett mintákat jelölik.



36. ábra: A minta csoport MSI pontszámainak eloszlását ábrázoló dobozdiagram.

Mintánkénti részletek: a pontszámok bontása és az egyes mintákhoz rendelt állapot a jobb oldali panelen található.



37. ábra: A SomaMSI elemzésben szereplő összes minta pontszámainak és állapotának bontása.

13.1.13. HRD/HRP állapot

Módszertan

A SeqOne által javasolt HRD-állapot kimutatása alacsony lefedettségű genomszekvenálási (sWGS) adatok elemzésén alapul, amelyhez hozzáadhatók a génpanel-elemzés eredményei, ha az utóbbi tartalmazza a BRCA1 és BRCA2 géneket.

Az elv a következő:

- A genom instabilitásának számszerűsítése az sWGS adatokból, valamint a nagy átrendeződések (LGA) és a szülői másolatok elvesztése (LPC) azonosítása, ami a heterozigóta elvesztését tükrözi.
- Azonosítsa a HRD-státuszt potenciálisan befolyásoló kulcsfontosságú génekben előforduló kópiaszám-változásokat (CNV-eket).
- Opcionálisan a BRCA1, BRCA2 és TP53 génekben található patogén variánsok kimutatása, ha a panel eredményei elérhetők a SeqOne felületen a megfelelő beteg esetében. Ebben az esetben a SomaVar munkakör által kimutatott variánsok típusai, amelyeket figyelembe vesznek, a SNV, indelek és SV (Freebayes, Mutect2 és GRIDSS által kimutatott).

HRD-státusz. A HRD-pozitív státuszt a következők közül legalább egy határozza meg (**csak a SomaHRD v1.2 és v1.3 verziókban**): (1) legalább egy patogén BRCA1/2 mutáció és/vagy (2) 0,5-nél nagyobb vagy azzal egyenlő HRD-valószínűség.

A SomaHRD munkakészlet v1.4 verziójától kezdve az elemzés státuszát kizárólag a genomikus instabilitási pontszám (GI pontszám) határozza meg. A felhasználók a GI státusz mellett kiválaszthatnak egy HRD státuszt (pozitív, negatív vagy nem egyértelmű), amelyet a GI státusz helyett felvehetnek a jelentésbe.

HRD valószínűség. (Csak a SomaHRD v1.2 és v1.3 verziókban) A SeqOne HRD valószínűség annak a valószínűségnek felel meg, hogy a tumor HRD pozitív a sWGS adatokból meghatározott LGA és LPC genomikus instabilitási jellemzők alapján. A nagy genomikus változások (LGA) a töréspontok másolatainak számaként definiálhatók, ahol egy töréspont legalább 10 Mb hosszú és legfeljebb 3 Mb távolságra lévő két genomikus szegmens másolatainak számában bekövetkező változásnak felel meg. A szülői másolatok elvesztése (LPC) legalább 10 Mb hosszú haploid szegmensek számaként definiálható. A HRD valószínűsége a két genomikus instabilitási jellemző lineáris kombinációja, amelyet logisztikai regresszióval konvertálnak, hogy az értékeket 0 és 1 közötti valószínűségi skálára helyezzék.

GI probability (GiP) (GI valószínűség). (a SomaHRD v1.4-ből) A genomikus instabilitás (GI) valószínűsége a tumor genomikus instabilitásának valószínűségét jelenti, amely a sekély teljes genom szekvenáláson (sWGS) alapul. Ennek a valószínűségnek a kiszámítása a két típusú

genomikus instabilitási jellemzőtől, az LGA-tól és az LPC-től függ. Az LGA a másolatok számának töréspontjainak számaként definiálható. A töréspont két, egymáshoz közel elhelyezkedő, kellően nagy genomsegmens közötti másolatok számának változását jelenti. Az LGA pontszám nem egyetlen mérőszám, hanem több variáció összessége. Ezeket a variációkat a minimális fragmensméret és a fragmensek közötti távolság különböző paramétereinek felhasználásával számítják ki. Az LPC pontszám viszont a legalább 10 Mb hosszú haploid szegmensek számát jelenti. A SeqOne genomikus instabilitási valószínűsége nem az átlagos LGA és LPC pontszámok közvetlen függvénye. Számításához egy több LGA és LPC jellemzőt integráló erősítő modellt használnak, ami javítja a predikció pontosságát. A végső valószínűség 100 valószínűség (0 és 1 között) átlaga, amelyet különböző modellparaméterek alkalmazásával számítottak ki.

GI státusz. (a **SomaHRD v1.4-ből**) A pozitív genomikus instabilitási státuszt (GI státusz) a 50% feletti genomikus instabilitási valószínűség határozza meg.

