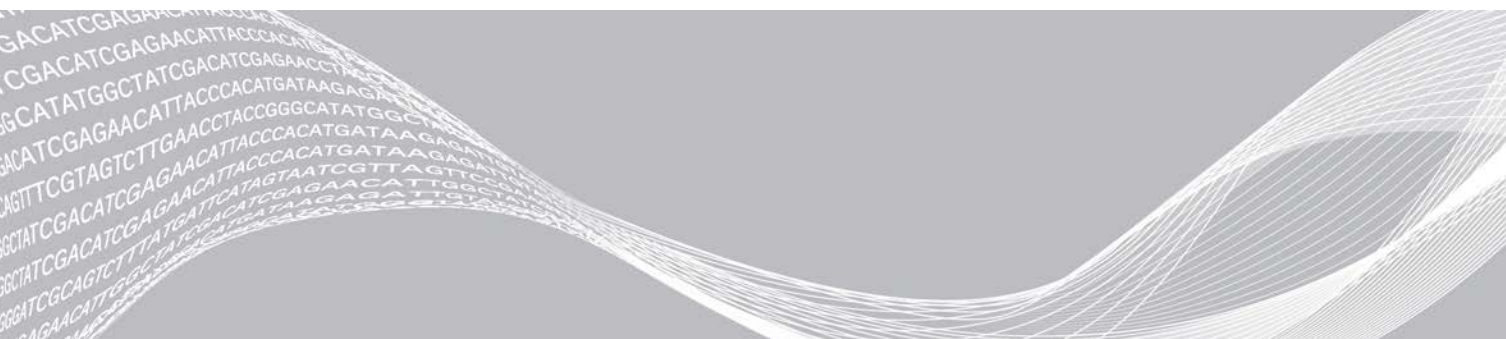


NextSeq 550Dx izpētes režīms

Instrumenta atsauces rokasgrāmata



Šī dokumenta un tā satura īpašumtiesības pieder uzņēmumam Illumina, Inc. un tā saistītajiem uzņēmumiem ("Illumina"), un klients to drīkst izmantot tikai līgumā noteiktajā veidā saistībā ar šajā dokumentā aprakstīto izstrādājumu lietošanu, un nekādiem citiem nolūkiem. Šo dokumentu un tā saturu nedrīkst izmantot vai izplatīt nekādiem citiem nolūkiem un/vai citādi publiskot, atklāt vai reproducēt jebkādā veidā bez iepriekšējas rakstiskas Illumina piekrišanas. Ar šo dokumentu Illumina nenodod nekādas licences, ko paredz tā patents, preču zīmes, autortiesības vai anglosakšu tiesības, nedz arī līdzīgas jebkuras trešās puses tiesības.

Šajā dokumentā sniegtie norādījumi ir stingri un precīzi jāievēro kvalificētiem un atbilstoši apmācītiem darbiniekiem, lai nodrošinātu šeit aprakstītā(-o) produkta(-u) pareizu un drošu lietošanu. Pirms šī izstrādājuma(-u) lietošanas ir pilnībā jāizlasa un jāizprot viss šī dokumenta saturs.

PILNĪBĀ NEIZLASOT UN PRECĪZI NEIEVĒROJOT VISUS ŠAJĀ DOKUMENTĀ IEKĻAUTOS NORĀDĪJUMUS, VAR RASTIES PRODUKTA(-U) BOJĀJUMI, PERSONU MIESAS BOJĀJUMI, TOSTARP LIETOTĀJU UN CITU PERSONU, UN CITA ĪPAŠUMA BOJĀJUMI, TURKLĀT TIKS ANULĒTAS VISAS PRODUKTAM(-IEM) PIEMĒROJAMĀS GARANTIJAS.

ILLUMINA NEUZŅEMAS NEKĀDU ATBILDĪBU, KAS IZRIET NO NEPAREIZAS ŠAJĀ DOKUMENTĀ APRAKSTĪTO PRODUKTU (TOSTARP TĀ DAĻU VAI PROGRAMMATŪRAS) LIETOŠANAS.

© 2021 Illumina, Inc. Visas tiesības paturētas.

Visas preču zīmes ir Illumina, Inc. vai to attiecīgo īpašnieku īpašums. Konkrētu informāciju par preču zīmēm skatiet vietnē www.illumina.com/company/legal.html.

Pārskatījumu vēsture

Dokuments	Datums	Izmaiņu apraksts
Dokuments # 1000000041922 v03	2021. gada oktobris	Sekvencēšanas izpilžu pārbaudes iekļauts paziņojums par 7 dienu taimerī. Atjaunināta sekvencēšanas darbplūsma, iekļaujot sadaļu, lai izveidotu izpildi, izmantojot programmatūru Local Run Manager. Mainīts stabilitātes ierobežojums BeachChip veidos iekļauts Infinium Methylation EPIC Atjaunināti ikonu attēlu, lai atspoguļoti izmaiņas LS
Dokuments # 1000000041922 v02	2020. gada novembris	Atjaunināts attēls sadaļā par manuālās mazgāšanas veikšanu, lai iekļautu jaunās reaģentu mazgāšanas un bufera mazgāšanas kasetnes. Atjaunināta statusa joslas informācija, pievienojot papildu krāsas.
Dokumenta # 1000000041922 v01	2018. gada marts	Sistēmas iestatījumu konfigurācijas sadaļā iekļauta informācija par Illumina Proactive uzraudzības pakalpojumu.
Dokumenta # 1000000041922 v00	2017. gada novembris	Sākotnējais laidieni.

Saturs

1. nodaļa Pārskats	1
Par šo rokasgrāmatu	1
Ievads	1
Papildu resursi	1
Instrumenta komponenti	2
Reaģentu komplekta pārskats	5
Sekvencēšanas palīgmateriālu pārskats	5
2. nodaļa Darba sākšana	9
Instrumenta ieslēgšana	9
Sistēmas iestatījumu pielāgošana	10
Lietotāja nodrošināti palīgmateriāli un aprīkojums	11
3. nodaļa Sekvencēšana	13
Ievads	13
Sekvencēšanas darbplūsma	14
Reaģentu kasetnes sagatavošana	14
Plūsmas šūnas sagatavošana	15
Bibliotēkas sagatavošana sekvencēšanai	15
Sekvencēšanas cikla iestatīšana	16
Cikla progresu uzraudzība	22
Automātiskā mazgāšana pēc izpildes	24
4. nodaļa Skenēšana	25
Ievads	25
Skenēšanas darbplūsma	26
DMAP mapes lejupielāde	26
BeadChip ievietošana adapterī	27
Skenēšanas iestatīšana	28
Skenēšanas progresu uzraudzība	30
5. nodaļa Apkope	33
Ievads	33
Manuālās mazgāšanas veikšana	33
Gaisa filtra nomaiņa	36
Programmatūras atjauninājumi	37
Atsāknēšanas un izslēgšanas opcijas	39
A pielikums Traucējummeklēšana	41
Ievads	41
Failu traucējummeklēšana	41
Automātiskās pārbaudes kļūdu novēršana	42
Izlietoto reaģentu tvertne ir pilna	44

Rehibridizācijas darbplūsma	45
BeadChip un skenēšanas kļūdas	46
Pielāgotas receptes un recepšu mapes	48
RAID kļūdas ziņojums	48
Sistēmas iestatījumu konfigurēšana	48
B pielikums Reāllaika analīze	53
Reāllaika analīzes pārskats	53
Reāllaika analīzes darbplūsma	54
C pielikums Izvades faili un mapes	57
Sekvencēšanas izvades faili	57
Izvades mapes struktūra	59
Skenēšanas izvades faili	60
Skenēšanas izvades mapju struktūra	61
Rādītājs	63
Tehniskā palīdzība	67

1. nodaļa Pārskats

Par šo rokasgrāmatu	1
levads	1
Papildu resursi	1
Instrumenta komponenti	2
Reaģentu komplekta pārskats	5
Sekvencēšanas palīgmateriālu pārskats	5

Par šo rokasgrāmatu

Šajā instrumenta atsauces rokasgrāmatā ir sniegti norādījumi par NextSeq 550Dx instrumenta izmantošanu izpētes (RUO) režīmā.

levads

Sekvencēšanas iespējas

- ▶ **Sekvencēšana ar augstu caurlaidi** — instruments NextSeq™ 550Dx nodrošina DNS bibliotēku sekvencēšanu.
- ▶ **Reāllaika analīze (RTA)** — veic attēlu apstrādi un bāzu nosaukšanu. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Reāllaika analīze* 53. lpp.
- ▶ **Datu analīzes iespējas instrumentā** — Analysis Software programmatūras analīzes moduļi, kas noteikti izpildei, var analizēt izpildes datus.
- ▶ **Divkārša sāknēšana** — instrumentā NextSeq 550Dx ir atsevišķi cietie diski, kas atbalsta diagnostikas (Dx) un izpētes (RUO) režīmu.

Masīva skenēšanas iespējas

- ▶ **Vadības programmatūrā integrēta masīva skenēšana** — NextSeq 550Dx instruments ļauj jums pāriet no masīva skenēšanas uz augstas izlaides sekvencēšanu vienā un tajā pašā instrumentā, izmantojot to pašu vadības programmatūru.
- ▶ **Paplašinātas attēlveidošanas iespējas** — NextSeq 550Dx instrumenta attēlveidošanas sistēmā ietilpst programmatūra un posma modifikācijas, kas pieļauj attēlveidošanu lielākam virsmas laukumam, lai veiktu BeadChip skenēšanu.
- ▶ **BeadChip veidi** — saderīgi BeadChip veidi ietver CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC un Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip adapteris** — atkārtoti lietojams BeadChip adapteris ļauj ērti ievietot BeadChip instrumentā.
- ▶ **Datu analīze** — izmantojiet programmatūru BlueFuse® Multi masīva datu analīzei.

Papildu resursi

Šī dokumentācija ir pieejama lejupielādei Illumina tīmekļa vietnē.

Resurss	Apraksts
NextSeq 550Dx instrumenta uzstādīšanas vietas sagatavošanas rokasgrāmata (dokumenta # 100000009869)	Sniedz informāciju par laboratorijas telpu specifikācijām, elektroinstalācijas prasībām un apkārtējās vides un apsvērumiem.
NextSeq 550Dx instrumentu drošības un atbilstības rokasgrāmata (dokumenta # 100000009868)	Sniedz informāciju par darbības drošības apsvērumiem, atbilstības paziņojumiem un instrumenta marķējumu.
RFID lasītāja atbilstības ceļvedis (dokumenta # 1000000030332)	Sniedz informāciju par instrumenta RFID lasītāju, atbilstības sertifikātiem un drošības apsvērumiem.
NextSeq 550Dx instrumenta izpētes režīma atsauces rokasgrāmata (dokumenta # 1000000041922)	Sniedz informāciju par instrumenta darbību un traucējummeklēšanas procedūrām. Izmantošanai, strādājot ar NextSeq 550Dx instrumentu izpētes režīmā, ar NextSeq vadības programmatūras (NCS) versiju v3.0.
NextSeq 550 sistēmas rokasgrāmata (dokumenta # 15069765)	Sniedz informāciju par instrumenta darbību un traucējummeklēšanas procedūrām. Izmantošanai, strādājot ar NextSeq 550Dx instrumentu izpētes režīmā, ar NextSeq vadības programmatūras (NCS) versiju v4.0 vai jaunāku versiju.
NextSeq 550 sistēmas rokasgrāmata	Sniedz pārskatu par instrumenta komponentiem, instrukcijas par instrumenta lietošanu, kā arī par apkopes un traucējummeklēšanas procedūrām.
BaseSpace palīdzība	Sniedz informāciju par BaseSpace™ sekvencēšanas centrmezgla izmantošanu un pieejamajām analīzes iespējām.

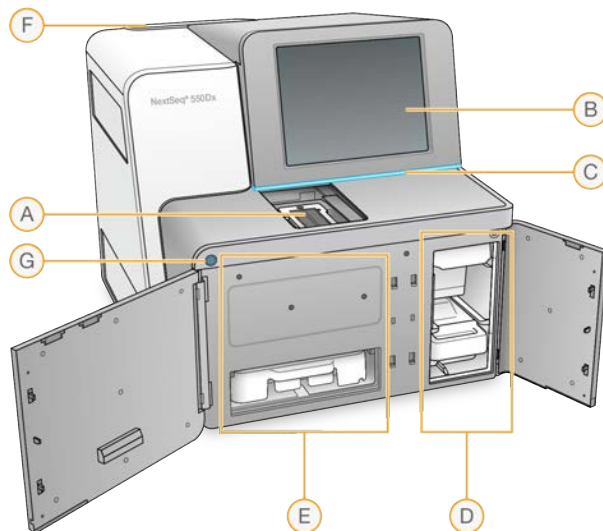
Illumina vietnē apmeklējiet [NextSeq 550Dx instrumenta atbalsta lapu](#), lai piekļūtu dokumentācijai, programmatūras lejupielādēm, tiešsaistes apmācībai un bieži uzdotajiem jautājumiem.

Lai piekļūtu dokumentācijai, programmatūras lejupielādēm, tiešsaistes apmācībai un bieži uzdotajiem jautājumiem, skatiet [NextSeq 550Dx atbalsta lapas](#) Illumina vietnē.

Instrumenta komponenti

Instrumenti NextSeq 550Dx ietver skārienekrāna monitoru, statusa joslu un četrus nodalījumus.

1. attēls Instrumenta komponenti



- A **Attēlveidošanas nodalījums** — sekvencēšanas izpildes gaitā ietver plūsmas šūnu.
- B **Skārienekrāna monitors** — ļauj konfigurēt un iestatīt instrumentu, izmantojot vadības programmatūras saskarni.
- C **Statusa josla** — tiek norādīta krāsa, kas apzīmē instrumenta statusu: notiek apstrāde (zila), jāpievērš uzmanība (oranža), gatavs sekvencēšanai (zaļa), notiek inicializēšana (pārmaiņus zila un balta), vēl nav inicializēts (balta) vai nākamo 24 stundu laikā jāmazgā (dzeltena).
- D **Bufera nodalījums** — ietver bufera kasetni un izlietoto reaģentu tvertni.
- E **Reaģenta nodalījums** — ietver reaģenta kasetni.
- F **Gaisa filtra nodalījums** — ietver gaisa filtru. Filtram var piekļūt no instrumenta aizmugures.
- G **Ieslēgšanas poga** — ieslēdz un izslēdz instrumentu un tā datoru.

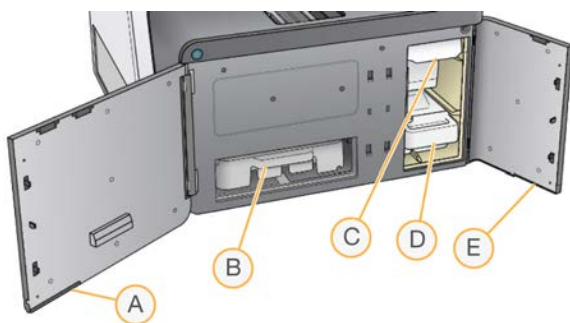
Attēlveidošanas nodalījums

Attēlveidošanas nodalījumā ir izvietota platforma ar trīs centrēšanas tapām plūsmas šūnas novietošanai. Kad plūsmas šūna ir ievietota attēlveidošanas nodalījumā, tā durvis tiek automātiski aizvērtas un komponenti tiek ievietoti tiem paredzētajās vietās.

Reaģenta un bufera nodalījumi

Sekvencēšanas izpildes iestatīšanai instrumentā NextSeq 550Dx ir nepieciešama piekļuve reaģenta nodalījumam un bufera nodalījumam, lai ievietotu palīgmateriālus un iztukšotu izlietoto reaģentu tvertni.

2. attēls Reaģenta un bufera nodalījumi



- A **Reaģenta nodalījuma durvis** — aizslēdz reaģenta nodalījumu ar slēgu, kas atrodas durvju kreisajā apakšējā stūrī. Reaģenta nodalījumā atrodas reaģenta kasetne.
- B **Reaģenta kasetne** — reaģenta kasetnē ir iepriekš iepildīts vienreiz lietojams palīgmateriāls.
- C **Bufera kasetne** — bufera kasetnē ir iepriekš iepildīts vienreiz lietojams palīgmateriāls.
- D **Izlietoto reaģentu tvertne** — izlietotie reaģenti ir jāsavāc iznīcināšanai pēc katras izpildes.
- E **Bufera nodalījuma durvis** — aizslēdz bufera nodalījumu ar slēgu, kas atrodas durvju kreisajā apakšējā stūrī.

Gaisa filtra nodalījums

Gaisa filtra nodalījumā atrodas gaisa filtrs, un tas atrodas instrumenta aizmugurē. Mainiet gaisa filtru ik pēc 90 dienām. Informāciju par filtra nomaiņu skatiet sadaļā [Gaisa filtra nomaiņa 36. lpp.](#)

NextSeq 550Dx programmatūra






Instrumenta programmatūrā ir integrētas lietojumprogrammas, kas veic sekvencēšanas izpildes.

- ▶ **NextSeq vadības programmatūra (NCS)** — vadības programmatūra sniedz norādījumus, kā iestatīt sekvencēšanas izpildi.

- **Reāllaika analīzes (RTA) programmatūra** — RTA veic analīzi un bāzu noteikšanu izpildes laikā. Instrumentā NextSeq 550Dx tiek izmantota RTA v2, kas ietver svarīgu arhitektūru un no iepriekšējām versijām atšķirīgas funkcijas. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Reāllaika analīze 53. lpp.*

Statusa ikonas

Statusa ikona NCS augšējā labajā stūrī norāda uz visām apstākļu izmaiņām izpildes iestatīšanas laikā vai tās gaitā.

Statusa ikona	Statusa nosaukums	Apraksts
	Status OK (Statuss ir kārtībā)	Sistēma ir normāla.
	Apstrāde	Sistēmā notiek apstrāde.
	Brīdinājums	Ir notikusi brīdinājuma situācija. Brīdinājumi neaptur izpildi un nepieprasa rīcību pirms turpināšanas.
	Kļūda	Ir radusies kļūda. Pirms turpināt izpildi, ir jāveic kāda darbība.
	Nepieciešama apkope	Ir notikusi situācija, kurai jāpievērš uzmanība. Papildinformāciju skatiet paziņojumā.

Kad notiek stāvokļa maiņa, ikona mirgo, lai jūs brīdinātu. Atlasiet ikonu, lai skatītu stāvokļa aprakstu. Atlasiet **Acknowledge** (Atzīt), lai pieņemtu paziņojumu, un **Close** (Aizvērt), lai aizvērtu dialoglodziņu.

PIEZĪME

Paziņojuma apstiprināšana atiestata ikonu, un paziņojums ir pelēks. Paziņojums joprojām ir redzams lietotājiem, ja viņi izvēlas ikonu, taču pazūd, kad NCS tiek restartēts.

Ieslēgšanas poga

Barošanas poga NextSeq 550Dx priekšpusē ieslēdz instrumentu un instrumenta datoru. Barošanas poga, atkarībā no instrumenta barošanas režīma, veic tālāk norādītās darbības. Pēc noklusējuma NextSeq 550Dx tiek sāknēts diagnostikas režīmā.

