

Protocole rapide de séquençage – test SarcomaFusion

Séquenceur Illumina NextSeq

1. Dilutions et dénaturation

Réactifs:

- Réactifs de séquençage Illumina

Etapes :

- Diluer chaque librairie à une concentration entre 0.5 et 4 nM
- Regrouper les libraires en équivolument. Si d'autres librairies sont séquencées, ajuster les concentrations des pools puis les combiner
- Dénaturer et diluer le pool final à une concentration finale de chargement entre 0.8 et 1.0 pM

2. Préparation des amorces de séquençages

Réactifs:

- Amorce **GEP-SP-001**
- Amorce **GEP-SP-002**
- Réactifs de séquençage Illumina

Etapes :

- Si Pool de librairies SarcomaFusion uniquement
- Diluer les amorces
 - GEP-SP-001** (6 µL)
 - GEP-SP-002** (6 µL)
 - Tampon HT1 (1988 µL)
- Déposer les 2000 µL dans le puits 7 de la cartouche
- Si pool de librairies SarcomaFusion avec d'autres librairies
 - Pipeter 2000 µL du puits 20
 - Ajouter
 - GEP-SP-001** (6 µL)
 - GEP-SP-002** (6 µL)
 - Déposer la totalité dans le puits 7

3. Préparation de la feuille d'injection

- Si la librairie **GENEXPATH SarcomaFusion** est séquencée seule, réaliser la feuille d'injection pour générer les FASTQ en prévoyant 120 cycles en read 1.
- Si les librairies **GENEXPATH SarcomaFusion** sont combinées à d'autres librairies de séquençage, générer la feuille d'injection en utilisant les paramètres habituels, sans renseigner les échantillons **GENEXPATH SarcomaFusion**.
- Spécifier l'utilisation de custom lors de la configuration du run (Avec Local Run Manager, sur la page Create Run. En mode run manuel, sur l'écran Run Setup).



Dans tous les cas, veiller à ce que la lecture en read 1 se fasse avec un minimum de 120 cycles et que la case Custom Primer for Read 1 soit sélectionnée.

4. Lancement du séquençage

Lancer le séquençage en suivant la procédure décrite dans le guide Illumina du système NextSeq.



Ce protocole rapide est un complément de la notice. Il ne dispense pas de la lecture complète de la notice.