BRCA-állapot. A patogén variánsok kimutatásához, a BRCA-állapot HRD-valószínűségtől vagy GI-valószínűségtől független meghatározásához a következő kritériumokat alkalmazzák a beteg SomaVar-elemzéséből származó BRCA1 és BRCA2 variánsokra:

- Allélfrekvencia $\geq 15\%$ (**SomaHRD v1.2 és v1.3 verziók**),
- Allélfrekvencia $\geq 10\%$ (**SomaHRD v1.4 verziótól**)
- Fedezet ≥ 35
- A variánst hordozó egyes bázisok átlagos minősége (Phred pontszám) ≥ 20
- Alternatív megfigyelés (a mutációt hordozó szekvenciák száma) ≥ 5
- 4. (valószínűleg patogén) vagy 5. (patogén) besorolás az ACMG kritériumokon alapuló variáns patogenitási besorolási eszközünk szerint.

TP53 variánsok. A következő kritériumok vonatkoznak a páciensen végzett SomaVar elemzésből származó TP53 patogén variánsokra:

- Fedezet ≥ 100
- A variánst hordozó egyes bázisok átlagos minősége (Phred pontszám) ≥ 20
- Alternatív megfigyelés (a mutációt hordozó szekvenciák száma) ≥ 5
- 4. osztály (valószínűleg patogén) vagy 5. osztály (patogén) az ACMG kritériumokon alapuló variáns patogenitási osztályozási eszközünk szerint.

Ezek a variánsok csak minimális allélfrekvencia küszöbérték nélkül jelennek meg a SomaHRD elemzési jelentésben, de nem meghatározóak a HRD státusz szempontjából. Csak a legmagasabb allélfrekvenciájú TP53 patogén variáns kerül feltüntetésre a HRD jelentésben.

Sejtesség. A sejtesség metaadatok (a mintában található tumorsejtek százalékos aránya) szükségesek a SomaHRD elemzés futtatásához. Ezeket a minta betöltésekor vagy az elemzés elindítása előtt lehet megadni a megfelelő minta metaadatok szerkesztésével (lásd: **Minta metaadatok**). Ha az érték 20% alatt van, az eredmény nem lesz egyértelmű. Azonban a HRD

státusz pozitív lehet, ha az elemzést egy BRCA1 és BRCA2 géneket is tartalmazó panel kíséri, amely pozitív BRCA státuszt ad.

Tumor frakció figyelmeztetés Eljárás: A SomaHRD elemzés tartalmaz egy figyelmeztető mechanizmust, amely jelzi, ha egy minta tumor tartalma alacsony lehet. Ez egy „átfedési statisztika” nevű statisztikai mérőszámon alapul, amely a másolatok számának arányát tekintve értékeli az egymást követő genomsegmensek közötti hasonlóságot. A jelentős átfedéssel rendelkező minták gyakran alacsonyabb tumor frakcióval rendelkeznek, ami megnehezíti a genom instabilitásának megkülönböztetését.

A figyelmeztetés megbízható küszöbértékének megállapításához a klinikai adatok felhasználásával összehasonlítottuk az átfedési statisztikát a TP53 mutációk variáns allél gyakoriságával (VAF). Ha az átfedési statisztika meghaladja az előre meghatározott küszöbértéket, riasztás lép működésbe. Ez a riasztás rámutat a manuálisan megadott tumor tartalom százalékaival kapcsolatos lehetséges eltérésekre, amelyek arra utalhatnak, hogy a tumor frakció 20% alatt van. Az e szint alatt lévő tumorarányú minták esetében megnő a hamis negatív eredmények kockázata. Az ilyen mintákat azonban nem utasítjuk el, és a figyelmeztetés útmutatásként szolgál a HRD-eredmények gondos értelmezéséhez.

Minimális lefedettség. A teszt futtatásához szükséges minimális lefedettség 0,1X, de mi legalább 0,5X, ideális esetben 1X lefedettséget javasolunk. Ha a lefedettség 0,1X-re csökken, a besorolási hibaarány 5%-kal nő.

Bár az sWGS-adatok UMI-kkel rendelkező készletből származhatnak, ezeket a SomaHRD-elemzés során nem veszik figyelembe. A munkakészlet tartalmaz egy vágási lépést mind az adapterek, mind az UMI-k számára.

Vizualizálás és értelmezés

Az elemzés befejezése után az eredmények a SomaHRD elemzésből érhetők el. A minőség-ellenőrzési mutatók és a műszaki jelentés mellett a HRD jelentés közvetlenül elérhető a HRD jelentés fülről (**SomaHRD v1.2 és v1.3 verziók**).