Informāciju par instrumenta sākotnējo ieslēgšanu skatiet sadaļā *Instrumenta ieslēgšana 9. lpp.*

Informāciju par instrumenta izslēgšanu skatiet sadaļā *Instrumenta izslēgšana 39. lpp.*

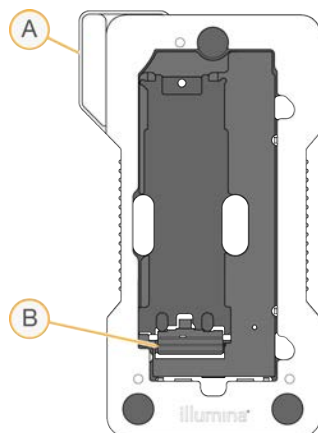
Barošanas režīms	Darbība
Instrumenta barošana ir atslēgta	Nospiediet barošanas pogu, lai ieslēgtu strāvas padevi.
Instrumenta barošana ir ieslēgta	Nospiediet barošanas pogu, lai izslēgtu strāvas padevi. Lai apstiprinātu instrumenta izslēgšanu, ekrānā tiek parādīts dialoglodziņš.
Instrumenta barošana ir ieslēgta	Nospiediet barošanas pogu un 10 sekundes turiet to nospiestu, lai izraisītu instrumenta un instrumenta datora piespiedu izslēgšanu. Izmantojiet šo instrumenta izslēgšanas metodi tikai tādos gadījumos, kad tas nereaģē uz standarta darbībām.

PIEZĪME Instrumenta izslēgšana sekvenčēšanas izpildes laikā nekavējoties aptur izpildes procesu. Izpildes apturēšana ir neatgriezeniska. Izpildei izmantotie materiāli nav izmantojami atkārtoti un attiecīgās izpildes dati netiek saglabāti.

Atkārtoti izmantojamā BeadChip adaptera pārskats

Skenēšanas laikā BeadChip ir ievietots atkārtoti izmantojamā BeadChip adapterī. BeadChip ir nostiprināts adaptera padziļinājumā ar stiprinājuma skavu. Pēc tam BeadChip adapteris tiek ievietots posmā attēlveidošanas nodalījumā.

3. attēls Atkārtoti izmantojams BeadChip adapteris



- A BeadChip adapteris
- B Stiprinājuma skava

Reaģentu komplekta pārskats

Sekvenčēšanas palīgmateriālu pārskats

Sekvenčēšanas palīgmateriāli, kas nepieciešami NextSeq 550Dx darbināšanai, tiek piegādāti atsevišķi vie#eiz lietojamā komplektā. Katrā komplektā ir viena plūsmas šūna, reaģentu kasetne, bufera kasetne un bibliotēkas atšķaidīšanas buferis. Papildinformāciju skatiet *NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekta v2 (300 cikli)*, *NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekta v2.5 (300 cikli)* vai *NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekta v2.5 (75 cikli)* iepakojuma ieliktnī.

Precīzai palīgmateriālu izsekošanai un savietojamībai plūsmas šūnā, reaģentu kasetnē un bufera kasetnē tiek izmantota radiofrekvences identifikācija (RFID).

UZMANĪBU!

NextSeq 550Dx augstas izvades reaģenta v2.5 komplektiem ir nepieciešama NOS 1.3 vai jaunāka versija, lai instruments pieņemtu v2.5 plūsmas šūnu kasetni. Pirms paraugu un palīgmateriālu sagatavošanas atjauniniet programmatūru, lai novērstu reaģentu un/vai paraugu izniekošanas.

PIEZĪME

Sekvenčēšanas palīgmateriālus glabājiet to kastēs, līdz tie gatavi izmantošanai.

Komplekta saderības marķējums

Komplekta sastāvdaļas ir marķētas ar krāsu kodiem, lai norādītu plūsmas šūnu un reaģentu kasetņu saderību. Vienmēr izmantojiet saderīgu reaģenta kasetni un plūsmas šūnu. Bufera kasetne ir universāla.

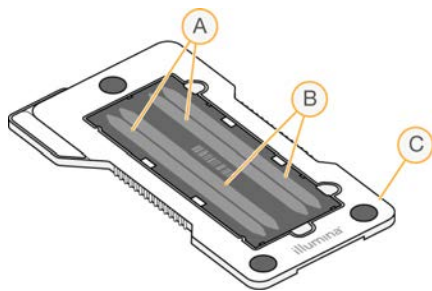
Katra plūsmas šūna un reaģenta kasetne ir marķēti ar etiķeti **High** (Augsts) vai **Mid** (Vidējs).

Gatavojot palīgmateriālus darbam, vienmēr pārbaudiet etiķeti.

Komplekta tips	Marķējums uz etiķetes
Augstas izlaides komplekta komponenti	
Vidējas izlaides komplekta komponenti	

Plūsmas šūnas pārskats

4. attēls Plūsmas šūnas kasetne



- A Joslu pāris A — 1. un 3. josla
- B Joslu pāris B — 2. un 4. josla
- C Plūsmas šūnas kasetnes ietvars

Plūsmas šūna ir uz stikla bāzes veidots substrāts, uz kura tiek ģenerēti klasteri un veikta sekvencēšanas reakcija. Plūsmas šūna ir ievietota plūsmas šūnas kasetnē.

Plūsmas šūna sastāv no četrām joslām, kuras tiek attēlotas pa pāriem.

- ▶ 1. un 3. josla (joslu pāris A) tiek attēlotas vienlaikus.
- ▶ 2. un 4. josla (joslu pāris B) tiek attēlotas tad, kad ir pabeigta joslu pāra A attēlveidošana.

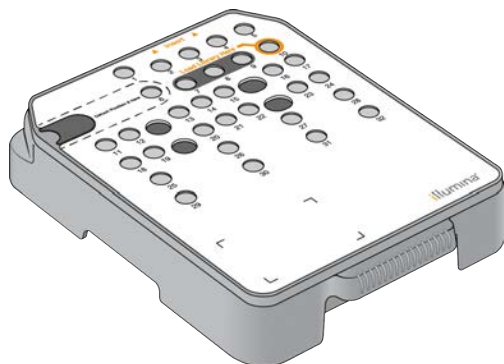
Lai arī plūsmas šūnai ir četras joslas, uz tās tiek sekvencēta tikai viena bibliotēka vai apvienotu bibliotēku komplekts. Bibliotēkas tiek ielādētas reaģentu kasetnē no vienas tvertnes un automātiski pārvietotas uz visām četrām plūsmas šūnas joslām.

Katra josla tiek attēlota mazos attēlveidošanas laukumos, ko sauc par elementiem. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Plūsmas šūnas elementi* 57. lpp.

Reaģentu kasetnes pārskats

Reaģentu kasetne ir vienreiz lietojams palīgmateriāls ar RFID izsekošanas birku un folijas noslēgtiem rezervuāriem, kuros ir iepriekš iepildīti klasterizācijas un sekvencēšanas reaģenti.

5. attēls Reaģenta kasetne



Reaģentu kasetne ietver rezervuāru, kurā var ievietot sagatavotas bibliotēkas. Kad izpilde ir sāka, bibliotēkas tiek automātiski pārvietotas no rezervuāra uz plūsmas šūnu.

Daži rezervuāri ir rezervēti tikai automātiskai pēcizpildes mazgāšanai. Mazgāšanas šķīdumu no bufera kasetnes pa sistēmu noved uz rezervētajiem rezervuāriem un pēc tam uz izlietoto reaģentu tvertni.

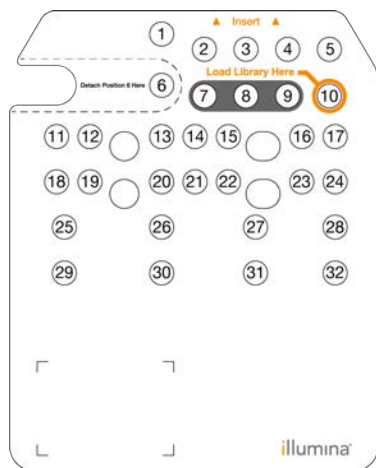


BRĪDINĀJUMS

Šajā reaģentu komplektā ir potenciāli bīstamas ķīmiskās vielas. Ieelpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimdus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem. Papildinformāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapā vietnē support.illumina.com/sds.html.

Rezervētie rezervuāri

6. attēls Numurētie rezervuāri



Pozīcija	Apraksts
7, 8 un 9	Rezervēti pielāgotajiem izvēles praimeriem
10	Load libraries (Bibliotēku ievietošana)

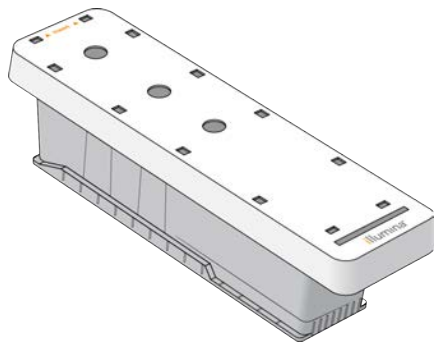
Noņemama tvertne 6. pozīcijā

Iepriekš uzpildītās reaģentu kasetnes 6. pozīcijā atrodas denaturēšanas reaģents, kas satur formamīdu. Lai atvieglotu drošu neizlietotā reaģenta iznīcināšanu pēc sekvencēšanas izpildes, 6. pozīcijas rezervuārs ir noņemams. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Izlietotā rezervuāra izņemšana no 6. pozīcijas 20. lpp.*

Bufera kasetnes pārskats

Bufera kasetne ir vienreizlietojams palīgmateriāls, kas satur trīs rezervuārus, kas iepriekš piepildīti ar buferiem un mazgāšanas šķīdumu. Bufera kasetnes saturs ir pietiekams vienas plūsmas šūnas sekvencēšanai.

7. attēls Bufera kasetne



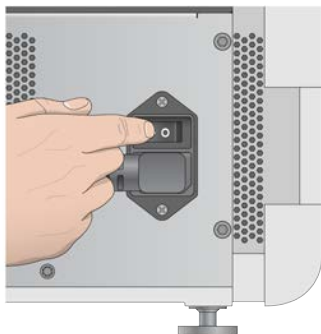
2. nodaļa Darba sākšana

Instrumenta ieslēgšana	9
Sistēmas iestatījumu pielāgošana	10
Lietotāja nodrošināti palīgmateriāli un aprīkojums	11

Instrumenta ieslēgšana

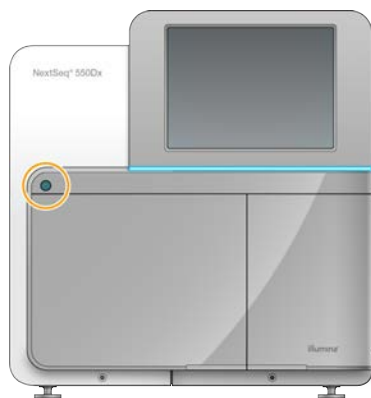
Pagrieziet ieslēgšanas tumblera slēdzi pozīcijā I (ieslēgts).

8. attēls Jaudas slēdzis instrumenta aizmugurē



- 1 Nospiediet barošanas pogu virs reaģenta nodalījuma. Barošanas poga nodrošina strāvas padevi uz instrumentu un ieslēdz instrumentā integrēto datoru un programmatūru.

9. attēls Barošanas poga instrumenta priekšpusē



- 2 Pagaidiet, līdz operētājsistēma ir pabeigusi ielādi.
NextSeq vadības programmatūra (NCS) automātiski palaiž un inicializē sistēmu.
Pēc tam, kad inicializēšana ir pabeigta, tiek atvērts sākuma ekrāns.
- 3 Ievadiet savu Local Run Manager lietotāja vārdu un paroli.
Informāciju par parolēm skatiet sadaļā *Lietotāju paroles 1. lpp* Informāciju par Local Run Manager konta izveidošanu skatiet sadaļā *Administratīvie iestatījumi un uzdevumi 1. lpp*
- 4 Atlasiet **Login** (Pieteikšanās).
Tiek atvērts sākuma ekrāns ar sekvences, Local Run Manager, instrumenta pārvaldības un mazgāšanas izpildes ikonām.

Instrumenta režīmu indikatori

NextSeq 550Dx noklusējuma režīms ir diagnostikas režīms. Šādi tiek parādīts instrumenta režīms NCS ekrānā.

Režīms	Sākuma ekrāns	Krāsu josla	Statusa ikonas orientācija
Diagnostikas režīms	Esiet sveicināti NextSeqDx	Zils	Horizontāli
Izpētes režīms	Esiet sveicināti NextSeq	Oranžs	Vertikāli

Sistēmas iestatījumu pielāgošana

Operētājprogrammatūrā ir pielāgojami sistēmas iestatījumi instrumenta identifikācijai, ievades izvēles, audio iestatījumi un izvades mapes atrašanās vieta. Informāciju par to, kā mainīt tīkla konfigurācijas iestatījumus, skatiet sadaļā *Sistēmas iestatījumu konfigurēšana 48. lpp.*

Pielāgošanas iespējas:

- ▶ instrumenta identifikācijas (avatāra un segvārda) pielāgošana;
- ▶ ievades opcijas un audio indikatora iestatīšana;
- ▶ izpildes iestatīšanas opciju iestatīšana;
- ▶ izslēgšanas opcijas;
- ▶ instrumenta iedarbināšanas konfigurēšana pēc pārbaudes pirms izpildes;
- ▶ izvēle nosūtīt instrumenta veiktspējas datus Illumina;
- ▶ izpildes izvades mapes nozīmēšana.

Instrumenta avatāra un segvārda pielāgošana

- 1 Sākuma ekrānā atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
- 2 Atlasiet **System Customization** (Sistēmas pielāgošana).
- 3 Lai savam instrumentam piešķirtu vēlamu attēlu, atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un sameklējiet attēlu.
- 4 Laukā Instrumenta segvārds ievadiet vēlamu instrumenta nosaukumu.
- 5 Lai saglabātu iestatījumus un pārietu nākamajā ekrānā, atlasiet **Save** (Saglabāt). Attēls un nosaukums tiek attēlots katra ekrāna augšējā kreisajā stūrī.

Tastatūras iestatīšanas opcija un audio indikators

- 1 Sākuma ekrānā atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
- 2 Atlasiet **System Customization** (Sistēmas pielāgošana).
- 3 Atzīmējiet izvēles rūtiņu **Use on-screen keyboard** (Izmantot ekrāntastatūru), lai aktivizētu ekrāntastatūru, ko lietot datu ievadei instrumentā.
- 4 Atzīmējiet izvēles rūtiņu **Play audio** (Atskaņot audio), lai ieslēgtu audio indikatorus šiem notikumiem:
 - ▶ instrumenta inicializācija;
 - ▶ izpildes sākšana;
 - ▶ noteiktu kļūdu rašanās;
 - ▶ nepieciešama lietotāja darbība;
 - ▶ izpildes pabeigšana.
- 5 Lai saglabātu iestatījumus un pārietu nākamajā ekrānā, atlasiet **Save** (Saglabāt).

Izpildes iestatīšanas opciju iestatīšana

- 1 Ierīces pārvaldīšanas ekrānā atlasiet **System Customization** (Sistēmas pielāgošana).
- 2 Atlasiet izvēles rūtiņu **Use Advanced Load Consumables** (Izmantot uzlabotas ielādes palīgmateriālus), lai iespējotu iespēju ielādēt visus izpildes palīgmateriālus no viena ekrāna.
- 3 Atlasiet izvēles rūtiņu **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Izlaist pirmsizpildes pārbaudes apstiprinājumu), lai pēc sekmīgas automātiskās pārbaudes automātiski sāktu sekvencēšana.
- 4 Atlasiet **Save** (Saglabāt), lai saglabātu iestatījumus un izietu no ekrāna.

Automātiskās iztīrīšanas iespējas iestatīšana

- 1 Ierīces pārvaldīšanas ekrānā atlasiet **System Customization** (Sistēmas pielāgošana).
- 2 Atlasiet izvēles rūtiņu **Purge Consumables at End of Run** (Iztīrīt palīgmateriālus izpildes beigās) izvēles rūtiņa, lai automātiski iztīrītu neizlietotos reaģentus no reaģentu kasetnes pēc katras izpildes.

PIEZĪME Palīgmateriālu tīrīšana automātiski piešķir darbplūsmai papildu laiku.

- 3 Atlasiet **Save** (Saglabāt), lai saglabātu iestatījumus un izietu no ekrāna.

Lietotāja nodrošināti palīgmateriāli un aprīkojums

NextSeq 550Dx instrumentā tiek izmantoti tālāk norādītie palīgmateriāli un aprīkojums. Palīgmateriālu sagatavošanai, sekvencēšanai un instrumentu apkopei tiek izmantoti turpmāk norādītie palīgmateriāli un aprīkojums. Vairāk informācijas skatiet *NextSeq 550 sistēmas rokasgrāmata*.

Palīgmateriāli sekvenēšanai

Palīgmateriāls	Piegādātājs	Nolūks
Spirta salvetes, 70% izopropanols vai etanols, 70%	VWR, # katalogā: 95041-714 (vai līdzvērtīgs izstrādājums) Vispārīgais laboratorijas piegādātājs	Plūsmas šūnu tīrīšanai un vispārīgam pielietojumam
Laboratorijas mazplūksnu salvetes	VWR, # katalogā: 21905-026 (vai līdzvērtīgs izstrādājums)	Plūsmas elementu tīrīšanai un vispārīgam pielietojumam

Palīgmateriāli apkopei un problēmu novēršanai

Palīgmateriāls	Piegādātājs	Nolūks
NaOCl, 5% (nātrija hipohlorīts)	Sigma-Aldrich, # katalogā 239305 (vai laboratorijas kvalitātes ekvivalents)	Instrumenta mazgāšana, izmantojot manuālo mazgāšanu pēc izpildes; atšķaidīts līdz 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, # katalogā P7949	Instrumenta mazgāšana, izmantojot manuālās mazgāšanas iespējas; atšķaidīts līdz 0,05%
Ūdens, laboratorijas kvalitāte	Vispārīgais laboratorijas piegādātājs	Instrumenta mazgāšana (manuālā mazgāšana)
Gaisa filtrs	Illumina, # katalogā 20022240	Gaisa tīrīšana, ko instruments ievada dzesēšanai

Vadlīnijas par laboratorijas klases ūdeni

Vienmēr izmantojiet laboratorijas klases ūdeni vai dejonizētu ūdeni, lai veiktu procedūras ar instrumentu. Nekad neizmantojiet krāna ūdeni. Izmantojiet tikai tālāk norādīto vai līdzvērtīgu klašu ūdeni:

- ▶ dejonizēts ūdens;
- ▶ Illumina PW1;
- ▶ 18 megomu (MΩ) ūdens;
- ▶ Milli-Q ūdens;
- ▶ Super-Q ūdens;
- ▶ molekulārās bioloģijas klases ūdens.

Aprīkojums

Ierīce	Avots
Saldētava, no -25 °C līdz -15 °C, bez apsarmojuma	Vispārīgais laboratorijas piegādātājs
Ledusskapis, no 2 °C līdz 8 °C	Vispārīgais laboratorijas piegādātājs

3. nodaļa Sekvencēšana

Ievads	13
Sekvencēšanas darbplūsma	14
Reaģentu kasetnes sagatavošana	14
Plūsmas šūnas sagatavošana	15
Bibliotēkas sagatavošana sekvencēšanai	15
Sekvencēšanas cikla iestatīšana	16
Cikla progresu uzraudzība	22
Automātiskā mazgāšana pēc izpildes	24

Ievads

Lai veiktu sekvencēšanas izpildi instrumentā NextSeq 550Dx, sagatavojiet reaģentu kasetni un plūsmas šūnu un pēc tam izpildiet programmatūras norādījumus, lai iestatītu un sāktu izpildi. Klasteru ģenerēšana un sekvencēšana tiek veikta instrumentā. Pēc izpildes automātiski sākas instrumenta mazgāšana ar komponentiem, kas jau ievietoti instrumentā.