A SomaHRD munkakészlet v1.4 verziójától kezdve az elemzés eredményei egy külön HRD fülön jelennek meg. A fül minden szakasza az alábbiakban leírt HRD-jelentés egy-egy szakaszát tükrözi (HRD-összefoglaló, Minta minőség, Genomikus instabilitási jellemzők, BRCA1/BRCA2 és TP53 mutációk, Másolatszám-változások).

Ebből a fülből a felhasználó exportálhatja ezeket az eredményeket CSV fájlként vagy PDF formátumú HRD jelentésként. PDF exportálás esetén a felhasználó kiválaszthatja a HRD jelentés nyelvét a rendelkezésre álló nyelvek listájából: francia, spanyol, angol, német, olasz. Az alapértelmezett választás az angol.

A HRD-jelentés a következő szakaszokra oszlik.

A **fejléc** tartalmazza a beteg és az elemzés metaadatait, az elvégzett teszt típusát és a HRD státuszt (**SomaHRD v1.2 és v1.3**) vagy a GI státuszt (**SomaHRD $\geq$ v1.4**).

Minta minőség. Ez a szakasz összefoglalja az elemzés főbb minőségi mutatóit, valamint a szükséges minimális küszöbértékeket.

A minőség-ellenőrzési paraméterek táblázatban jelennek meg. Minden paraméterhez a következő információk állnak rendelkezésre:

- **Név:** a paraméter neve
- **Érték:** a paraméter értéke, beleértve:
 - Egy ikon, amely jelzi, hogy a szűrő *megfelelt, figyelmeztetést* kapott vagy *nem felelt meg*
 - A minta paraméterértéke
- **Leírás:** a paraméter rövid leírása

SAMPLE QUALITY

NAME	VALUE	DESCRIPTION
% of tumoral cells	 90%	Low value of tumoral cells is likely to generate false negative results
Coverage	 0.43X	Average sequencing coverage of the genome
% correct mapping	 96.5%	Proportion of reads correctly mapped
Confidence in genomic instability	 1.00	Large values indicates high confidence in genomic instability computation
Low tumor fraction	 NORMAL	Low tumor fraction detected from the shallow WGS

SAMPLE QUALITY

NAME	VALUE	DESCRIPTION
% of tumoral cells	 30%	A percentage of tumoral cells below 20% is likely to generate false negative results.
Coverage	 0.7X	The average sequencing coverage of the genome should be above 0.1x.
GI Dispersion	 0.93	A large dispersion reflects high variability in the genomic instability computation, indicating low precision in the estimated score.
Low tumor profile	 WARNING	Low cellularity detected from the genomic profile.

38. ábra: A SomaHRD v1.2 (felső) és a SomaHRD v1.5 (alsó) szoftverekben a sWGS mintához kapcsolódó minőség-ellenőrzési mutatók összefoglalása.

A minőség-ellenőrzéseket a HRD-jelentés végén (**MINTA MINŐSÉG-ELLENŐRZÉSEK** szakasz) bemutatott küszöbértékek szerint alkalmazzák a következő paraméterekre:

- a tumorsejtek százalékos aránya, kizárólag a felhasználó által megadott érték alapján.
- átlagos genomszekvenálási lefedettség,
- a helyesen illesztett olvasmányok aránya, az adaptertrimmelés lépése után számolva **(csak a SomaHRD v1.2 és v1.3 verziókban)**,
- a genomikus instabilitás (LGA és LPC) megbízhatóságának mérőszáma a lefedettségi adatok alapján **(csak SomaHRD v1.2 verzió)**. Ez a minőség-ellenőrzés a visszaküldött HRD-státusz megbízhatóságának mérésére szolgál. Néhány pozitív és negatív eredményt „alacsony megbízhatóságú” címkével jelölnek, hogy azonosíthassák a státuszban legkevésbé megbízható mintákat.
- HRD valószínűségi konfidencia intervallum (*HRD valószínűségi konfidencia intervallum*) **(csak SomaHRD v1.3 verzió)**. Ez a mutató *figyelmeztető* státuszt kap, ha a standard hiba (*standard eltérés*) nagyobb, mint 0,07; *hibás* státuszt kap, ha a HRD valószínűségi konfidencia intervallum tartalmazza a 0,5 értéket.
- GI valószínűségi konfidencia intervallum (GI valószínűségi konfidencia intervallum) **(csak SomaHRD v1.4 verzió)**. Ez a mutató *figyelmeztető* állapotot kap, ha a standard hiba (*standard szórás*) nagyobb, mint 0,07; *hibás* állapotot kap, ha a GI valószínűségi konfidencia intervallum tartalmazza a 0,5 értéket.
- GI szóródás **(csak a SomaHRD v1.5 verzióban)**, amely a 100 GI valószínűségi számítás szóródását mutatja. Ez a mutató „Figyelmeztetés” állapotot jelenít meg „Közepes” címkével az érték mellett, ha a szóródás > 2,6, és „Hibás” állapotot „Magas” címkével, ha > 2,7. Egyéb esetben „Alacsony” címke jelenik meg a pontszám mellett.
- Ha az sWGS alapján alacsony tumor tartalom (*alacsony tumor frakció*) gyanúja merül fel, a **WARNING (FIGYELMEZTETÉS)** üzenet jelenik meg. Ha ez nem így van, a vezérlő a **NORMAL (NORMÁLIS)** üzenetet jeleníti meg.