Klasteru ģenerēšana

Klasteru ģenerēšanas laikā atsevišķas DNS molekulas tiek piesaistītas pie plūsmas elementa virsmas un pēc tam pastiprinātas, lai veidotu klasterus.

Sekvencēšana

Klasteri tiek attēloti, izmantojot divu kanālu sekvencēšanas ķīmisko struktūru un filtru kombinācijas, kas specifiskas katram no fluorescējoši marķētajiem nukleotīdiem. Kad uz plūsmas šūnas esošā elementa attēlveidošana ir pabeigta, tiek attēlots nākamais elements. Šis process tiek atkārtots katrā sekvencēšanas ciklā. Pēc attēlu analīzes programmatūra veic bāzes noteikšanu, filtrēšanu un kvalitātes vērtēšanu.

Analīze

Izpildes laikā vadības programmatūra automātiski pārsūta bāzes noteikšanas (Base Call — BCL) failus uz norādīto izvades vietu, lai veiktu sekundāro analīzi.

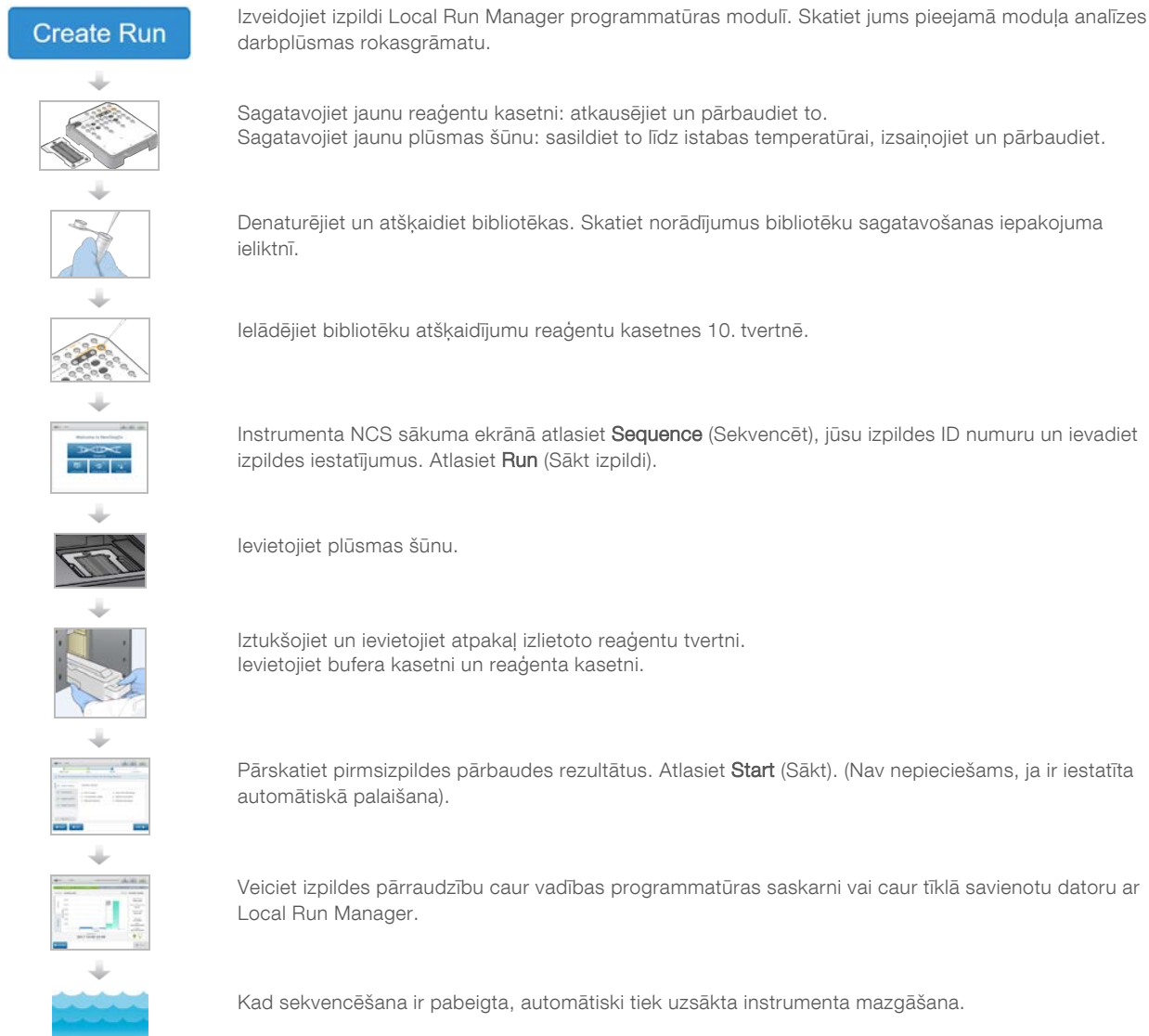
Sekvencēšanas izpildes ilgums

Sekvencēšanas izpildes ilgums ir atkarīgs no veikto ciklu skaita. Maksimālais izpildes ilgums ir pārota noslēguma izpilde ar 150 cikliem katram lasījumam (2 x 150), plus līdz pat 8 cikliem katrā no 2 indeksa lasījumiem.

Ciklu skaits lasījumā

Sekvencēšanas izpildē nolasījumā veikto ciklu skaits ir par 1 vairāk nekā analizēto ciklu skaits. Piemēram, pārota galu 150 ciklu izpildē tiek veikts 151 cikla nolasījums (2 x 151), kopumā 302 cikli. Darbības beigās tiek analizēti 2 x 150 cikli. Papildu cikls ir nepieciešams, lai veiktu fāzēšanas un pirmsfāzēšanas aprēķinus.

Sekvencēšanas darbplūsmā



Reaģentu kasetnes sagatavošana

Lai sekvencēšana noritētu veiksmīgi, noteikti ievērojiet reaģentu kasetnes norādījumus.

- 1 Izņemiet reaģentu kasetni no glabātavas, kuras temperatūra ir no -25 °C līdz -15 °C .
- 2 Reaģentu atkausēšanai izvēlieties vienu no turpmāk aprakstītajām metodēm. Neiegremdējiet kasetni. Pēc kasetnes atkausēšanas nosusiniet to, pirms veicat nākamo darbību.

Temperatūra	Atkausēšanas laiks	Stabilitātes ierobežojums
Ūdens peldē temperatūrā no 15 °C līdz 30 °C	60 minūtes	Ne vairāk kā 6 stundas
No 2 °C līdz 8 °C	7 stundas	Ne vairāk kā 7 dienas

PIEZĪME Ja vienā ūdens peldē atkausē vairāk nekā vienu kasetni, nodrošiniet papildu atkausēšanas laiku.

- 3 Apgrieziet kasetni piecas reizes, lai sajauktu reaģentus.
- 4 Pārbaudiet kasetnes dibenu, lai pārliecinātos, ka reaģenti ir atkausēti un bez nogulsņēm. Pārliecinieties, ka ir atkausēta 29., 30., 31. un 32. pozīcija, jo tās ir vislielākās un kūst visilgāk.
- 5 Lai samazinātu gaisa burbuļu skaitu, viegli piesitiet pie darbgalda. Lai iegūtu labākos rezultātus, uzreiz ievietojiet paraugu un iestatiet izpildi.



BRĪDINĀJUMS

Šajā reaģentu komplektā ir potenciāli bīstamas ķīmiskās vielas. Ieelpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimdsus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem. Papildinformāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapā vietnē support.illumina.com/sds.html.

Plūsmas šūnas sagatavošana

- 1 Izņemiet jaunu plūsmas šūnas kasti no glabātavas, kurā temperatūra ir no 2 °C līdz 8 °C.
- 2 Izņemiet folijas iepakojumu no kastes un 30 minūtes atstājiet to istabas temperatūrā.

PIEZĪME Ja folijas iepakojums ir neskarts, plūsmas šūna istabas temperatūrā var palikt līdz pat 12 stundām. Izvairieties no atkārtotas plūsmas šūnas atdzišanas un uzsilšanas.

Bibliotēkas sagatavošana sekvencēšanai

Denaturējiet un atšķaidiet bibliotēkas līdz 1,3 ml tilpumam. Praksē ievietošanas koncentrācija var mainīties atkarībā no bibliotēkas sagatavošanas un kvantifikācijas metodēm. Paraugu bibliotēku atšķaidīšana ir atkarīga no oligonukleotīdu kopumu sarežģītības. Norādījumus par to, kā sagatavot paraugu bibliotēkas sekvencēšanai, tostarp par bibliotēku atšķaidīšanu un apkopošanu, skatiet attiecīgajā bibliotēku sagatavošanas komplekta Lietošanas pamācības sadaļā. Klasteru blīvuma optimizācija instrumentā NextSeq 550Dx ir obligāta.

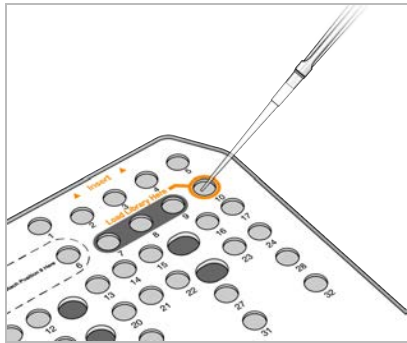
Bibliotēku denaturēšana un atšķaidīšana

Denaturējiet un atšķaidiet bibliotēkas līdz ievietošanas tilpumam 1,3 ml un ievietošanas koncentrācijai 1,8 pM. Praksē ievietošanas koncentrācija var mainīties atkarībā no bibliotēkas sagatavošanas un kvantifikācijas metodēm. Norādījumus skatiet bibliotēku sagatavošanas lietošanas instrukcijā.

Bibliotēku ievietošana reaģentu kasetnē

- 1 Notīriet 10. rezervuāra folijas plombu, kas marķēta ar uzrakstu **Load Library Here** (ievietot bibliotēku šeit), izmantojot mazplūksnu salveti.
- 2 Caurduriet plombu ar tīru 1 ml pipetes galu.
- 3 Ievietojiet 1,3 ml sagatavoto bibliotēku 10. rezervuārā, kas marķēts ar uzrakstu **Load Library Here** (ievietot bibliotēku šeit). Izdalot bibliotēkas, neaiztieciet folijas plombu.

10. attēls Bibliotēku ievietošana



Sekvencēšanas cikla iestatīšana

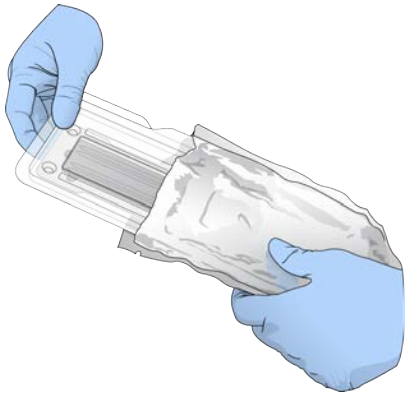
Pieteikšanās vietnē BaseSpace

- 1 Ievadiet savu BaseSpace lietotāja vārdu un paroli.
- 2 Atlasiet **Next** (Tālāk).

Plūsmas elementa ievietošana

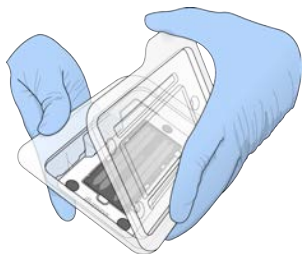
- 1 Izņemiet izlietoto plūsmas šūnu no iepriekšējās izpildes.
- 2 Izņemiet plūsmas šūnu no folijas iepakojuma.

11. attēls Izņemšana no folijas iepakojuma



- 3 Atveriet caurspīdīgo plastmasas gliemežvāka formas iepakojumu un izņemiet plūsmas šūnu.

12. attēls Izņemšana no gliemežvāka formas iepakojuma

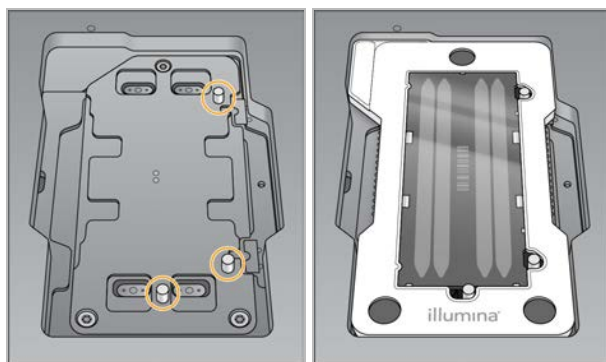


- 4 Notīriet plūsmas šūnas stikla virsmu ar neplūksnainu spirta salveti. Nosusiniet stiklu ar mazplūksnu salveti.

PIEZĪME Pārliecinieties, ka plūsmas šūnas stikla virsma ir tīra. Ja nepieciešams, atkārtojiet tīrīšanu.

- 5 Nolīdziniet plūsmas elementu virs izlīdzināšanas tapām un novietojiet plūsmas šūnu uz posma.

13. attēls Plūsmas elementa ievietošana



- 6 Atlasiet **Load** (Ievietot).
Automātiski aizveras durvis, ekrānā parādās plūsmas šūnas ID un tiek pārbaudīti sensori.

PIEZĪME Lai izvairītos no saspiešanas, aizvēršanas brīdī neturiet rokas plūsmas šūnas durvju tuvumā.

- 7 Atlasiet **Next** (Tālāk).

Izlietoto reaģentu tvertnes iztukšošana

- 1 Atveriet bufera nodalījuma durvju slēgu (durvju kreisajā apakšējā stūrī).
- 2 Izņemiet izlietoto reaģentu tvertni un izmetiet saturu saskaņā ar piemērojamajiem standartiem.

14. attēls Izlietoto reaģentu tvertnes izņemšana



PIEZĪME Izņemot tvertni, atbalstiet to no apakšas ar roku.

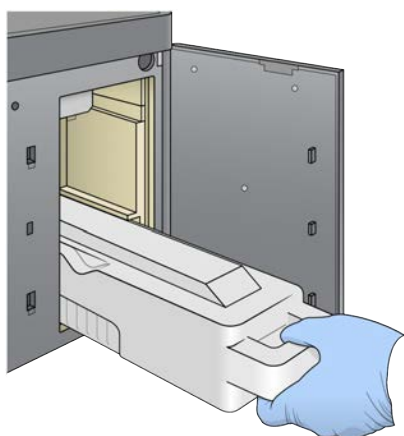


BRĪDINĀJUMS

Šajā reaģentu komplektā ir potenciāli bīstamas ķīmiskās vielas. Ieelpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimdus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem. Papildinformāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapā vietnē support.illumina.com/sds.html.

- 3 Bufera nodalījumā iebīdīet tukšo izlietoto reaģentu tvertni, līdz tā apstājas. Kad dzirdēsiet klikšķi, tas nozīmē, ka tvertne ir nofiksēta tai paredzētajā vietā.

15. attēls Tukšas izlietoto reaģentu tvertnes ievietošana



Bufera kasetnes ievietošana

- 1 Izņemiet izlietoto bufera kasetni no augšējā nodalījuma.
Lai paceltu un pēc tam izvilktu bufera kasetni, jāpielieto zināms spēks.
- 2 Bufera nodalījumā iebīdiēt jaunu bufera kasetni, līdz tā apstājas.
Dzirdams klikšķis norāda, ka kasetne atrodas vietā, ekrānā parādās bufera kasetnes ID un tiek pārbaudīts sensors.

16. attēls Bufera kasetnes ievietošana



- 3 Aizveriet bufera nodalījuma durvis un atlasiet **Next** (Tālāk).

Reaģentu kasetnes ievietošana

- 1 Atveriet reaģentu nodalījuma durvis, izmantojot fiksatoru zem durvju apakšējā labā stūra.
- 2 Izņemiet izlietoto reaģentu kasetni no reaģentu nodalījuma. Iznīciniet neizlietoto saturu atbilstoši piemērojamajiem standartiem.



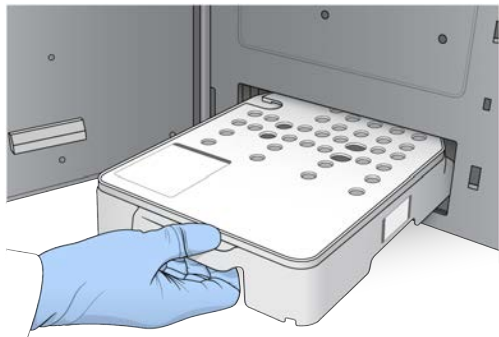
BRĪDINĀJUMS

Šajā reaģentu komplektā ir potenciāli bīstamas ķīmiskās vielas. Ieelpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimdus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamajiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem. Papildinformāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapā vietnē support.illumina.com/sds.html.

PIEZĪME Lai atvieglotu drošu neizlietotā reaģenta iznīcināšanu, 6. pozīcijā esošais rezervuārs ir noņemams. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Izlietotā rezervuāra izņemšana no 6. pozīcijas 20. lpp.*

- 3 Iebīdiēt reaģentu kasetni reaģentu nodalījumā, līdz kasetne apstājas, un pēc tam aizveriet reaģenta nodalījuma durvis.

17. attēls Reaģentu kasetnes ievietošana

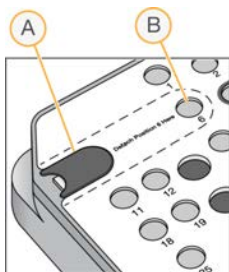


- 4 Atlasiet **Load** (Ievietot).
Programmatūra automātiski pārvieto kasetni pozīcijā (~30 sekundes), ekrānā parādās reaģentu kasetnes ID, un tiek pārbaudīti sensori.
- 5 Atlasiet **Next** (Tālāk).

Izlietotā rezervuāra izņemšana no 6. pozīcijas

- 1 Kad **izlietotā** reaģentu kasetne ir izņemta no instrumenta, noņemiet aizsargājošo gumijas apvalku virs atveres līdzās 6. pozīcijai.

18. attēls Izņemamā 6. pozīcija



- A Aizsargājošs gumijas apvalks
- B 6. pozīcija

- 2 Nospiediet caurspīdīgo plastmasas cilni un spiediet to pa kreisi, lai izņemtu rezervuāru.
- 3 Iznīciniet rezervuāru atbilstoši piemērojamajiem standartiem.

Izpildes parametru noteikšana

Ekrānā Run Setup (Izpildes iestatīšana) veicamās darbības atšķiras atkarībā no sistēmas konfigurācijas:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace vai BaseSpace uz vietas) — ekrānā Run Setup (Izpildes iestatīšana) ir uzskaitītas darbības, kas tika iestatītas, izmantojot cilni BaseSpace Prep. Ja paredzētā izpilde neparādās ekrānā Run Setup (Izpildes iestatīšana), pārliecinieties, vai izpilde ir atzīmēta sekvencēšanai vietnē BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (Autonoms) — ekrānā Run Setup (Izpildes iestatīšana) ir iestatīti lauki izpildes parametru noteikšanai.


Pieejamās izpildes atlase (BaseSpace konfigurācija)

- 1 Pieejamo darbību sarakstā atlasiet izpildes nosaukumu.
Izmantojiet augšupvērsto un lejupvērsto bultiņu, lai ritinātu sarakstu vai meklēšanas laukā ievadītu izpildes nosaukumu.
- 2 Atlasiet **Next** (Tālāk).
- 3 Apstipriniet izpildes parametrus.
 - ▶ **Run Name** (Izpildes nosaukums) — izpildes nosaukums, kas piešķirts vietnē BaseSpace.
 - ▶ **Library ID** (Bibliotēkas ID) — apkopoto bibliotēku nosaukums, kas piešķirts vietnē BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (Recepte) — receptes nosaukums vai nu **NextSeq High** (NextSeq augsts) vai **NextSeq Mid** (NextSeq vidējs) atkarībā no reaģentu kasetnes, kas izmantota izpildei.
 - ▶ **Read Type** (Nolasījuma veids) — viens nolasījums vai pārotu galu.
 - ▶ **Read Length** (Nolasījuma garums) — ciklu skaits katram nolasījumam.
 - ▶ **[Neobligāti]** Pielāgoti praimerī, ja piemērojams.
 - ▶ **Run parameters** (Izpildes parametri) — mainiet nolasījumu skaitu vai ciklu skaitu vienā nolasījumā.
 - ▶ **Custom primers** (Pielāgotie praimerī) — mainiet pielāgoto praimeru iestatījumus. Papildinformāciju skatiet *NextSeq pielāgoto praimeru rokasgrāmata (dokuments # 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Iztīrīt izpildes palīgmateriālus) — mainiet iestatījumu, lai automātiski iztīrītu palīgmateriālus pēc pašreizējās izpildes.
- 4 Atlasiet **Next** (Tālāk).

Izpildes parametru ievade (Autonoma konfigurācija)

- 1 Ievadiet izvēlētu izpildes nosaukumu.
- 2 **[Neobligāti]** Ievadiet vēlamu bibliotēkas ID.
- 3 Izvēlieties nolasījuma veidu — **Single Read** (Viens nolasījums) vai **Paired End** (Sapārotu galu).
- 4 Ievadiet katra nolasījuma ciklu skaitu sekvencēšanas izpildē.
 - ▶ **Read 1** (1. nolasījums) — ievadiet vērtību līdz 151 ciklam.
 - ▶ **Index 1** (1. rādītājs) — ievadiet ciklu skaitu, kas nepieciešami Index 1 (1. rādītāja) (i7) praimerim.
 - ▶ **Index 2** (2. rādītājs) — ievadiet ciklu skaitu, kas nepieciešami Index 2 (2. rādītāja) (i5) praimerim.
 - ▶ **Read 2** (2. nolasījums) — ievadiet vērtību līdz 151 ciklam. Šī vērtība parasti ir tāds pats skaitlis kā ciklu skaits 1. nolasījumā.

Vadības programmatūra apstiprina jūsu ierakstus, izmantojot tālāk norādītos kritērijus:





 - ▶ Kopējais ciklu skaits nepārsniedz maksimāli pieļaujamo ciklu skaitu
 - ▶ Ciklu vērtība 1. nolasījumam ir lielāka par 5 cikliem, ko izmanto veidnes ģenerēšanai
 - ▶ Index Read (Rādītāja nolasījuma) ciklu skaits nepārsniedz 1. un 2. nolasījuma ciklu skaitu
- 5 **[Neobligāti]** Ja jūs izmantojat pielāgotus praimerus, atzīmējiet izmantoto praimeru izvēles rūtiņu. Papildinformāciju skatiet *NextSeq pielāgoto praimeru rokasgrāmata (dokuments # 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** (1. nolasījums) — pielāgots 1. nolasījuma praimeris.
 - ▶ **Index 1** (1. rādītājs) — pielāgots 1. rādītāja praimeris.
 - ▶ **Index 2** (2. rādītājs) — pielāgots 2. rādītāja praimeris.
 - ▶ **Read 2** (2. nolasījums) — pielāgots 2. nolasījuma praimeris.
- 6 **[Neobligāti]** Atlasiet pogu **Advanced Settings**  (Papildu iestatījumi), lai mainītu izpildes parametrus.
 - ▶ Nolaizamajā sarakstā Recipe (Recepte) atlasiet recepti. Ir uzskaitītas tikai saderīgas receptes.

- ▶ **Output folder location** (Izvades mapes atrašanās vieta) — mainiet pašreizējās darbības izvades mapes atrašanās vietu. Atlasiet **Browse** (Pārlūkot), lai dotos uz atrašanās vietu tīklā.
- ▶ **Included file** (Iekļauts fails) — atlasiet failus, kurus iekļaut izvades mapē un kas var būt noderīgi, ja nepieciešama papildu analīze. Piemēram, manifesta faili un paraugu saraksti.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Iztīrīt izpildes palīgmateriālus) — mainiet iestatījumu, lai automātiski iztīrītu palīgmateriālus pēc pašreizējās izpildes.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Izmantot pašreizējai izpildei uzraudzību) — mainiet iestatījumu, lai vietnē BaseSpace izmantotu izpildes uzraudzību.

7 Atlasiet **Next** (Tālāk).

Pirmsizpildes pārbaudes pārskatīšana

Programmatūra veic automatizēto sistēmas pirmsizpildes pārbaudi. Pārbaudes laikā ekrānā tiek parādīti tālāk norādītie indikatori:

- ▶ **Pelēka atzīme**  — pārbaude vēl nav veikta.
- ▶ **Progresu ikona**  — notiek pārbaude.
- ▶ **Zaļa atzīme**  — pārbaude ir izturēta.
- ▶ **Sarkans krustiņš**  — pārbaude nav izturēta. Attiecībā uz visiem vienumiem, kuri neizturēja pārbaudi, ir jāveic darbības, pirms varēsiet turpināt. Skatiet sadaļu *Automātiskās pārbaudes kļūdu novēršana* 42. lpp.

Lai apturētu notiekošu automatizēto pirmsizpildes pārbaudi, atlasiet pogu **Cancel** (Atcelt). Lai atsāktu pārbaudi, atlasiet pogu **Retry** (Mēģināt vēlreiz). Pārbaude tiek atsākta no pirmās pārbaudes, kura nebija pabeigta vai bija neveiksmīga.

Lai apskatītu katras atsevišķas pārbaudes rezultātus vienā kategorijā, atlasiet cilni Category (Kategorija).

Ja instrumentā nav konfigurēta automātiskā izpildes sākšana, sāciet izpildi, kad ir pabeigta automātiskā pirmsizpildes pārbaude.

Izpildes uzsākšana

Kad automatizētā pārbaude pirms izpildes ir pabeigta, atlasiet **Start** (Sākt). Sākas sekvencēšanas izpilde.

Lai konfigurētu sistēmu tādējādi, lai tā pēc veiksmīgas pārbaudes automātiski sāktu izpildi, skatiet sadaļu *Izpildes iestatīšanas opciju iestatīšana* 11. lpp.



UZMANĪBU!

Pārliedzinieties, ka esat pieteicies sistēmā Windows. Ja sekvencēšanas izpildes laikā atsakāties no Windows sistēmas, izpilde tiek pārtraukta.

PIEZĪME Reagenti nevar būt dīkstāvē ilgāk par 24 stundām.

Cikla progresu uzraudzība

1 Uzraugiet izpildes progresu, intensitātes un kvalitātes rādītājus, ekrānā parādoties rezultātiem.









PIEZĪME Pēc tam, kad esat izvēlējies iespēju Home (Sākums), nav iespējams atgriezties, lai skatītu izpildes rādītājus. Taču izpildes rādītāji ir pieejami vietnē BaseSpace vai skatāmi no autonoma datora, izmantojot programmatūru Sequencing Analysis Viewer (Sekvencēšanas analīzes skatītājs) (SAV).

Izpildes rādītāju cikli

Izpildes rādītāji tiek parādīti dažādos izpildes posmos.

- ▶ Klasteru ģenerēšanas darbību laikā rādītāji netiek parādīti.
- ▶ Pirmos piecus ciklus izmanto veidņu ģenerēšanai.
- ▶ Izpildes rādītāji, tostarp klasteru blīvums, klasteri, kas iziet filtru, ieguve un kvalitātes rādītāji, tiek parādīti pēc 25. cikla.

Datu pārsūtīšana

Status (Izpildes statuss)	Local Run Manager	Izvades mape
Savienots		
Savienots un veic datu pārsūtīšanu		
Atvienots		
Atspējots		

Ja datu pārsūtīšana apstrādes laikā tiek pārtraukta, dati īslaicīgi tiek saglabāti instrumenta datorā. Datu pārsūtīšana tiek automātiski atsākta uzreiz pēc savienojuma atjaunošanas. Ja pirms izpildes pabeigšanas savienojums netiek atjaunots, pirms nākamās izpilde uzsākšanas veiciet manuālu datu pārsūtīšanu.

Universālais kopēšanas pakalpojums

Instrumentam NextSeq 550Dx ir universāls kopēšanas pakalpojums. RTA2 pieprasa pakalpojumam kopēt failus no izcelsmes vietas uz mērķa vietu, un pakalpojums apstrādā kopēšanas pieprasījumus to saņemšanas secībā. Ja notiek izņēmums, faila kopēšana tiek atkārtoti ievietota rindā, pamatojoties uz failu skaitu kopēšanas rindā.

Sekvencēšanas analīzes skatītājs

Programmatūra Sequencing Analysis Viewer (Sekvencēšanas analīzes skatītājs) parāda secības rādītājus, kas ģenerēti izpildes laikā. Rādītāji tiek parādīti grafiku, diagrammu un tabulu veidā, pamatojoties uz RTA ģenerētiem datiem, kas ierakstīti InterOp failos. Izpildes gaitā rādītāji tiek atjaunināti. Izvēlieties **Refresh** (Atsvaidzināt) jebkurā brīdī izpildes laikā, lai skatītu atjauninātus rādītājus. Papildinformāciju skatiet *Sequencing Analysis Viewer (Sekvencēšanas analīzes skatītāja) lietotāja rokasgrāmata (daļas # 15020619)*.

Sequencing Analysis Viewer (Sekvencēšanas analīzes skatītājs) ir iekļauts instrumentā instalētajā programmatūrā. Varat arī instalēt programmatūru Sequencing Analysis Viewer (Sekvencēšanas analīzes skatītājs) citā datorā, kas ir saistīts ar to pašu tīklu kā instruments, lai attālināti uzraudzītu palaistos rādītājus.

Automātiskā mazgāšana pēc izpildes

Kad sekvencēšanas izpilde ir pabeigta, programmatūra uzsāk automātisku mazgāšanu pēc izpildes, izmantojot mazgāšanas šķīdumu no bufera kasetnes un NaOCl no reaģentu kasetnes.

Automātiskā mazgāšana pēc izpildes ilgst aptuveni 90 minūtes. Kad mazgāšana ir pabeigta, poga Sākums kļūst aktīva. Mazgāšanas laikā sekvencēšanas rezultāti paliek redzami uz ekrāna.

Pēc mazgāšanas

Pēc mazgāšanas paraugu pudeles ierīces paliek nolaistā stāvoklī, lai novērstu gaisa iekļūvi sistēmā. Atstājiet kasetnes tām paredzētajā vietā līdz nākamajai izpildei.

4. nodaļa Skenēšana

Ievads	25
Skenēšanas darbplūsma	26
DMAP mapes lejupielāde	26
BeadChip ievietošana adapterī	27
Skenēšanas iestatīšana	28
Skenēšanas progresa uzraudzība	30

Ievads

Lai veiktu skenēšanu NextSeq 550Dx instrumentā, jums nepieciešami tālāk norādītie izpildes komponenti.

- ▶ Hibridizēts un iekrāsots BeadChip
- ▶ Atkārtoti izmantojams BeadChip adapteris
- ▶ Atšifrēšanas kartes (DMAP) faili jūsu izmantotajam BeadChip
- ▶ Jūsu izmantotā BeadChip veida manifesta fails
- ▶ Jūsu izmantotā BeadChip veida klasteru fails

Izvades faili tiek ģenerēti skenēšanas laikā un pēc tam ievietoti rindā pārsūtīšanai uz norādīto izvades mapi.

Veiciet analīzi, izmantojot programmatūru BlueFuse Multi, kam nepieciešami skenēšanas dati genotipa noteikšanas (GTC) faila formātā. Pēc noklusējuma NextSeq 550Dx instruments ģenerē normalizētus datus un ar tiem saistītos genotipa noteikšanas vienumus GTC faila formātā. Pēc izvēles varat konfigurēt instrumentu, lai ģenerētu papildu intensitātes datu (IDAT) failus. Papildinformāciju skatiet sadaļā *BeadChip skenēšanas konfigurācija* 50. lpp.. lappusē.

Failu klienta atšifrēšana

DMAP mape satur informāciju, kas identificē lodīšu atrašanās vietas uz BeadChip un kvantitatīvi nosaka ar katru lodīti saistīto signālu. DMAP mape ir unikāla katram BeadChip svītrkodam.

Utilīta Decode File Client (Faila klienta atšifrēšana) ļauj lejupielādēt DMAP mapes tieši no Illumina serveriem, izmantojot standarta HTTP protokolu.

Lai piekļūtu failu klienta atšifrēšanai, dodieties uz [Failu klienta atšifrēšanas atbalsta lapu](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) Illumina vietnē (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Instalējiet faila klientu atšifrēšanu datorā ar piekļuvi DMAP mapes atrašanās vietai tīklā.

Papildinformāciju skatiet sadaļā *DMAP mapes lejupielāde* 26. lpp.. lappusē.

Manifesta faili un klasteru faili

Programmatūrai ir nepieciešama piekļuve manifesta failam un klasteru failam katram BeadChip. Katrs manifesta un klastera fails ir unikāls BeadChip tipam. Izmantojiet klasteru failus, kuru faila nosaukumā ir ietverts NS550. Šie faili ir savietojami ar instrumenta NextSeq 550Dx sistēmu.

- ▶ **Manifesta fails** — manifesta faili apraksta BeadChip SNP vai zondes saturu. Manifesta failos izmantotais faila formāts ir *.bpm.
- ▶ **Klasteru faili** — klasteru faili apraksta klasteru pozīcijas Illumina genotipēšanas masīvam un tiek izmantoti, analizējot datus, lai veiktu genotipa noteikšanu. Klasteru failos tiek izmantots *.egt faila formāts.

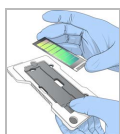
Failu atrašanās vieta ir norādīta ekrānā BeadChip Scan Configuration (BeadChip skenēšanas konfigurācija). NCS sākuma ekrānā atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu), **System Configuration** (Sistēmas konfigurācija) un pēc tam **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip skenēšanas konfigurācija).

Kad instruments NextSeq 550Dx ir uzstādīts, Illumina pārstāvis lejupielādē šos failus un norāda ceļu vadības programmatūrā. Šos failus nav nepieciešams modificēt, izņemot gadījumus, kad tie tiek zaudēti vai ir pieejama jauna versija. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Manifesta failu un klasteru failu aizvietošana* 48. lpp.. lappusē.

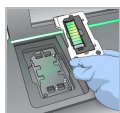
Skenēšanas darbplūsmā

DMAP

Lejupielādējiet DMAP informāciju un saglabājiet to norādītajā DMAP mapes vietā.



Ielieciet BeadChip uz BeadChip adaptera.



Ievietojiet BeadChip adapteri instrumentā.



Norādiet skenēšanas parametrus: DMAP mapes atrašanās vieta un izvades atrašanās vieta.



Pārskatiet automātiskās pārbaudes rezultātus.
Atlasiet **Start** (Sākt).



Pārraugiet skenēšanu no vadības programmatūras interfeisa.

DMAP mapes lejupielāde

Varat piekļūt DMAP mapei, izmantojot faila atšifrēšanas klientu atbilstoši kontam vai ar BeadChip (noklusējuma skats).

Piekļūstiet DMAP mapei pēc konta

- 1 Faila klienta dekodēšanas galvenajā cilnē atlasiet lejupielādes opciju:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ Visas BeadChips vēl nav lejupielādētas
 - ▶ Visas BeadChips
 - ▶ BeadChips pēc iegādes pasūtījuma
 - ▶ BeadChips pēc svītrkoda
- 2 Ievadiet nepieciešamo informāciju.

- 3 Atrodiet DMAP mapi, kuru vēlaties lejupielādēt.
- 4 Pārlicinieties, vai lejupielādes mērķa atrašanās vietā ir pietiekami daudz brīvas vietas.
- 5 Sāciet lejupielādi. Skatiet lejupielādes statusu cilnē Download Status and Log (Lejupielādes statuss un žurnāls).
- 6 Saglabāji DMAP mapi norādītajā DMAP mapes vietā.

Piekļuve DMAP mapei ar BeadChip

- 1 Identificēji BeadChips, izmantojot divas no tālāk norādītajām opcijām.
 - ▶ BeadChip svītrkods
 - ▶ BeadChips lodziņa ID
 - ▶ Pirkuma pasūtījuma numurs
 - ▶ Pārdošanas pasūtījuma numurs
- 2 Atrodiet DMAP mapi, kuru vēlaties lejupielādēt.
- 3 Pārlicinieties, vai lejupielādes mērķa atrašanās vietā ir pietiekami daudz brīvas vietas.
- 4 Sāciet lejupielādi. Skatiet lejupielādes statusu cilnē Download Status and Log (Lejupielādes statuss un žurnāls).
- 5 Saglabāji DMAP mapi norādītajā DMAP mapes vietā.

BeadChip ievietošana adapterī

- 1 Nospiediet adaptera stiprinājuma skavu uz leju. Skava nedaudz atliecas atpakaļ, lai atvērtos.
- 2 Turot BeadChip aiz malām, salāgoji BeadChip ar svītrkodu pie stiprinājuma skavas un novietoji BeadChip adaptera padziļinājumā.

19. attēls BeadChip ievietošana adapterī



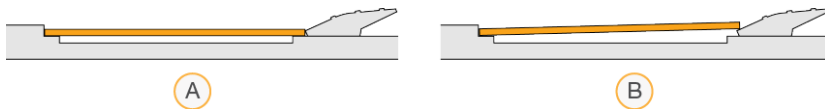
- 3 Izmantojot atveres abās BeadChip pusēs, nodrošini, ka BeadChip ir ievietots adaptera padziļinājumā.

20. attēls BeadChip ievietošana un nofiksēšana



- 4 Maigi atlaidiet stiprinājuma skavu, lai nofiksētu BeadChip.
- 5 Pārbaudiet BeadChip no malas, lai pārliecinātos, ka BeadChip ir līdzeni novietots uz adaptera. Ja nepieciešams, mainiet BeadChip novietojumu.

21. attēls BeadChip novietojuma pārbaude



- A Pareizs novietojums — BeadChip uz adaptera novietots līdzeni, kad skava ir atlaista.
B Nepareizs novietojums — BeadChip nav novietots līdzeni, kad skava ir atlaista.

Skenēšanas iestatīšana

- 1 Sākuma ekrānā atlasiet **Experiment** (Eksperiments) un pēc tam atlasiet **Scan** (Skenēt). Skenēšanas komanda atver attēlveidošanas nodaļuma durvis, atbloķē iepriekšējās izpildes palīgmateriālus (ja tādi ir) un atver skenēšanas iestatīšanas ekrānu sēriju. Īsa kavēšanās ir normāla parādība.

Sekvencēšanas palīgmateriālu izņemšana

Ja, iestatot skenēšanu, ir izmantoti sekvencēšanas palīgmateriāli, programmatūra pirms pāriešanas uz nākamo darbību parāda uzvedni ar aicinājumu izņemt reaģentu kasetni un bufera kasetni.

- 1 Ja uzvedne to prasa, izņemiet iepriekšējā sekvencēšanas izpildē izlietotos sekvencēšanas palīgmateriālus.
 - a Izņemiet reaģentu kasetni no reaģentu nodaļuma. Iznīciniet neizlietoto saturu atbilstoši piemērojamajiem standartiem.
 - b Izņemiet izlietoto bufera kasetni no bufera nodaļuma.