Ha a következő minőség-ellenőrzési mutatók bármelyike a várt hibaküszöbérték alatt van, az elemzés eredménye nem lesz egyértelmű (NON CONCLUSIVE):

- % tumorsejtek
- lefedettség
- % helyesen illesztett olvasmányok **(csak SomaHRD v1.2 és v1.3 verziók esetén)**
- GI diszperzió > 2,7, **ha** $0,37 < GiP < 0,59$ **is (csak SomaHRD v1.5 esetén)**

Ebben az esetben a genomikus instabilitás és az alacsony tumorarány bizalmi mutatói nem kerülnek kiszámításra, és a megfelelő szakaszokban N/A jelzés jelenik meg **(SomaHRD v1.5-nél korábbi verziók esetén)**.

A SomaHRD v1.3 verzió esetében, ha a genomikus instabilitás mutatójának megbízhatósága Failed (sikertelen), azaz a várt sikertelenségi küszöbérték alatt van, az elemzés eredménye a következő lesz:

- POSITIVE LOW CONFIDENCE (pozitív alacsony bizalom), ha a HRD valószínűsége 50% vagy annál nagyobb.
- NEGATÍV ALACSONY BIZTONSÁG, ha a HRD valószínűsége 50% alatt van.

Ebben az esetben az elemzés eredményét figyelmeztetés kíséri.

Mindazonáltal, ha az elemzéshez BRCA1 és BRCA2 géneket tartalmazó panel is tartozik, és a panel pozitív BRCA státuszt ad vissza, akkor a HRD státusz pozitív lesz, még akkor is, ha a sWGS mintához kapcsolódó QC mutató a kudarc küszöbérték alatt van (**csak a SomaHRD v1.2 és v1.3 verziók esetében**).

Másolatszám-változások. Ez a szakasz a CCNE1 és RAD51 gének másolatszám-változásait tárgyalja a kimutatott másolatok száma tekintetében. Ezeket nem veszik figyelembe a HRD valószínűség és a GI valószínűség kiszámításakor.

Genomikus instabilitási jellemzők. Ez a szakasz részletesen bemutatja azokat a jellemzőket, amelyek alapján a tumor genomikus instabilitását határozták meg. Ezeket a jellemzőket használják a SeqOne HRD valószínűség (**SomaHRD v1.2 és v1.3**) és a GI valószínűség (**SomaHRD v1.4 vagy újabb verzió**) meghatározásához. Ez a szakasz a valószínűség kiszámításának megértését hivatott elősegíteni. Minden egyes jellemzőhöz a következő információk találhatók:

- **Név** : A jellemző neve (pl. LGA státusz vagy LGA pontszám)
- **Érték**: A beteg számára kiszámított érték
- **Leírás**: A jellemzők rövid leírása

NEM MEGGYŐZŐ eredmények esetén, amelyek a várt küszöbértékek alatti minőség-ellenőrzési mutatókhoz kapcsolódnak, a jelentés **AMPLIFICATIONS** (Amplifikációk) és **GENOMIC INSTABILITY FEATURES** (Genomiális instabilitási jellemzők) szakaszai szürkén jelennek meg.

GENOMIC INSTABILITY FEATURES

The following variables are used to determine the HRD Probability.

NAME	VALUE	DESCRIPTION
LGA Status	23	Large Genomic Alteration Status
LPC Status	15	Loss of Parental Copy Status

39. ábra: A genomikus instabilitással kapcsolatos HRD valószínűség jellemzői.

BRCA1/BRCA2 és TP53 mutációk. A SomaVar elemzést is magában foglaló teljes HRD teszt esetén egy további szakaszt biztosítunk, amely a BRCA1, BRCA2 és TP53 génekben kimutatott patogén variánsokkal foglalkozik. Az összes, a **Módszertan** szakaszban leírt kritériumoknak megfelelő BRCA1 és BRCA2 patogén variáns fel van sorolva. Azonban csak a legmagasabb allélfrekvenciájú patogén vagy valószínűleg patogén TP53 variáns kerül jelentésre. Az egyéb

patogén TP53 variánsok a kapcsolódó SomaVar elemzésben tekinthetők meg. Ez a szakasz csak az sWGS jelentésekben rejtett.

A kimutatott mutációkat a következő oszlopokat tartalmazó táblázatban jelentjük:

- **Gén és transzkript:** HGNC génnev és RefSeq transzkript azonosító
- **Variáns:** A variáns HGVSC és HGVSP nómenklatúrája
- **Értékelés:** A variáns értékelése az ACMG kritériumok szerint (*patogén vagy valószínűleg patogén*)
- **VAF:** A variáns allélfrekciója

Ha a kapcsolódó panelelemzés során nem azonosítottak patogén BRCA-mutációkat, a jelentés ezen szakasza a következő üzenetet jeleníti meg: „A BRCA1 és BRCA2 génekben nem azonosítottak patogén mutációkat.”

Ha a kapcsolt panelelemzés során nem azonosítottak patogén TP53 mutációkat, a jelentés ezen szakasza a következő üzenetet jeleníti meg: „A TP53 génben nem azonosítottak patogén mutációkat.”

BRCA1/BRCA2 & TP53 MUTATIONS

GENE & TRANSCRIPT	VARIANT	EVALUATION	VAF
BRCA1 NM_007294.4	c.3116_3117del p.Ala1039GlufsTer6	Pathogenic	60.68%
BRCA1 NM_007294.4	c.3113_3117delinsG p.Glu1038GlyfsTer9	Pathogenic	58.18%
BRCA1 NM_007294.4	c.3113_3114del p.Glu1038GlyfsTer7	Pathogenic	60.08%
TP53 NM_000546.6	c.524G>A p.Arg175His	Pathogenic	39.29%

40. ábra: BRCA1/BRCA2 és TP53 patogén variánsok.

HRD összefoglalás. A jelentés utolsó szakasza az eredményeknek szól. Ez a szakasz az eredmények részletes áttekintését célozza, és a következő információkat jeleníti meg:

- **HRD valószínűség (SomaHRD v1.2 és v1.3):** A HRD valószínűség értéke 0 és 1 között. Az állapot pozitív, ha az érték nagyobb vagy egyenlő 0,5-nél.
- **GI valószínűség (SomaHRD verzió $\geq$ v1.4):** A GI valószínűség értéke 0 és 1 között. Az állapot pozitív, ha ez az érték nagyobb vagy egyenlő 0,5-nél.
- **BRCA állapot:** legalább egy patogén BRCA mutáció kimutatásával meghatározott állapot: MUTÁLT, VADTÍPUSÚ vagy N/A panelelemzés hiányában.
- **HRD állapot vagy GI állapot:** POZITÍV, NEGATÍV, NEGATÍV ALACSONY BIZTONSÁG, POZITÍV ALACSONY BIZTONSÁG vagy NEM MEGÁLLAPÍTHATÓ, amint az a jelentés fejlécében megjelenik.
- **Módszer:** A HRD pontszám kiszámításához használt módszer (vagy mód):
 - Teljes HRD $\Rightarrow$ „WGS SHALLOW + BRCA1/2 GÉNPAANEL”

- Csak sekély $\Rightarrow$ „CSUPÁN SHALLOW WGS”

NEGATÍV ALACSONY BIZTONSÁG, POZITÍV ALACSONY BIZTONSÁG vagy NEM MEGÁLLAPÍTHATÓ eredmények esetén ezek világosszürkével jelennek meg.

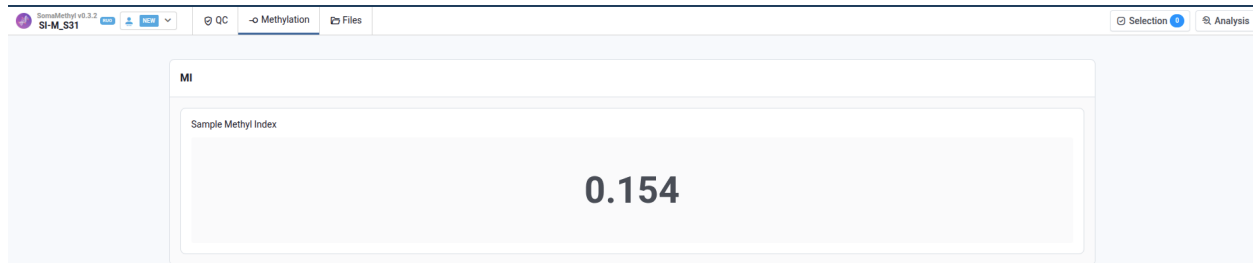
A jelentésben megjelenő különböző értékekről, valamint a teszt általános módszertanáról részletes információk található az eredményt követő „**Lábjegyzetek**” és „Módszertan” szakaszokban.