BRĪDINĀJUMS

Šajā reaģentu komplektā ir potenciāli bīstamas ķīmiskās vielas. Ielpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimdus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem. Papildinformāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapā vietnē support.illumina.com/sds.html.

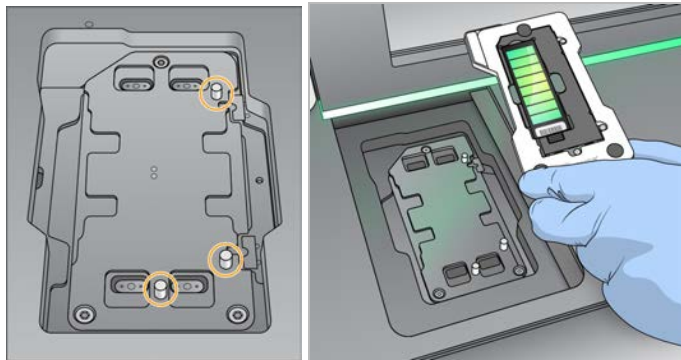
- 2 Izņemiet plūsmas šūnu no attēlveidošanas nodaļuma.

- 3 Aizveriet reaģenta nodalījuma un bufera nodalījuma durvis.

BeadChip adaptera ievietošana

- 1 Izmantojiet izlīdzināšanas tapas, lai novietotu BeadChip adapteri uz posma.

22. attēls BeadChip adaptera ievietošana



- 2 Atlasiet **Load** (Ievietot).
Automātiski aizveras durvis, ekrānā parādās BeadChip ID un tiek pārbaudīti sensori. Īsa kavēšanās ir normāla parādība. Ja BeadChip svītrkodu nevar nolasīt, parādās dialoglodziņš, kas ļauj svītrkodu ievadīt manuāli. Skatiet sadaļu *Programmatūra nevar nolasīt BeadChip svītrkodu* 46. lpp.. lappusē.
- 3 Atlasiet **Next** (Tālāk).

Skenēšanas iestatīšana

- 1 Ekrānā Scan Setup (Skenēšanas iestatīšana) apstipriniet tālāk norādīto informāciju.
 - ▶ **Barcode** (Svītrkods) — programmatūra nolasa BeadChip svītrkodu, kad BeadChip ir ielādēts. Ja svītrkods tika ievadīts manuāli, tiek parādīta poga Edit (Rediģēt), lai veiktu turpmākas izmaiņas.
 - ▶ **Type** (Veids) — BeadChip veida lauks tiek aizpildīts automātiski, pamatojoties uz BeadChip svītrkodu.
 - ▶ **DMAP location** (DMAP atrašanās vieta) — DMAP mapes atrašanās vieta ir norādīta ekrānā BeadChip Scan Configuration (BeadChip skenēšanas konfigurācija). Lai mainītu tikai pašreizējās skenēšanas vietu, atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un dodieties uz pareizo atrašanās vietu.
 - ▶ **Output Location** (Izvades vieta) — izvades vieta ir norādīta ekrānā BeadChip Scan Configuration (BeadChip skenēšanas konfigurācija). Lai mainītu tikai pašreizējās skenēšanas vietu, atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un dodieties uz vēlamo atrašanās vietu.
- 2 Atlasiet **Next** (Tālāk).

Pirmsizpildes pārbaudes pārskatīšana

Programmatūra veic automatizēto sistēmas pirmsizpildes pārbaudi. Pārbaudes laikā ekrānā tiek parādīti tālāk norādītie indikatori:

- ▶ **Pelēka atzīme** 🕒 — pārbaude vēl nav veikta.
- ▶ **Progresā ikona** 🔄 — notiek pārbaude.
- ▶ **Zaļa atzīme** ✓ — pārbaude ir izturēta.

- ▶ **Sarkans krustiņš** ✘ — pārbaude nav izturēta. Attiecībā uz visiem vienumiem, kuri neizturēja pārbaudi, ir jāveic darbības, pirms varēsiet turpināt. Skatiet sadaļu *Automātiskās pārbaudes kļūdu novēršana* 42. lpp.

Lai apturētu notiekošu automatizēto pirmsizpildes pārbaudi, atlasiet pogu **Cancel** (Atcelt). Lai atsāktu pārbaudi, atlasiet pogu **Retry** (Mēģināt vēlreiz). Pārbaude tiek atsākta no pirmās pārbaudes, kura nebija pabeigta vai bija neveiksmīga.

Lai apskatītu katras atsevišķas pārbaudes rezultātus vienā kategorijā, atlasiet cilni Category (Kategorija). Ja instrumentā nav konfigurēta automatiskā izpildes sākšana, sāciet izpildi, kad ir pabeigta automatiskā pirmsizpildes pārbaude.

Skenēšanas sākšana

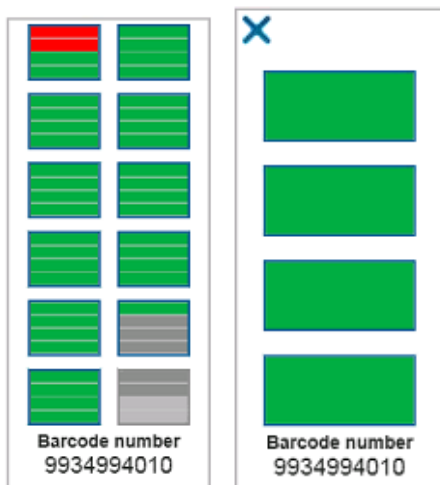
Kad automatizētā pārbaude ir pabeigta, atlasiet **Start** (Sākt). Sākas skenēšana.

Lai konfigurētu sistēmu tādējādi, lai tā pēc veiksmīgas pārbaudes automatiski sāktu skenēšanu, skatiet sadaļu *Izpildes iestatīšanas opciju iestatīšana* 11. lpp.. lappusē.

Skenēšanas progressa uzraudzība

- 1 Uzraugiet skenēšanas gaitu, izmantojot BeadChip attēlu. Katra attēla krāsa norāda skenēšanas statusu.
 - ▶ **Gaiši pelēks** — nav skenēts
 - ▶ **Tumši pelēks** — skenēts, bet nav reģistrēts.
 - ▶ **Zaļš** — sekmīgi skenēti un reģistrēti.
 - ▶ **Sarkans** — skenēšana un reģistrācija neizdevās.Ja reģistrācija neizdodas, varat atkārtoti skenēt paraugus, kuri satur neveiksmīgās sadaļas. Skatiet sadaļu *BeadChip skenēšanas kļūme* 47. lpp.. lappusē.
- 2 Atlasiet BeadChip attēlu, lai pārslēgtos starp atlasītā parauga pilno skatu un detalizēto skatu.
 - ▶ Pilns skats parāda paraugus uz BeadChip un sadaļas katrā paraugā.
 - ▶ Detalizētā skatā tiek parādīta katra sadaļa atlasītajā paraugā.

23. attēls BeadChip attēls: pilns skats un detalizēts skats



PIEZĪME Skenēšanas apturēšana ir neatgriezeniska. Ja skenēšana tiek pārtraukta pirms tā ir pabeigta, skenēšanas dati *netiek* saglabāti.

Datu pārsūtīšana

Kad skenēšana ir pabeigta, dati tiek ievietoti rindā pārsūtīšanai uz skenēšanas izvades mapi. Dati tiek īslaicīgi ierakstīti instrumentu datorā. Kad tiek sākta nākamā skenēšana, pagaidu mape tiek automātiski dzēsta no instrumentu datora.

Datu pārsūtīšanai nepieciešamais laiks ir atkarīgs no jūsu tīkla savienojuma. Pirms nākamās skenēšanas sākšanas pārliedzieties, ka dati ir ierakstīti izvades mapē. Lai pārbaudītu, pārliedzieties, ka svītrkoda mapē atrodas GTC faili. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Skenēšanas izvades mapju struktūra* 61. lpp.. lappusē.

Ja savienojums tiek pārtraukts, pēc savienojuma atjaunošanas datu pārsūtīšana tiek automātiski atsākta. Pēc ievietošanas rindā pārsūtīšanai uz izvades mapi katram failam ir vienas stundas taimeris. Ja taimera laiks beidzas vai ja instruments tiek atsāknēts pirms pārsūtīšana ir pabeigta, dati izvades mapē netiek ierakstīti.

5. nodaļa Apkope

Ievads	33
Manuālās mazgāšanas veikšana	33
Gaisa filtra nomaiņa	36
Programmatūras atjauninājumi	37
Atsāknēšanas un izslēgšanas opcijas	39

Ievads

Apkopes procedūrās iekļauta instrumenta mazgāšana ar rokām un gaisa filtra nomaiņa. Aprakstītas arī instrumenta izslēgšanas un atsāknēšanas darbības.

- ▶ **Instrumenta mazgāšana** — automātiska instrumenta pēcizpildes mazgāšana pēc katras sekvenču izpildes uztur instrumenta veiktspēju. Tomēr ik pa laikam, noteiktos apstākļos, ir nepieciešama mazgāšana ar rokām. Skatiet sadaļu *Manuālās mazgāšanas veikšana 33. lpp.*
- ▶ **Gaisa filtra nomaiņa** — regulāra gaisa filtra nomaiņa nodrošina pareizu gaisa plūsmu caur instrumentu.

Profilaktiskā apkope

Uzņēmums Illumina iesaka reizi gadā ieplānot profilaktisko apkopi. Ja nav noslēgts apkopes līgums, sazinieties ar teritoriālo tehniskā atbalsta speciālistu vai Illumina tehniskā atbalsta dienestu, lai vienotos par maksas profilaktisko apkopi.

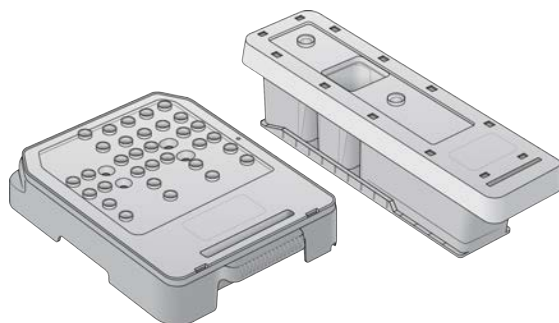
Manuālās mazgāšanas veikšana

Manuālo mazgāšanu var palaist no sākuma ekrāna. Mazgāšanas iespējas ietver ātro mazgāšanu un manuālo mazgāšanu pēc izpildes.

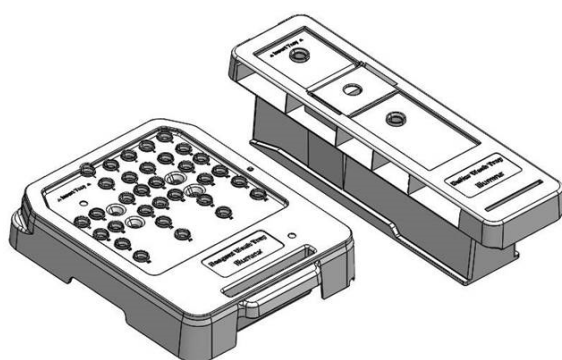
Mazgāšanas veidi	Apraksts
Ātrā mazgāšana Ilgums: 20 minūtes	Izskalo sistēmu ar lietotāja nodrošinātu laboratorijas kvalitātes ūdeni un Tween 20 (bufera mazgāšanas kasetne) mazgāšanas šķīdumu. <ul style="list-style-type: none">• Jāveic ik pēc 14 instrumenta dīkstāves dienām, esot ievietotai reaģentu kasetnei un bufera kasetnei.• Jāveic ik pēc 7 dienām, kurās instruments ir sausā stāvoklī (reaģenta kasetne un bufera kasetne ir izņemtas).
Manuāla mazgāšana pēc izpildes Ilgums: 90 minūtes	Izskalo sistēmu ar lietotāja nodrošinātu laboratorijas kvalitātes ūdeni, Tween 20 (bufera mazgāšanas kasetne) un 0,12% nātrija hipohlorīta (reaģentu mazgāšanas kasetne) mazgāšanas šķīdumu. Jāveic, ja nav veikta automātiskā mazgāšana pēc izpildes.

Manuālai mazgāšanai nepieciešama reaģenta mazgāšanas kasetne un bufera mazgāšanas kasetne, kas piegādātas kopā ar instrumentu, kā arī izlietota plūsmas šūna. Izlietotu plūsmas šūnu instrumenta mazgāšanai var izmantot līdz pat 20 reizēm.

24. attēls Oriģinālam līdzīga reaģenta mazgāšanas kasetne un bufera mazgāskasetne.



25. attēls Jauna veida reaģenta mazgāšanas kasetne un bufera mazgāšanas kasetne.



Manuālās pēcipildes mazgāšanas sagatavošana

Izvēlieties manuālās pēcipildes mazgāšanas sagatavošanu, kā aprakstīts tālāk, vai ātrās mazgāšanas sagatavošanu (skatiet nākamajā sadaļā). Ja plānojat veikt manuālo pēcipildes mazgāšanu, izlaidiet ātrās mazgāšanas sadaļu un turpiniet, kā aprakstīts sadaļā *Izmantotās plūsmas šūnas un mazgāšanas kasetnes ievietošana* 35. lpp.

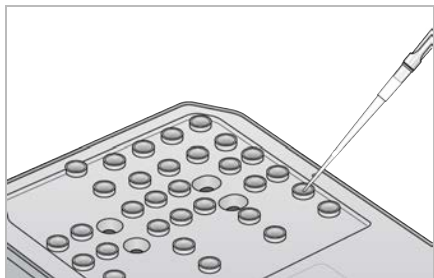
Lietotāja nodrošināmie palīgmateriāli	Tilpums un apraksts
NaOCl	1 ml, atšķaidīts līdz 0,12 % Iepildīts reaģenta mazgāšanas kasetnē (28. pozīcija)
100 % mazgāšanas šķīdums Tween 20 Laboratorijas klases ūdens	Izmanto, lai sagatavotu 125 ml 0,05 % mazgāšanas šķīdumu Tween 20 Iepildīts bufera mazgāšanas kasetnē (centrālajā rezervuārā)

PIEZĪME Vienmēr izmantojiet svaigu NaOCl šķīdumu, kas sagatavots iepriekšējās **24 stundās**. Ja tilpums ir lielāks par 1 ml, glabājiet atlikušo šķīdumu 2–8 °C temperatūrā un izlietojiet šķīdumu nākamo 24 stundu laikā. Pretējā gadījumā atlikušais NaOCl šķīdums jāizmet.

- Lai iegūtu 1 ml 0,12 % NaOCl šķīdumu, mikrocentrifūgas mēģenē sajauciet šīs sastāvdaļas:
 - ▶ 5% NaOCl (24 µl)
 - ▶ laboratorijas klases ūdens (976 µl).
- Lai sajauktu, apvēršiet mēģeni.

- Reaģenta mazgāšanas kasetnē iepildiet 1 ml 0,12 % NaOCl šķīduma. Pareizais rezervuārs atrodas **28.** pozīcijā uz iepriekš uzpildītās kasetnes.

26. attēls NaOCl iepildīšana



- Lai iegūtu 0,05 % mazgāšanas šķīdumu Tween 20, sajauciet šīs sastāvdaļas:
 Oriģinālam līdzīga bufera mazgāšanas kasetne
 - ▶ 100 % mazgāšanas šķīdums Tween 20 (62 µl);
 - ▶ Laboratorijas klases ūdens (125 ml).
 - ▶ Bufera mazgāšanas kasetnes centrālajā rezervuārā iepildiet 125 ml mazgāšanas šķīduma.
 Jauna veida bufera mazgāšanas kasetne
 - ▶ 100 % Tween 20 (75 µl).
 - ▶ Laboratorijas klases ūdens (150 ml).
 - ▶ Bufera mazgāšanas kasetnes centrālajā rezervuārā iepildiet 150 ml mazgāšanas šķīduma.
- Atlasiet **Perform Wash** (Veikt mazgāšanu) un pēc tam atlasiet **Manual Post-Run Wash** (Manuālā pēcizpildes mazgāšana).

Sagatavošanās ātrajai mazgāšanai

Jūs varat sagatavoties ātrajai mazgāšanai saskaņā ar zemāk aprakstīto procedūru, izpildot to kā alternatīvu opcijai *Manuālās pēcizpildes mazgāšanas sagatavošana* 34. lpp.

Lietotāja nodrošināmie paļigmateriāli	Tilpums un apraksts
100 % mazgāšanas šķīdums Tween 20 Laboratorijas klases ūdens	Izmanto, lai sagatavotu 40 ml 0,05 % mazgāšanas šķīdumu Tween 20 Iepilda uz bufera mazgāšanas kasetnes (vidējā tvertne)

- Lai iegūtu 0,05 % mazgāšanas šķīdumu Tween 20, sajauciet šīs sastāvdaļas:
 - ▶ 100 % Tween 20 (20 µl);
 - ▶ laboratorijas klases ūdens (40 ml).
- Bufera mazgāšanas kasetnes centrālajā rezervuārā iepildiet 40 ml mazgāšanas šķīduma.
- Atlasiet **Perform Wash** (Veikt mazgāšanu), pēc tam atlasiet **Quick Wash** (Ātrā mazgāšana).

Izmantotās plūsmas šūnas un mazgāšanas kasetnes ievietošana

- Ja izmantotā plūsmas šūna nav ievietota, ievietojiet to. Atlasiet **Load** (Ievietot) un pēc tam atlasiet **Next** (Tālāk).

- Izņemiet izlietoto reaģentu tvertni un izmetiet saturu saskaņā ar piemērojamajiem standartiem.



BRĪDINĀJUMS

Šajā reaģentu komplektā ir potenciāli bīstamas ķīmiskās vielas. Ieelpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimodus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem. Papildinformāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapā vietnē support.illumina.com/sds.html.

- Bufera nodalījumā iebīdīet tukšo izlietoto reaģentu tvertni, līdz tā apstājas.
- Izņemiet izlietoto bufera kasetni no iepriekšējās izpildes, ja tā ir.
- Ievietojiet bufera mazgāšanas kasetni ar mazgāšanas šķīdumu.
- Izņemiet izlietoto reaģentu kasetni no iepriekšējās izpildes, ja tā ir.
- Ievietojiet reaģentu mazgāšanas kasetni.
- Atlasiet **Next** (Tālāk). Automātiski sākas pārbaude pirms mazgāšanas.

Mazgāšanas uzsākšana

- Atlasiet **Start** (Sākt).
- Kad mazgāšana ir pabeigta, atlasiet **Home** (Sākums).

Pēc mazgāšanas

Pēc mazgāšanas paraugu padeves ierīces paliek nolaistā stāvoklī, lai novērstu gaisa iekļuvi sistēmā. Atstājiet kasetnes tām paredzētajā vietā līdz nākamajai izpildei.

Gaisa filtra nomaiņa

Jaunām sistēmām ir trīs rezerves gaisa filtri. Tie jāuzglabā un jāizmanto, kad instruments norāda, ka jāmaina filtrs.

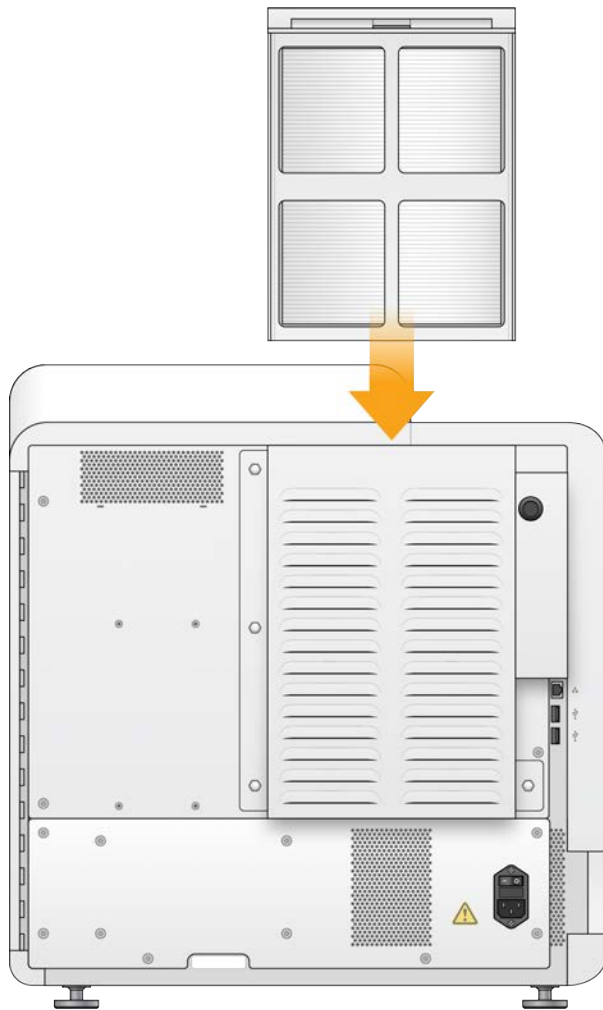
Gaisa filtrs nodrošina gaisa plūsmu caur instrumentu. Programmatūra ik pēc 90 dienām attēlo paziņojumu par gaisa filtra nomaiņu. Kad tiek parādīts uzaicinājums, atlasiet **Remind in 1 day** (Atgādināt pēc 1 dienas) vai izpildiet turpmāk norādītās darbības un atlasiet **Filter Changed** (Filtrs ir nomainīts). Pēc iespējas **Filter Changed** (Filtrs ir nomainīts) atlasēs 90 dienu atpakaļskaitīšana tiek atiestatīta.

- Izņemiet jauno gaisa filtru no iepakojuma un uz filtra rāmja uzrakstiet datumu, kurā esat to uzstādījis.
- Instrumenta aizmugurē nospiediet filtra paplātes augšdaļu, lai to atbrīvotu.
- Satveriet filtra paplātes augšdaļu un velciet to uz augšu, lai pilnībā izceltu paplāti no instrumenta.
- Izņemiet un izmetiet veco gaisa filtru.
- Ievietojiet paplātē jauno gaisa filtru.

PIEZĪME Ja gaisa filtrs ievietots otrādi, tas nedarbojas pareizi. Pārliecinieties, ka gaisa filtrs paplātē ievietots tādējādi, lai būtu redzama zaļā bultiņa "Up" (Uz augšu) un nebūtu redzama brīdinājuma etiķete. Bultiņai jābūt vērstai pret filtra paplātes rokturi.

- Iebīdīet filtra paplāti instrumentā. Nospiediet filtra paplātes augšpusi uz leju, līdz tā nofiksējas vietā.

27. attēls Gaisa filtra ievietošana




Programmatūras atjauninājumi

Programmatūras atjauninājumi ir ietverti programmatūras paketē, ko dēvē par System Suite (sistēmas komplekts) un kurā ir iekļauta tālāk norādītā programmatūra:

- ▶ NextSeq vadības programmatūra (NCS)
- ▶ NextSeq receptes
- ▶ RTA2
- ▶ Pakalpojumu programmatūra NextSeq (NSS)
- ▶ Sekvencēšanas analīzes skatītājs (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

Programmatūras atjauninājumus var instalēt automātiski, izmantojot interneta savienojumu vai manuāli no tīkla vai USB vietas.

- ▶ **Automātiski atjauninājumi** — instrumentiem, kas pieslēgti pie tīkla ar piekļuvi internetam, sākuma ekrānā uz pogas **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu) parādās brīdinājuma ikona , kad ir pieejams atjauninājums.
- ▶ **Manuāli atjauninājumi** — lejupielādējiet System Suite instalētāju no [NextSeq 550Dx instrumenta atbalsta lapas](#) Illumina vietnē.

Automātiska programmatūras atjaunināšana

- 1 Atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
- 2 Izvēlieties **Software Update** (Programmatūras atjauninājums).
- 3 Atlasiet **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Instalēt no BaseSpace jau lejupielādēto atjauninājumu).
- 4 Atlasiet **Update** (Atjaunināt), lai sāktu atjaunināšanu. Atveras dialoglodziņš, lai apstiprinātu komandu.
- 5 Izpildiet instalēšanas vedņa norādījumus:
 - a Piekrīti licencēšanas līgumam.
 - b Pārskatiet informāciju par laidieni.
 - c Pārskatiet atjauninājumā iekļautās programmatūras sarakstu.

Kad atjaunināšana ir pabeigta, vadības programmatūra tiek automātiski restartēta.

PIEZĪME Ja ir iekļauts programmaparatūras atjauninājums, pēc programmaparatūras atjaunināšanas nepieciešama automātiska sistēmas restartēšana.

Manuāla programmatūras atjaunināšana

- 1 Lejupielādējiet System Suite instalētāju no Illumina vietnes un saglabājiet to atrašanās vietā tīklā. Citā gadījumā kopējiet programmatūras instalācijas failu portatīvā USB diskdzinī.
- 2 Atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
- 3 Izvēlieties **Software Update** (Programmatūras atjauninājums).
- 4 Izvēlieties **Manually install the update from the following location** (Manuāli instalēt atjauninājumu no šīs vietas).
- 5 Atlasiet **Browse** (Pārlūkot), lai dotos uz programmatūras instalācijas faila atrašanās vietu, un pēc tam atlasiet **Update** (Atjaunināt).
- 6 Izpildiet instalēšanas vedņa norādījumus:
 - a Piekrīti licencēšanas līgumam.
 - b Pārskatiet informāciju par laidieni.
 - c Pārskatiet atjauninājumā iekļautās programmatūras sarakstu.

Kad atjaunināšana ir pabeigta, vadības programmatūra tiek automātiski restartēta.

PIEZĪME Ja ir iekļauts programmaparatūras atjauninājums, pēc programmaparatūras atjaunināšanas nepieciešama automātiska sistēmas restartēšana.

Atsāknēšanas un izslēgšanas opcijas

Atlasot pogu Reboot / Shutdown (Atsāknēt / izslēgt), varat piekļūt tālāk norādītajiem līdzekļiem.

- ▶ Reboot to RUO (Atsāknēt režīmā RUO) — instrumentā tiek atvērts izpētes režīms.
- ▶ Restart (Restartēt) — instrumentā tiek atvērts diagnostikas režīms.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Restartēt un pārslēgt režīmu RUO uz režīmu Dx) — instrumentā tiek atvērts diagnostikas režīms.
- ▶ Shutdown (Izslēgt) — nākamreiz ieslēdzot instrumentu, tajā tiks atvērts diagnostikas režīms.
- ▶ Iziet un atvērt operētājsistēmu Windows — ja jums ir nepieciešamās atļaujas, varat aizvērt programmatūru NCS un atvērt operētājsistēmu Windows.

Restartēšana diagnostikas režīmā

Izmantojiet komandu Restart (Restartēt), lai droši izslēgtu instrumentu un to restartētu diagnostikas režīmā. Diagnostikas režīms ir noklusējuma sāknēšanas režīms.

- 1 Atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
- 2 Atlasiet **Reboot / Shutdown** (Atsāknēt/Izslēgt).
- 3 Atlasiet **Restartēt**.

Instrumenta izslēgšana

- 1 Atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
- 2 Atlasiet **Reboot / Shutdown** (Atsāknēt/Izslēgt).
- 3 Atlasiet **Shutdown** (Izslēgt).

Komanda Shutdown (Izslēgt) droši izslēdz programmatūru un izslēdz instrumenta barošanu. Uzgaidiet vismaz 60 sekundes pirms atkārtotas instrumenta ieslēgšanas.

PIEZĪME Pēc noklusējuma instruments pēc ieslēgšanas tiek sāknēts diagnostikas režīmā.



UZMANĪBU!

Instrumentu *nedrīkst* pārvietot. Instrumenta nepareiza pārvietošana var ietekmēt optisko lāgojumu un apdraudēt datu integritāti. Ja nepieciešams pārvietot instrumentu, sazinieties ar Illumina pārstāvi.

Iziešana un operētājsistēmas Windows atvēršana

Komanda Exit to Windows (Iziet un atvērt operētājsistēmu Windows) nodrošina piekļuvi instrumenta operētājsistēmai un jebkurai mapei instrumenta datorā. Šī komanda droši izslēdz programmatūru un iziet no sistēmas, atverot operētājsistēmu Windows. Tikai administrators var iziet no sistēmas un atvērt operētājsistēmu Windows.

- 1 Atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
- 2 Atlasiet **Reboot / Shutdown** (Atsāknēt/Izslēgt).
- 3 Atlasiet **Exit to Windows** (Iziet un atvērt operētājsistēmu Windows).

A pielikums Traucējummeklēšana

levads	41
Failu traucējummeklēšana	41
Automātiskās pārbaudes kļūdu novēršana	42
Izlietoto reaģentu tvertne ir pilna	44
Rehibridizācijas darbplūsma	45
BeadChip un skenēšanas kļūdas	46
Pielāgotas receptes un recepšu mapes	48
RAID kļūdas ziņojums	48
Sistēmas iestatījumu konfigurēšana	48

levads

Apstrādes vai veikspējas problēmu gadījumā, sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu. Skatiet sadaļu *Tehniskā palīdzība* 67. lpp.

Failu traucējummeklēšana

Lai novērstu problēmas, Illumina tehniskā atbalsta dienesta pārstāvis var pieprasīt attiecīgās izpildes vai skenēšanas procedūras failu kopijas. Parasti problēmu novēršanai tiek izmantoti šādi faili.

Traucējummeklēšanas faili sekvencēšanas izpildēm

Atslēgais fails	Mape	Apraksts
Izpildes informācijas fails (RunInfo.xml)	Saknes mape	Satur šo informāciju: <ul style="list-style-type: none">• izpildes nosaukums;• ciklu skaits izpildē;• ciklu skaits katrā nolasījumā;• informācija, vai nolasījums ir indeksēts;• vālu un elementu skaits plūsmas šūnā.
Izpildes parametru fails (RunParameters.xml)	Saknes mape	Satur informāciju par izpildes parametriem un izpildes komponentiem. Šī informācija ietver RFID birku, sērijas numuru, daļas numuru un derīguma termiņu.
RTA konfigurācijas fails (RTAConfiguration.xml)	Saknes mape	Satur izpildes RTA konfigurācijas iestatījumus. Fails RTAConfiguration.xml tiek izveidots izpildes sākumā.
InterOp faili (*.bin)	InterOp	Bināri pārskata faili. InterOp faili tiek atjaunināti visas izpildes garumā.
Žurnālfaili	Žurnāli	Žurnālfailos ir aprakstītas visas instrumenta darbības katrā ciklā, kā arī uzskaitītas programmatūras un programmaparatūras versijas, kuras tiek izmantotas izpildes laikā. Failā ar nosaukumu [InstrumentName]_CurrentHardware.csv ir uzskaitīti instrumenta komponentu sērijas numuri.
Kļūdu žurnālfaili (*ErrorLog*.txt)	RTA žurnāli	RTA kļūdu žurnāls. Kļūdu žurnālfaili tiek atjaunināti ikreiz, kad rodas kļūda.
Globālie žurnālfaili (*GlobalLog*.tsv)	RTA žurnāli	Visu RTA notikumu žurnāls. Globālie žurnālfaili tiek atjaunināti visas izpildes garumā.
Joslu žurnālfaili (*LaneLog*.txt)	RTA žurnāli	Žurnāla RTA apstrādes notikumi. Joslu žurnālfaili tiek atjaunināti visas izpildes garumā.

RTA kļūdas

Lai novērstu RTA kļūdas, vispirms pārbaudiet RTA kļūdu žurnālu, kas tiek saglabāts mapē RTALogs. Šis fails nav pieejams veiksmīgām izpildes darbībām. Ziņojot par problēmām Illumina tehniskā atbalsta dienestam, iekļaujiet ziņojumā kļūdu žurnālu.

Problēmu novēršanas faili masīvu skenēšanai

Atslēgas fails	Mape	Apraksts
Skenēšanas parametru fails (RunParameters.xml)	Saknes mape	Satur informāciju par skenēšanas parametriem. Informācija ietver skenēšanas datumu, BeadChip svītrkodu, klastera faila atrašanās vietu un manifesta faila atrašanās vietu.
Žurnālfaili	Žurnāli	Žurnālfaili apraksta katru instrumenta skenēšanas laikā veikto darbību.
Rādītāju faili	[Barcode] ([Svītrkods])	Rādītāji tiek nodrošināti kā parauga rādītāji un kā sadaļas rādītāji. [barcode]_sample_metrics.csv — karam paraugam un kanālam (sarkanā un zaļā krāsā) ir norādīts procentuālās nobīdes attēls, galējo punktu procentuālā vērtība, P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev un minimālais reģistrācijas rādītājs. [barcode]_section_metrics.csv — uzskaita katras sadaļas un elementa lāzera Z pozīciju, fokusu caur Z pozīciju, sarkano FWHM, zaļo FWHM, vidējo sarkano pikseļu intensitāti, vidējo zaļo pikseļu intensitāti, sarkano reģistrācijas rādītāju un zaļo reģistrācijas rādītāju.
Atkārtotas skenēšanas faili	[Barcode] ([Svītrkods])	[barcode]_rescan.flowcell — savieto elementu atrašanās vietas, kas pielāgotas atkārtotai skenēšanai, ieskaitot palielinātu elementu savstarpēju pārklāšanos.

Automātiskās pārbaudes kļūdu novēršana

Ja automātiskās pārbaudes laikā rodas kļūdas, kļūdas novēršanai izpildiet tālāk norādītās ieteicamās darbības.

Sekvencēšanas izpildes pārbaudes

Ja pārbaude pirms izpildes uzsākšanas neizdodas, reaģentu kasetnes RFID raidītājs netiek bloķēts un to ir iespējams izmantot nākamajā izpildē. Tomēr plūsmas elementa, reaģenta kasetnes un bufera kasetnes RFID tiks nobloķēti vadības programmatūras inicializācijas laikā, kas var būt nepieciešams kļūdas novēršanai. Lietotājam jānoņem plūsmas elements, reaģenta kasetne un bufera kasetne no instrumenta pirms sistēmas restartēšanas. Arī palīgmateriālu RFID tiek nobloķēti, kad folijas blīvējums tiek caurdurts. Kad programmatūra nolasa plūsmas elementa RFID, tiek palaists 7 stundu taimeris, pirms plūsmas elements tiek uzskatīts par nobloķētu un neizmantojamu.

Sistēmas pārbaudes	Ieteicamā rīcība
Doors Closed (Durvju aizvēršana)	Pārliedzieties, ka nodalījuma durvis ir aizvērtas.
Consumables Loaded (Izejmateriālu ievietošana)	Izejmateriālu sensori neregistrē ievietotos materiālus. Pārliedzieties, ka visi izejmateriāli ir atbilstoši ievietoti. Izpildes iestatījumu ekrānos atlasiet Back (Atpakaļ), lai atgrieztos pie ielādes soļa un veiciet izpildes iestatījumu ievadi atkārtoti.
Nepieciešamā programmatūra	Trūkst būtisku programmatūras komponentu. Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.

Sistēmas pārbaudes	Ieteicamā rīcība
Instrument Disk Space (Vieta instrumenta diskā)	Instrumenta cietajā diskā nav pietiekami daudz diska vietas, lai veiktu izpildi. Iespējams, ka nav pārsūtīti iepriekšējās izpildes dati. Iztīriet izpildes datus no instrumenta cietā diska.
Network Connection (Tīkla savienojums)	Tīkla savienojums ir pārtraukts. Pārbaudiet tīkla statusu un fizisko tīkla savienojumu.
Network Disk Space (Vieta tīkla diskā)	Tīkla serveris ir pilns.
Temperatūra	Ieteicamā rīcība
Temperature (Temperatūra)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Temperature Sensors (Temperatūras sensori)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Fans (Ventilatori)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Attēlveidošanas sistēma	Ieteicamā rīcība
Imaging Limits (Attēlveidošanas ierobežojumi)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Z Steps-and-Settle (Z veicamie soļi un risinājums)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Bit Error Rate (Bitu kļūdu īpatsvars)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Flow Cell Registration (Plūsmas šūnas reģistrācija)	Iespējams, ka plūsmas šūna nav pareizi novietota. <ul style="list-style-type: none"> Izpildes iestatījumu ekrānos atlasiet Back (Atpakaļ), lai atgrieztos pie plūsmas šūnas soļa. Tiek atvērtās attēlveidošanas nodalījuma durvis. Izņemiet un ielieciet atpakaļ plūsmas šūnu, lai pārliecinātos, ka tā ir pareizi ievietota.
Reaģenta ievietošana	Ieteicamā rīcība
Valve Response (Vārsta reakcija)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Pump (Sūkņi)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Buffer Mechanism (Bufera mehānisms)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Spent Reagents Empty (Iztukšot izlietoto reaģentu tvertni)	Iztukšojiet izlietoto reaģentu tvertni un ievietojiet tukšo tvertni atpakaļ.

Masīva skenēšanas pārbaude

Sistēmas pārbaudes	Ieteicamā rīcība
Doors Closed (Durvju aizvēršana)	Pārliedzieties, ka nodalījuma durvis ir aizvērtas.
Consumables Loaded (Izejmateriālu ievietošana)	Izejmateriālu sensori neregistrē ievietotos materiālus. Pārliedzieties, ka visi izejmateriāli ir atbilstoši ievietoti. Izpildes iestatījumu ekrānos atlasiet Back (Atpakaļ), lai atgrieztos pie ielādes soļa un veiciet izpildes iestatījumu ievadi atkārtoti.
Nepieciešamā programmatūra	Trūkst būtisku programmatūras komponentu. Veiciet manuālu programmatūras atjaunināšanu, lai atjaunotu visus programmatūras komponentus.
Ievades failu pārbaude	Pārliedzieties, vai ceļš uz klastera failu un manifesta failu ir pareizs un faili atrodas konkrētajā vietā.
Instrument Disk Space (Vieta instrumenta diskā)	Instrumenta cietajā diskā nav pietiekami daudz diska vietas, lai veiktu izpildi. Iespējams, ka nav pārsūtīti iepriekšējās izpildes dati. Iztīriet izpildes datus no instrumenta cietā diska.
Network Connection (Tīkla savienojums)	Tīkla savienojums ir pārtraukts. Pārbaudiet tīkla statusu un fizisko tīkla savienojumu.
Network Disk Space (Vieta tīkla diskā)	Pilns BaseSpace konts vai tīkla serveris.

Attēlveidošanas sistēma	Ieteicamā rīcība
Imaging Limits (Attēlveidošanas ierobežojumi)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Z Steps-and-Settle (Z veicamie soļi un risinājums)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Bit Error Rate (Bitu kļūdu īpatsvars)	Sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.
Automātiskais centrs	Izņemiet BeadChip adapteri. Pārliedzieties, ka BeadChip ir ievietots adapterī, un pēc tam atkārtoti ievietojiet adapteri.