A HRD-jelentésen kívül a HRD-elemzéshez kapcsolódó genomikus instabilitási grafikonok letölthetők a SomaHRD-elemzés Fájlok füléről. Ezek a grafikonok a sWGS-adatokból származó összes kromoszóma normalizált lefedettségét ábrázolják.

NEM MEGGYŐZŐ eredmények esetén, amelyek a várt küszöbértékek alatti minőség-ellenőrzési mutatókhoz kapcsolódnak, a genomikus instabilitási grafikonok nem kerülnek létrehozásra.

13.1.14. Metilációs adatok a SomaMethylhez

Methylation Index (Metilációs index)



A metilációs index (MI) egyetlen numerikus pontszám, amely számszerűsíti egy biológiai minta általános metilációs állapotát, és összefoglalja a daganathoz társuló metilációs jelet. Érzékenyen képes kimutatni a tumorból származó DNS akár alacsony szintjét is a normál DNS háttérben. A SomaMethyl-ben a MI-t Standard módban számítják ki az Agilent saját algoritmusának (MethylAlgo) használatával. Ha rendelkezésre áll egy referenciakohorsz, a minta MI értéke összehasonlítható a kohorsz MI értékeivel, és egy felhasználó által meghatározott küszöbérték segítségével értelmezhető. A MI értékeléséhez az Agilent várt metilációs szintű titrálási mintákat biztosított. A SomaMethyl Standard módú modulja által kiszámított MI értékeket összehasonlítják az Agilent által megadott várt MI értékekkel, és a teljesítményt egy 1 – wMAPE (Súlyozott átlagos abszolút százalékos hiba) formájában meghatározott súlyozott egyezési metrika segítségével foglalják össze.

Methylation level (Metilációs szint)



CpG coverage (histogram) (CpG lefedettség (hisztogram))

A leolvasási mélység eloszlása a CpG helyeken a célzott régiókon belül (manifesztum).
X-tengely (log10 leolvasási lefedettség): lefedettség CpG helyenként (a metiláció hívását támogató leolvasások száma azon a CpG-n, azaz a metilált + nem metilált számok).
Y-tengely (CpG helyek száma): a manifesztumban lévő azon CpG helyek száma, amelyek ezzel a lefedettséggel rendelkeznek.

Ellenőrizheti, hogy a célzott CpG-k kellően le vannak-e fedve, és a lefedettség elég egyenletes-e ahhoz, hogy a metilációs százalékokat magabiztosan értelmezze.

% CpG methylation (histogram) (% CpG metiláció (hisztogram))

A metilációs szintek eloszlása a CpG helyeken a célzott régiókon belül (manifesztum).

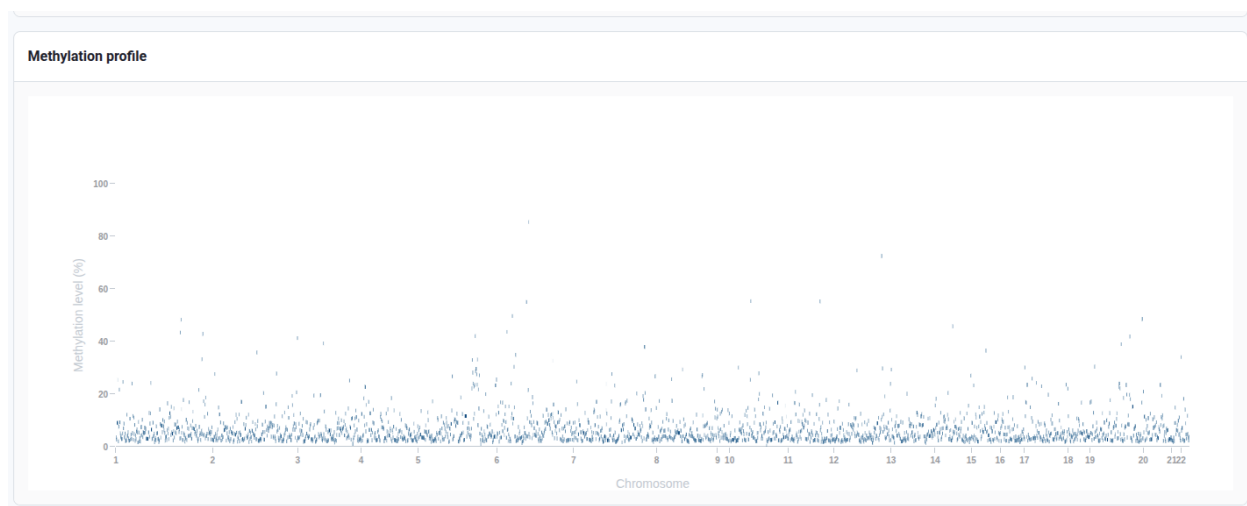
X-tengely (metiláció %): minden CpG hely esetén a metilált leolvasások aránya az adott CpG-t lefedő összes leolvasás között.