Izlietoto reaģentu tvertne ir pilna

Vienmēr uzsāciet izpildi ar tukšu izlietoto reaģentu tvertni.

Ja sākat izpildi, neiztukšojot izlietoto reaģentu tvertni, sistēmas sensori aktivizē programmatūru, lai apturētu darbību, kad tvertne ir pilna. Sistēmas sensori nevar pārtraukt darbību klasteru veidošanas, pārrotu galu atkārtotas sintezēšanas vai automātiskas mazgāšanas pēcizpildes laikā.

Kad darbība tiek pārtraukta, tiek atvērts dialoglodziņš ar iespējām pacelt caurules un iztukšot pilnu tvertni.

Iztukšot izlietoto reaģentu tvertni

- 1 Atlasiet **Raise Sippers** (Pacelt slīdņus).
- 2 Izņemiet izlietoto reaģentu tvertni un atbilstošā veidā atbrīvojieties no tās satura.
- 3 Ievietojiet iztukšoto tvertni atkal bufera nodalījumā.
- 4 Atlasiet **Continue** (Turpināt). Izpilde tiek automātiski atsākta.

Rehibridizācijas darbplūsma

Var būt nepieciešama atkārtota hibridizācijas izpilde, ja dažu pirmo ciklu laikā ģenerēti rādītāji uzrāda intensitāti zem 2500. Dažas zemas dažādības bibliotēkas var uzrādīt intensitāti zem 1000, kas ir sagaidāms un ko nevar atrisināt, izmantojot rehibridizāciju.

PIEZĪME Komanda End Run (Pārtraukt izpildi) ir neatgriezeniska. Izpildi nevar atsākt, izmantotie materiāli nav izmantojami atkārtoti un attiecīgās izpildes sekvencēšanas dati netiek saglabāti.

Beidzot izpildi, programmatūra pirms izpildes beigām veic tālāk norādītās darbības.

- ▶ Novieto plūsmas šūnu drošā stāvoklī.
- ▶ Atbloķē plūsmas šūnas RFID vēlākai izpildei.
- ▶ Piešķir plūsmas šūnai rehibridizācijas derīguma termiņu.
- ▶ Veic ierakstus žurnālā par pabeigtajiem cikliem. Aizkave ir normāla parādība.
- ▶ Apriet automātisko pēcizpildes mazgāšanu.

Sākot rehibridizācijas izpildi, programmatūra veic tālāk norādītās darbības, lai izpildi veiktu:

- ▶ Izveido izpildes mapi, kuras pamatā ir unikāls izpildes nosaukums.
- ▶ Pārbauda, vai nav beidzies plūsmas šūnas rehibridizācijas derīguma termiņš.
- ▶ Veic reaģentu sagatavošanu. Aizkave ir normāla parādība.
- ▶ Izlaiž klasterizācijas darbību.
- ▶ Tiek noņemts iepriekšējais 1. nolasījuma praimeris.
- ▶ Hibridizē svaigu 1. nolasījuma praimeris.
- ▶ Turpinās 1. nolasījumā un atlikušajā izpildes daļā, pamatojoties uz noteiktiem izpildes parametriem.

Rehibridizācijas izpildes beigu punkti

Vēlāk rehibridizācija ir iespējama tikai tad, ja izpilde tiek pārtraukta tālāk norādītajos brīžos:

- ▶ **Pēc 5. cikla** — intensitātes parādās pēc veidnes reģistrācijas, kurai nepieciešami pirmie 5 sekvencēšanas cikli. Lai gan ir droši pārtraukt izpildi pēc 1. cikla, ieteicams to pabeigt pēc 5. cikla. Nepārtrauciet izpildi klasteru ģenerēšanas laikā.
- ▶ **1. nolasījums vai 1. rādījuma nolasījums** — pārtrauciet izpildi *pirms* sākas pārotu galu atkārtota sintēze. Pēc pārotu gala atkārtotas sintēzes sākuma plūsmas šūnu nevar saglabāt vēlākai rehibridizācijai.

Nepieciešamie palīgmateriāli

Rehibridizācijas darbībai nepieciešama jauna NextSeq 550Dx reaģenta kasetne un bufera kasetne neatkarīgi no tā, kad izpilde tika pārtraukta.

Pašreizējās izpildes pārtraukšana

- 1 Atlasiet **End Run** (Pārtraukt izpildi). Kad parādās uzvedne apstiprināt komandu, atlasiet **Yes** (Jā).
- 2 Kad uzvedne piedāvā saglabāt plūsmas šūnu, atlasiet **Yes** (Jā). Ņemiet vērā rehibridizācijas derīguma termiņu.
- 3 Noņemiet saglabāto plūsmas šūnu un novietojiet no 2 °C līdz 8 °C temperatūrā, līdz esat gatavs iestatīt rehibridizācijas procesu.

PIEZĪME Plūsmas šūnu līdz 7 dienām var uzglabāt temperatūrā no 2 °C līdz 8 °C plastmasas atvāžamajā apvalkā **bez** žāvēšanas līdzekļa pakotnes. Lai iegūtu labākos rezultātus, rehibridizējiet saglabāto plūsmas šūnu 3 dienu laikā.

Manuālās mazgāšanas veikšana

- 1 Ekrānā Home (Sākums) atlasiet **Perform Wash** (Veikt mazgāšanu).
- 2 Ekrānā Wash Selection (Mazgāšanas atlase) atlasiet **Manual Post-Run Wash** (Manuāla mazgāšana pēc izpildes). Skatiet sadaļu *Manuālās mazgāšanas veikšana 33. lpp.*

PIEZĪME Ja no apturētas izpildes nav izņemta reaģentu kasetne un bufera kasetne, varat tās izmantot manuālai mazgāšanai. Pretējā gadījumā veiciet manuālu mazgāšanu, izmantojot reaģenta mazgāšanas kasetni un bufera mazgāšanas kasetni.

Jaunas izpildes iestatīšana cilnē BaseSpace Prep

- 1 Ja instruments ir konfigurēts BaseSpace vai BaseSpace Onsite (BaseSpace uz vietas), cilnē Prep (Sagatavošana) iestatiet jaunu izpildi, izmantojot tos pašus parametrus kā sākotnējai izpildei.

PADOMS Noklikšķiniet uz cilnes Pools (Kopas), atlasiet atbilstošo kopas ID, lai saglabātu iepriekšējos izpildes iestatījumus, un pēc tam piešķiriet jaunajai izpildei unikālu nosaukumu.

Izpildes iestatīšana instrumentā

- 1 Sagatavojiet jaunu reaģentu kasetni.
- 2 Ja saglabātā plūsmas šūna tika noglabāta, ļaujiet tai sasniegt istabas temperatūru (15–30 minūtes).
- 3 Notīriet un ievietojiet saglabāto plūsmas šūnu.
- 4 Izņemiet izlietoto reaģentu tvertni un atbilstošā veidā atbrīvojieties no tās satura, pēc tam atkārtoti ievietojiet tukšo tvertni.
- 5 Ievietojiet jaunu bufera kasetni un reaģentu kasetni.
- 6 Ekrānā Run Setup (Izpildes iestatīšana) atlasiet kādu no tālāk norādītajām iespējām.
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace vai BaseSpace uz vietas) — izvēlieties izpildi un apstipriniet izpildes parametrus.
 - ▶ **Standalone** (Autonoms) — ievadiet izpildes nosaukumu un norādiet tos pašus parametrus kā sākotnējai izpildei.
- 7 Atlasiet **Next** (Tālāk), lai turpinātu pirmsizpildes pārbaudi un sāktu izpildi.

BeadChip un skenēšanas kļūdas

Programmatūra nevar nolasīt BeadChip svītrkodu

Kad tiek parādīts svītrkoda kļūdas dialoglodziņš, izvēlieties kādu no tālāk norādītajām iespējām.

- ▶ Atlasiet **Rescan** (Skenēt atkārtoti). Programmatūra mēģina vēlreiz nolasīt svītrkodu.

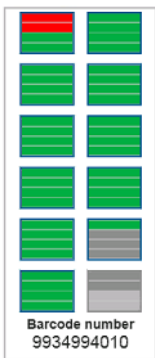
- ▶ Atlasiet teksta lauku un ievadiet ciparu svītrkodu, kā parādīts attēlā. Atkarībā no BeadChip, svītrkodā jābūt līdz 12 cipariem. Atlasiet vienumu **Save** (Saglabāt). Svītrkoda attēls tiek saglabāts izvades mapē.
- ▶ Atlasiet **Cancel** (Atcelt). Atveras attēlveidošanas nodaļuma durvis, lai izkrautu BeadChip adapteri.

BeadChip skenēšanas kļūme

Attēli tiek reģistrēti pēc to skenēšanas. Reģistrācija identificē lodītes, meklējot atbilstības starp skenētā attēla atrašanās vietās un informāciju, kas norādīta lodīšu kartē vai DMAP mapē.

Sadaļas, kurām neizdodas reģistrēties, BeadChip attēlā ir norādītas sarkanā krāsā.

28. attēls Neveiksmīgās sadaļas norādītas uz BeadChip



Kad skenēšana ir pabeigta un skenēšanas dati ir ierakstīti izvades mapē, poga Rescan (Skenēt atkārtoti) kļūst aktīva.

Kad ir atlasīta opcija Rescan (Skenēt atkārtoti), programmatūra veic tālāk norādītās darbības.

- ▶ Atkārtoti skenē paraugus, kas satur neveiksmīgās sadaļas, izmantojot palielinātu elementu savstarpēju pārklāšanos.
- ▶ Ģenerē izvades failus sākotnējā izvades mapē.
- ▶ Pārraksta neveiksmīgo sadaļu iepriekšējos izvades failus.
- ▶ Katru skenēšanas skaitītāju palielina par 1, bet to dara fonā. Programmatūra neveic izvades mapes pārdēvēšanu.

Atkārtota skenēšana vai jaunas skenēšanas sākšana

- 1 Atlasiet **Scan** (Skenēt), lai skenētu paraugus, kuros ir sadaļas ar kļūmēm.
- 2 Ja skenēšana joprojām neizdodas, skenēšanu beidziet.
- 3 Izņemiet BeadChip un tā adapteri un pārbaudiet, vai uz BeadChip nav putekļu vai gružu. Lai notīrītu gružus, izmantojiet saspīestu gaisu vai citu saspīestu putekļu attīrīšanas metodi.
- 4 Atkārtoti ievietojiet BeadChip un sāciet jaunu skenēšanu.
Kad ir sāкта jauna skenēšana, programmatūra veic tālāk norādītās darbības.
 - ▶ Skenē visu BeadChip.
 - ▶ Ģenerē izvades failus jaunā izvades mapē.
 - ▶ Palielina skenēšanas skaitītāju par 1, pamatojoties uz skenēšanas reižu skaitu pēdējā atkārtotā skenēšanā.

Manifesta failu un klasteru failu aizvietošana

- 1 Atveriet Illumina atbalsta lapu (support.illumina.com), kas paredzēta jūsu izmantojamajam BeadChip, un noklikšķiniet uz cilnes **Downloads** (Lejupielādes).
- 2 Lejupielādējiet aizvietojamās vai atjaunināmos failus un kopējiet failus vēlamajā vietā tīklā.

PIEZĪME Ir jāzvēlas ar NextSeq 550Dx instrumenta sistēmu saderīgi manifesta un klasteru faili. Saderīgu failu nosaukumā ir norādīta ciparu un burtu kombinācija **NS550**.

- 3 Tikai tad, ja atrašanās vieta ir mainījusies, atjauniniet atrašanās vietu ekrānā BeadChip Scan Configuration (BeadChip skenēšanas konfigurācija), kā norādīts tālāk.
 - a NCS Sākuma ekrānā atlasiet **Manage Instrument** (Pārvaldīt instrumentu).
 - b Atlasiet **System Configuration** (Sistēmas konfigurācija).
 - c Atlasiet **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip skenēšanas konfigurācija).
- 4 Atlasiet **Browse** (Pārliūkot) un dodieties uz aizstāto vai atjaunināto failu atrašanās vietu.

Pielāgotas receptes un recepšu mapes

Nemodificējiet oriģinālās receptes. Vienmēr izveidojiet oriģinālās receptes kopiju ar jaunu nosaukumu. Ja oriģinālā recepte tiek modificēta, programmatūras atjauninātājs vairs nevar atpazīt recepti jaunākiem atjauninājumiem, un jaunākas versijas netiek instalētas.

Saglabājiet pielāgotās receptes atbilstošā recepšu mapē. Recepšu mapes ir sakārtotas, kā norādīts tālāk.

- 📁 **Custom** (Pielāgotas)
 - 📁 **High** (Augstas) — pielāgotas receptes, ko izmanto kopā ar augstas izlaides komplektu.
 - 📁 **Mid** (Vidējas) — pielāgotas receptes, ko izmanto kopā ar vidējas izlaides komplektu.
 - 📁 **High** (Augstas) — oriģinālas receptes, ko izmanto kopā ar augstas izlaides komplektu.
 - 📁 **Mid** (Vidējas) — oriģinālas receptes, ko izmanto kopā ar vidējas izlaides komplektu.
 - 📁 **Wash** (Mazgāšana) — satur manuālas mazgāšanas recepti.

RAID kļūdas ziņojums

NextSeq 550Dx dators ir aprīkots ar četriem cietajiem diskkiem: divi no tiem ir paredzēti diagnostikas režīmam, divi — izpētes režīmam. Ja cietais disks pārstāj darboties, sistēmā tiek ģenerēts RAID kļūdas ziņojums ar norādi sazināties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu. Parasti ir nepieciešama cietā diska nomaiņa.

Varat turpināt izpildes iestatīšanu un normālu darbību. Šis ziņojums tiek parādīts, lai varētu laikus ieplānot apkopi un novērst instrumenta dīkstāvi. RAID brīdinājumu var apstiprināt tikai administrators. Ja izmantojat instrumentu ar tikai vienu cieto disku, dati var tikt zaudēti.

Sistēmas iestatījumu konfigurēšana

Sistēma tiek konfigurēta instalēšanas laikā. Tomēr, ja nepieciešamas izmaiņas vai sistēma ir jāpārkonfigurē, izmantojiet sistēmas konfigurācijas opcijas. Sistēmas konfigurācijas opcijām ir atļauja piekļūt tikai Windows administratora kontam.

- ▶ **Tīkla konfigurācija**— piedāvā IP adreses iestatījumu, domēna nosaukuma servera (DNS) adreses, datora nosaukuma un domēna nosaukuma opcijas.

Tīkla konfigurācijas iestatīšana

- 1 Ekrānā Pārvaldīt instrumentu atlasiet **System Configuration** (Sistēmas konfigurācija).
- 2 Atlasiet **Obtain an IP address automatically** (Automātiski iegūt IP adresi), lai iegūtu IP adresi, izmantojot DHCP serveri.

PIEZĪME Dinamiskais resursdatora konfigurācijas protokols (DHCP) ir standarta tīkla protokols, ko IP tīklos izmanto tīkla konfigurācijas parametru dinamiskai izplatīšanai.

Varat arī atlasīt **Use the following IP address** (Izmantot šo IP adresi), lai turpmāk aprakstītajā veidā manuāli savienotu instrumentu ar citu serveri. Sazinieties ar tīkla administratoru, lai uzzinātu jūsu objekta konkrētās adreses.

- ▶ Ievadiet IP adresi. IP adrese ir sērija no 4 numuriem, kas ir atdalīti ar punktiem, līdzīga, piemēram, šai: 168.62.20.37.
 - ▶ Ievadiet apakštīkla masku, kas ir IP tīkla apakšnodalījums.
 - ▶ Ievadiet noklusējuma vārteju — maršrutētāju tīklā, kas savieno ar internetu.
- 3 Atlasiet **Obtain a DNS server address automatically** (Automātiski iegūt DND servera adresi), lai savienotu instrumentu ar domēna nosaukuma serveri, kas saistīts ar IP adresi. Varat arī atlasīt **Use the following DNS server addresses** (Izmantot šādas DNS serveru adrese), lai turpmāk aprakstītajā veidā manuāli savienotu instrumentu ar domēna nosaukuma serveri.
 - ▶ Ievadiet vēlamu DNS adresi. DNS adrese ir tā servera nosaukums, kurš tiek izmantots, lai domēnu nosaukumus pārtulkotu uz IP adresēm.
 - ▶ Ievadiet alternatīvo DNS adresi. Alternatīvu izmanto, ja vēlamais DNS nevar pārveidot noteiktu domēna vārdu IP adresē.
 - 4 Atlasiet **Save** (Saglabāt), lai pārietu uz datora ekrānu.

PIEZĪME Instrumenta datora nosaukums tiek piešķirts instrumenta datoram ražošanas laikā. Jebkuras datora nosaukuma izmaiņas var ietekmēt savienojumu un prasīt tīkla administratora iejaukšanos.

- 5 Pievienojiet instrumenta datoru domēnam vai darba grupai turpmāk aprakstītajā veidā.
 - ▶ **Instrumentiem, kas savienoti ar internetu** — atlasiet **Member of Domain** (Domēna dalībnieks) un pēc tam ievadiet domēna nosaukumu, kas saistīts ar interneta savienojumu jūsu objektā. Lai mainītu domēnu, ir nepieciešams administratora lietotājvārds un parole.
 - ▶ **Instrumentiem, kas nav savienoti ar internetu** — atlasiet **Member of Work Group** (Darba grupas dalībnieks) un pēc tam ievadiet darba grupas nosaukumu. Darba grupas nosaukums ir unikāls jūsu objektam.
- 6 Atlasiet vienumu **Save** (Saglabāt).

Analīzes konfigurācijas iestatīšana

- 1 Ekrānā Pārvaldīt instrumentu atlasiet **System Configuration** (Sistēmas konfigurācija).
- 2 Atlasiet **Analysis Configuration** (Analīzes konfigurācija).
- 3 Izvēlieties kādu no tālāk norādītajām iespējām, lai norādītu vietu, kur dati tiek pārsūtīti turpmākai analīzei.