Y-tengely (CpG helyek száma): a manifesztumban lévő azon CpG helyek száma, amelyek ezt a metilációs szintet mutatják.

Minta szintű nézetet nyújt a CpG metilációs állapotokról a célzott régiókban (gyakran alacsony és magas metiláció közelében lévő csúcsokat mutatva, a rögzített régióktól és a minta biológiájától függően).

A nagyon alacsony lefedettségű CpG helyek kevésbé megbízható metilációs százalékokat eredményeznek, mivel kis számú leolvasás felfelé vagy lefelé billentheti a %-ot. Emiatt a % CpG metiláció hisztogramját mindig a CpG lefedettség hisztogramjával (és a többi QC metrikával) együtt kell értelmezni.

Methylation profile (Metilációs profil)



A metilációs profil diagram a minta CpG metilációs jelét mutatja a genomon keresztül, kromoszómánként megjelenítve. Minden pont az egymást követő genomikai ablakokon kiszámított átlagos CpG metilációs százaléknak felel meg (mint az .mcpG.track.bedGraph kimenetben). Ez a nézet segít a szélesebb metilációs mintázatok vizualizálásában, valamint az olyan régiók azonosításában, amelyekben a metiláció magasabb vagy alacsonyabb a genom többi részéhez képest.

Methylation Table (Metilációs táblázat)

Table					
			Search genes		Locus ▼ FT
REGION	METH. LEVEL	CpG NBR.	CpG REGIONS	GENOMIC FEATURE	REFSEQ CDS
C1orf94 chr1:34176744-34177348	11	53	Island + 1	silencer	
chr1:35577191-35577675	3	42			
chr1:37033668-37034149	5	51			
chr1:37034542-37035023	3	61			
EPHA10 chr1:37735070-37735507	24	26		enhancer	NM_001099439.2
chr1:38559361-38559798	5	22			
chr1:39080823-39081222	12	28	Island + 1		
chr1:39672120-39672554	3	28			
HPCAL4 chr1:39683853-39684273	11	47	Island		
chr1:40884160-40884512	5	43			
31 to 40 of 2217 ◀ 2 3 4 5 6 ▶					

A Metilációs táblázat felsorolja azokat a genomikai régiókat (kromoszóma:kezdet-vég), amelyeken a SomaMethyl összegzi a CpG metilációt (fix ablakok vagy egyesített szegmensek, a lépéstől függően). Minden régiónál a METH. LEVEL jelentést tesz az adott intervallumban lévő CpG metilációs hívásokból kiszámított összesített metilációs szintről, a CpG NBR. pedig azt jelzi, hogy hány CpG hely járult hozzá a számításhoz. Ezután minden sor a CpG REGIONS-szel (sziget, part, perem, ahol alkalmazható) és funkcionális annotációkkal van ellátva, beleértve az átfedő GENOMIC FEATURE szabályozó elemeket (promóter, fokozó, csendesítő) és a REFSEQ CDS (kódoló szekvencia) információkat.

14. Jelentés

14.1.1. Kimeneti fájlok

A „*Fájlok*” fülön a munkakészlet különböző szakaszaiban létrehozott fájlok listája található. Minden fájl letölthető a „” ikonra kattintva.

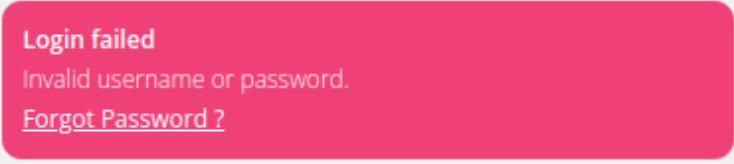
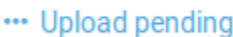
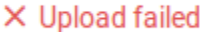
Egyes fájlok nem tartalmazzák a minta nevét előtagként. Ahhoz, hogy ezeket az előtaggal letölthesse, aktiválnia kell a „Prefix with sample name” (Előtag a minta nevével) opciót az oldal jobb felső sarkában.

A fájlok az interfész különböző szakaszaiból tölthetők le:

- A FastQ fájlok a projekt „*Minták*” fülén érhetők el, ha kiválasztja a megfelelő mintát, majd a „” ikont.
- A manifesztumok (BED fájlok) a felhasználó *Beállítások* menüpontjában érhetők el a műszerfal jobb felső sarkában található ikonra kattintva, majd a *Manifests (Manifesztumok)* fülre kattintva.
- Az elemzési jelentések PDF formátumban az „*Elemzés*” fülön érhetők el, miután kiválasztott egy elemzést.
- Az elemzés során létrehozott fájlok (BAM, VCF stb.) és a különböző HTML-jelentések (minőségi, műszaki stb.) az egyes elemzések *Fájlok* fülén érhetők el.

15. Hibaelhárítás és hibaüzenetek

Számos üzenet jelzi a felhasználóknak a hibákat

Hibaüzenet	Leírás
 Login failed Invalid username or password. Forgot Password ?	A jelszó és/vagy a bejelentkezési név helytelen. A felhasználóknak újra be kell írniuk a bejelentkezési nevüket és jelszavukat, vagy a „Jelszó elfelejtése?” gombra kattintva vissza kell állítaniuk a jelszavukat.
 ... Upload pending	A minta feltöltése folyamatban van. A felhasználóknak várniuk kell, nem szabad bezárniuk a böngészőablakot és nem szabad megszakítaniuk az internetkapcsolatot.
 × Upload failed	A minta feltöltése sikertelen volt. <i>Ez a hiba akkor fordulhat elő, ha a böngészőablakot bezárták, vagy az internetkapcsolat megszakadt a feltöltés közben.</i> A felhasználóknak javasoljuk, hogy próbálják meg újra feltölteni a fájlt/fájlokat.
	A jelenlegi feltöltés előrehaladását jelzi A felhasználóknak javasoljuk, hogy várjanak, ne zárják be a böngészőablakot és ne szakítsák meg az internetkapcsolatot.

	Az oldal betöltése. Kérjük a felhasználókat, hogy várjanak.
... Bioinformatics - <i>pending</i>	Az elemzés folyamatban van. Kérjük a felhasználókat, hogy várjanak.
× Failed - <i>error</i>	Az elemzés sikertelen volt. A felhasználóknak ellenőrizniük kell az elemzés futtatásához használt beállításokat és adatokat, majd újra kell indítaniuk az elemzést.
⚠ Something went wrong Something went wrong, you should refresh this page before continue. Feel free to contact the support if the problem persist.	Hiba történt. A felhasználót arra kérjük, hogy kattintson az „Esc” gombra. Ha a probléma továbbra is fennáll, vegye fel a kapcsolatot az ügyfélszolgálattal a support@seqone.com címen.
× Missing fastq files	Ebből a mintából hiányoznak a kapcsolódó FastQ fájlok, ami azt jelenti, hogy ehhez a mintához nem indítható új elemzés.
unexpected EOF × Verification failed	A „Váratlan EOF” (fájl vége) üzenet egy csonkított fájlra utal. A felhasználót felkérjük, hogy ellenőrizze az adatokat, és töltsse be újra az érintett fájlokat.

A felhasználók a felhasználói irányítópult jobb felső sarkában található  logóra, majd a  Support ikonra kattintva vehetik fel a kapcsolatot a támogatási csapattal.

16. Garancia

Kérjük, olvassa el a karbantartási szerződésében szereplő garancia feltételeit.

17. Jogi nyilatkozat

17.1. Felhasználási feltételek

A felhasználói licencre vonatkozó információk a felhasználói fiók logójára, majd a *Felhasználási feltételekre* kattintva érhetők el. A felhasználók a felugró ablakban az „OPEN PDF” gombra kattintva megtekinthetik és letölthetik az információkat PDF formátumban.

17.2. Felelősség korlátozása

A SeqOne nem vállal semmilyen felelősséget a SeqOne platform visszaélésszerű vagy nem szakszerű használatáért.

A SeqOne egy klinikai döntéshozatali támogató eszköz, és nem felelős a kapott eredményekből származó diagnózisokért.

Ennek következtében a felhasználóknak kellő óvatossággal kell eljárniuk a szoftver és annak eredményeinek használata során. A diagnózisokat különböző klinikai és orvosi vizsgálatokkal kell megerősíteni.

17.3. Szerzői jogok és védjegyek

Az ebben az útmutatóban említett összes vállalat- és terméknév a tulajdonosok védjegye lehet.