- ▶ Atlasiet **BaseSpace**, lai nosūtītu sekvencēšanas datus uz Illumina vietni BaseSpace. **[Neobligāti]** Atlasiet izvēles rūtiņu **Output Folder** (Izvades mape), atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un dodieties uz sekundāru tīkla atrašanās vietu, lai saglabātu BCL failus papildus vietai BaseSpace.
 - ▶ Atlasiet **BaseSpace Onsite** (BaseSpace uz vietas). Laukā Server Name (Servera nosaukums) ievadiet pilnu ceļu uz jūsu BaseSpace Onsite (BaseSpace uz vietas) serveri. **[Neobligāti]** Atlasiet izvēles rūtiņu **Output Folder** (Izvades mape), atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un dodieties uz sekundāru atrašanās vietu tīklā, lai saglabātu BCL failus papildus serverim BaseSpace Onsite (BaseSpace uz vietas).
 - ▶ Atlasiet **Standalone instrument** (Autonoms instruments), lai datus saglabātu tikai tīkla atrašanās vietā. Atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un dodieties uz vēlamo atrašanās vietu tīklā. Vadības programmatūra nodrošina automātisku izvades mapju nosaukumu veidošanu.
 - ▶ **[Neobligāti]** Atlasiet **Use Run Monitoring** (Izpildes uzraudzības izmantošana), lai uzraudzītu izpildes darbību, izmantojot vietnes BaseSpace vizualizācijas rīkus. Nepieciešami BaseSpace pieteikšanās dati un interneta savienojums.
- 4 Ja atlasījāt BaseSpace vai BaseSpace Onsite, iestatiet BaseSpace parametrus, kā norādīts tālāk.
- ▶ Ievadiet BaseSpace **User Name** (Lietotājvārds) un **Password** (Parole), lai pierēģistrētu instrumentu vietnē BaseSpace.
 - ▶ Atlasiet **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Izmantot noklusējuma pieteikšanos un apiet BaseSpace pieteikšanās ekrānu), lai iestatītu reģistrēto lietotāja vārdu un paroli kā noklusējuma pieteikšanās akreditācijas datus. Šis iestatījums izpildes iestatīšanas laikā apiet ekrānu BaseSpace.
- 5 Lai iespējotu Illumina Proactive uzraudzības pakalpojumu, atlasiet **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Nosūtīt instrumenta veiktspējas datus Illumina) (Nosūtīt datus par instrumenta stāvokli Illumina). Atkarībā no lietotās NCS versijas šī iestatījuma nosaukums programmatūras interfeisā var atšķirties no šajā rokasgrāmātā norādītā.
- Ja šis iestatījums ir ieslēgts, instrumenta veiktspējas dati tiek sūtīti uz Illumina. Šie dati palīdz uzņēmumam Illumina vieglāk novērst problēmas un konstatēt iespējamās kļūdas, nodrošinot proaktīvu apkopi un maksimālu instrumenta darbības laiku. Papildinformāciju par šī pakalpojuma sniegtajām priekšrocībām skatiet *Illumina Proactive tehniskajā piezīmē (dokumenta # 1000000052503)*.
- Šis pakalpojums:
- ▶ nesūta sekvencēšanas datus;
 - ▶ ir pieejams tikai tad, ja instruments ir savienots ar tīklu ar piekļuvi internetam;
 - ▶ ir atspējots pēc noklusējuma. Lai izvēlētos izmantot šo pakalpojumu, iespējojiet iestatījumu **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Sūtīt informāciju par instrumenta darbību uzņēmumam Illumina).
- 6 Atlasiet vienumu **Save** (Saglabāt).

BeadChip skenēšanas konfigurācija

- 1 Ekrānā Pārvaldīt instrumentu atlasiet **System Configuration** (Sistēmas konfigurācija).
- 2 Atlasiet **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip skenēšanas konfigurācija).
- 3 Lai norādītu noklusējuma DMAP mapes atrašanās vietu, atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un dodieties uz vēlamo mapes vietu savas iestādes tīklā.

PIEZĪME Pirms katras skenēšanas lejupielādējiet un kopējiet DMAP saturu šajā atrašanās vietā. Katram BeadChip ir nepieciešams DMAP saturs, un katram BeadChip svītrkodam tas ir unikāls.

- 4 Lai norādītu noklusējuma izvades vietu, atlasiet **Browse** (Pārlūkot) un dodieties uz vēlamo atrašanās vietu savas iestādes tīklā.
- 5 Izvēlieties attēla faila formātu saglabājamiem attēliem. Noklusējuma attēla tips ir **JPG**.
- 6 Atlasiet skenēto datu izvades faila formātu. Noklusējuma izvades faila tips ir **tikai GTC**.
- 7 Atlasiet vienumu **Save** (Saglabāt).
- 8 Ekrānā Scan Map (Kartes skenēšana) norādiet pilnu ceļu uz manifesta failu un klastera failu katram BeadChip veidam. Atlasiet **Browse** (Pārlūkot) katram faila tipam un dodieties uz mapes vietu, kurā ir šie faili.
- 9 **[Neobligāti]** Atlasiet opciju **Hide Obsolete BeadChips** (Slēpt novecojušos BeadChips), lai noņemtu no skata novecojušos BeadChips.
- 10 Atlasiet vienumu **Save** (Saglabāt).

B pielikums Reāllaika analīze

Reāllaika analīzes pārskats	53
Reāllaika analīzes darbplūsma	54

Reāllaika analīzes pārskats

NextSeq 550Dx instruments izmanto reāllaika analīzes programmatūras (RTA) papildinājuma RTA2 nodrošināto reāllaika analīzi. RTA2 darbojas instrumenta datorā un izgūst no attēliem intensitāti, veic bāzu noteikšanu un piešķir bāzes noteikšanas vienumam kvalitātes rādītāju. RTA2 un vadības programmatūras saziņa notiek, izmantojot tīmekļa HTTP interfeisu un koplietojamus atmiņas failus. Ja RTA2 lietošana tiek pārtraukta, apstrāde netiek atsākta un cikla dati netiek saglabāti.

RTA2 ievades dati

Apstrādei RTA2 ir nepieciešami turpmāk norādītie ievades dati:

- ▶ Elementu attēli, kas atrodas vietējā sistēmas atmiņā.
- ▶ **RunInfo.xml**, kas tiek automātiski ģenerēts izpildes sākumā un nodrošina izpildes nosaukumu, ciklu skaitu, to, vai lasījumam ir indeksi, kā arī plūsmas šūnā esošo elementu skaitu.
- ▶ **RTA.exe.config** — programmatūras konfigurācijas fails XML formātā.

RTA2 no vadības programmatūras saņem komandas par **RunInfo.xml** atrašanās vietu un to, vai ir norādīta izvēles izvades mape.

RTA2 izvades faili

Katra kanāla attēli tiek **vadīti** atmiņā kā elementi. Elementi ir nelieli attēlveidošanas laukumi plūsmas šūnā, ko kamera definē kā skata lauku. No šiem attēliem programmatūra izstrādā izvadi kā kvalitatīvi novērtētu bāzu nosaukšanas failu un filtru failu kopumu. Visi citi faili atbalsta izvades failus.

Faila veids	Apraksts
Bāzu nosaukšana	Katrs analizētais elements tiek iekļauts apkopotā bāzes nosaukšanas (*.bcl.bgzf) failā katrai joslai un katram ciklam. Apkopotais bāzes nosaukšanas fails satur bāzu noteikšanas un katra klastera saistīto kvalitātes rādītāju tā joslā.
Filtrēšanas faili	Katrs elements izstrādā filtra informāciju, kas tiek apkopota vienā filtra (*.filter) failā katrai joslai. Filtra failā ir norādīts, vai klasteris iziet filtrus.
Klasteru atrašanās vietu faili	Klasteru atrašanās vietu (*.locs) failos ir katra klastera X un Y koordinātas elementā. Veidnes ģenerēšana laikā katrai joslai tiek ģenerēts klastera atrašanās vietas fails.
Bāzu noteikšanas rādītāja faili	Katrai joslai tiek izveidots bāzes nosaukšanas indeksa (*.bci) fails, lai saglabātu sākotnējo informāciju par elementiem. Indeksa failā ir katra elementa vērtību pāris, kas ir elementa numurs un šī elementa klasteru skaits.

RTA2 nodrošina reāllaika izpildes kvalitātes rādītāji, kas tiek glabāti kā InterOp faili. InterOp faili ir bināri izvades faili, kas satur elementu, ciklu un lasījumu līmeņa rādītājus.

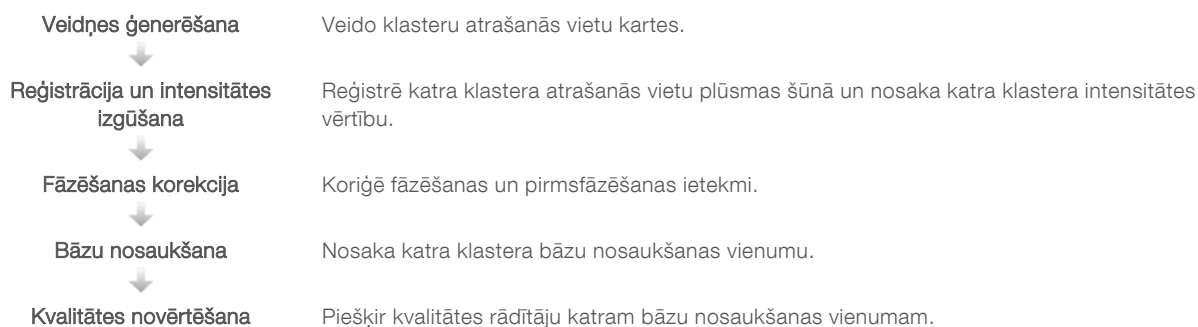
Kļūdu novēršana

RTA2 izveido žurnālfailus un ieraksta tos RTALogs mapē. Kļūdas tiek ierakstītas kļūdu failā *.tsv faila formātā.

Pārstrādes beigās uz izvades galamērķi tiek pārsūtīti tālāk norādītie žurnālfaili un kļūdu faili:

- ▶ *GlobalLog*.tsv apkopo svarīgus cikla notikumus.
- ▶ Fails *LaneNLog*.tsv uzskaita apstrādes notikumus katrā joslā.
- ▶ *Kļūda*.tsv uzskaita kļūdas, kas radušās cikla laikā.
- ▶ *WarningLog*.tsv uzskaita brīdinājumus, kas radušies cikla laikā.

Reāllaika analīzes darbplūsma



Veidnes ģenerēšana

Pirmā darbība RTA darbplūsmā ir veidnes ģenerēšana. Šī veidne nosaka katra klastera atrašanās vietu elementā, izmantojot koordinātas X un Y.

Veidnes ģenerēšanai ir nepieciešami attēla dati no pirmajiem pieciem izpildes cikliem. Kad ir attēlots pēdējais elementa veidnes cikls, tiek ģenerēta veidne.

PIEZĪME Lai veidnes ģenerēšanas laikā noteiktu klasteru, pirmajos **piecos** ciklos jābūt vismaz vienai bāzei, kas nav G. Attiecībā uz jebkuru indeksa sekvenci RTA2 darbplūsmā pirmajos **divos** ciklos ir nepieciešama vismaz viena bāze, kas nav G.

Veidni izmanto kā atsauci nākamajai darbībai, kad veic reģistrāciju un iegūst intensitāti. Klastera pozīcijas visai plūsmas šūnai tiek ierakstītas klastera atrašanās vietas (*.locs) failos — pa vienam failam katrai joslai.

Reģistrācija un intensitātes izgūšana

Reģistrācija un intensitātes izgūšana sākas pēc veidnes ģenerēšanas.

- ▶ Reģistrācija saskaņo ar veidni katrā nākamajā attēlveidošanas ciklā izstrādātos attēlus.
- ▶ Intensitātes izgūšana nosaka intensitātes vērtību katram veidnes klasterim attiecībā uz konkrētu attēlu.

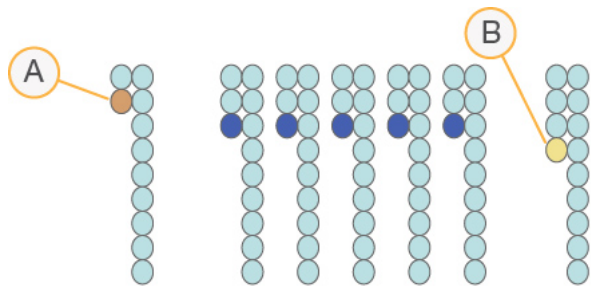
Ja neviena cikla attēla reģistrācija neizdodas, attiecīgajā ciklā šim elementam netiek ģenerētas bāzu nosaukšanas.

Fāzēšanas korekcija

Sekvences reakcijas laikā katra klasterī esošā DNS virkne tiek paplašināta par 1 bāzi katrā ciklā. Fāzēšana un pirmsfāzēšana notiek tad, kad virkne ar pašreizējo iekļaušanas ciklu nonāk ārpus fāzes.

- ▶ Fāzēšana notiek, kad bāze atpaliek.
- ▶ Pirmsfāzēšana tiek veikta, kad bāze ir soli priekšā.

29. attēls Fāzēšana un pirmsfāzēšana



- A Lasījums ar bāzi, kam tiek veikta fāzēšana
- B Lasījums ar bāzi, kam tiek veikta pirmsfāzēšana.

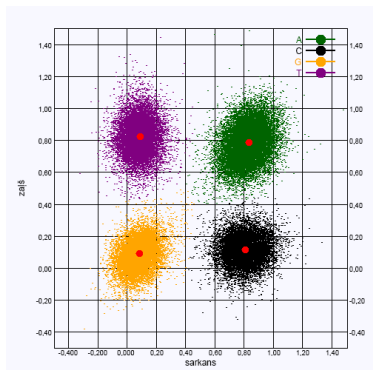
RTA2 labo fāzēšanas un pirmsfāzēšanas sekas, kas katrā ciklā visa cikla laikā maksimāli palielina datu kvalitāti.

Bāzu nosaukšana

Bāzu nosaukšana funkcija nosaka bāzi (A, C, G vai T) katram noteikta elementa klasteram konkrētā ciklā. NextSeq 550Dx instrumentā tiek izmantota divkanālu sekvencēšana, kurai četru DNS bāzu datu iekodēšanai ir nepieciešami tikai 2 attēli — 1 no sarkanā kanāla un 1 no zaļā kanāla.

Izgūstot intensitāti no attēla un salīdzinot to ar citu attēlu, tiek iegūtas 4 atšķirīgas populācijas, kas katra atbilst kādam nukleotīdam. Bāzu nosaukšanas process nosaka, kurai populācijai pieder katrs klasteris.

30. attēls Klasteru intensitātes vizualizēšana



1. tabula Bāzu nosaukšana divkanālu sekvencēšanā

Bāze	Sarkanais kanāls	Zaļais kanāls	Rezultāts
A	1 (ieslēgts)	1 (ieslēgts)	Klasteri, kas uzrāda intensitāti gan sarkanajā, gan zaļajā kanālā.
C	1 (ieslēgts)	0 (izslēgts)	Klasteri, kas uzrāda intensitāti tikai sarkanajā kanālā.
G	0 (izslēgts)	0 (izslēgts)	Klasteri, kas neuzrāda intensitāti zināmā klastera atrašanās vietā.
T	0 (izslēgts)	1 (ieslēgts)	Klasteri, kas uzrāda intensitāti tikai zaļajā kanālā.

Klasteru caurlaides filtrs

Cikla laikā RTA2 filtrē neapstrādātos datus, lai noņemtu lasījumus, kas neatbilst datu kvalitātes sliekšnim. Tiek noņemti klasteri, kas pārklājas, un zemas kvalitātes klasteri.

Lai noteiktu bāzu noteikšanas precizitāti, 2 kanālu analīzei RTA2 izmanto uz populāciju bāzētu sistēmu. Klasteri tiek izlaisti caur filtru, ja pirmo 25 ciklu laikā ne vairāk kā vienam bāzes noteikšanas gadījumam tīrība ir zemāka nekā 0,63. Klasteriem, kas netiek izlaisti caur filtru, bāzes netiek noteiktas.

Indeksēšanas apsvērumi

Bāzu noteikšanas indeksa nolasīšanas process atšķiras no bāzu noteikšanas citu nolasīšanu laikā.

Indeksa nolasīšanai ir jāsākas ar vismaz 1 bāzi, kas nav G, kādā no pirmajiem 2 cikliem. Ja indeksa nolasīšana sākas ar 2 bāzes noteikšanas gadījumiem bāzei G, netiek ģenerēta nekāda signāla intensitāte. Lai nodrošinātu demultipleksēšanas veiktspēju, kādā no pirmajiem 2 cikliem ir jābūt signālam.

Lai palielinātu demultipleksēšanas noturību, katram indeksam atlasiet indeksa sekvenču, kas nodrošina signālu vismaz 1 kanālā, vēlams — abos kanālos. Ievērojot šo vadlīniju, var novērst indeksu kombinācijas, kuru rezultātā ciklā tiek iegūtas tikai G bāzes.

- ▶ Sarkanais kanāls — A vai C
- ▶ Zaļais kanāls — A vai T

Šis bāzu noteikšanas process nodrošina precizitāti, analizējot paraugus ar zemu pleksa skaitli.

Kvalitātes novērtēšana

Kvalitātes rādītājs jeb Q rādītājs ir kļūdainas bāzu noteikšanas iespējamības prognoze. Lielāks kvalitātes rādītājs nozīmē, ka bāzu noteikšanai ir augstāka kvalitāte, un tā, visticamāk, ir pareiza.

Kvalitātes rādītājs ir kompakts veids, kā paziņot nelielu kļūdu varbūtību. Kvalitātes rādītājs tiek apzīmēts ar Q(X), kur X apzīmē rezultātu. Nākamā tabula parāda saistību starp kvalitātes rādītāju un kļūdas varbūtību.

Kvalitātes rādītājs Q(X)	Kļūdas varbūtība
Q40	0,0001 (1 no 10 000)
Q30	0,001 (1 no 1000)
Q20	0,01 (1 no 100)
Q10	0,1 (1 no 10)

PIEZĪME Kvalitātes novērtēšana balstās uz Phred algoritma modificēto versiju.

Kvalitātes novērtēšanas laikā tiek aprēķināta paredzamo vērtību kopa katrai bāzes noteikšanai un pēc tam paredzētās vērtības tiek izmantotas, lai meklētu kvalitātes rādītāju kvalitātes tabulā. Kvalitātes tabulas ir izveidotas, lai nodrošinātu optimāli precīzas kvalitātes prognozes cikliem, ko rada noteikta sekvenču platformas konfigurācija un ķīmijas versija.

Pēc kvalitātes rādītāja noteikšanas rezultāti tiek reģistrēti bāzu noteikšanas (*.bcl.bgzf) failos.

C pielikums Izvades faili un mapes

Sekvencēšanas izvades faili	57
Izvades mapes struktūra	59
Skenēšanas izvades faili	60
Skenēšanas izvades mapju struktūra	61

Sekvencēšanas izvades faili

Faila veids	Faila apraksts, atrašanās vieta un nosaukums
Bāzu nosaukšana	Katrs analizētais elements tiek iekļauts bāzu noteikšanas failā, izveidojot 1 failu katrai joslai, katrā ciklā. Kopsavilkuma fails satur bāzu noteikšanas un katra šīs joslas klastera iekodēto kvalitātes rādītāju. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — faili tiek saglabāti, izveidojot vienu failu katrai joslai. [Cikls].bcl.bgzf, kur [cikls] ir cikla numurs, kas sastāv no 4 cipariem. Bāzu nosaukšana tiek saspiesti, izmantojot bloka gzip saspišanu.
Bāzu noteikšanas rādītāja fails	Šajos binārajos failos, katrai joslai, kas ir elementa numurs un klasteru skaits elementā, tiek iekļauta oriģinālā elementu informācija katra elementa vērtību pāros. Bāzu noteikšanas rādītāja faili tiek izveidoti pirmajā reizē, kad attiecīgajai joslai tiek izveidots bāzu noteikšanas fails. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — faili tiek saglabāti, izveidojot vienu failu katrai joslai. s_[Lane].bci
Klasteru atrašanās vietu faili	Vienā klasteru atrašanās vietas failā ir apkopotas X, Y koordinātas katram plūsmas elementam, katrā joslā. Klasteru atrašanās vietas faili ir veidņu ģenerēšanas rezultāts. Data\Intensities\L00[X] — faili tiek saglabāti, izveidojot vienu failu katrai joslai. s_[lane].locs
Filtrēšanas faili	Filtrēšanas faili nosaka to, vai klasteri ir izlaisti cauri filtram. Katrai joslai tiek izveidots un nolasīts viens filtrēšanas informācijas apkopojuma fails. Filtrēšanas faili tiek izveidoti 26. cikla laikā, izmantojot 25 ciklu datus. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — faili tiek saglabāti, izveidojot vienu failu katrai joslai. s_[lane].filter
InterOp faili	Bināri pārskata faili. InterOp faili tiek atjaunināti visas izpildes garumā. InterOp mape
RTA konfigurācijas fails	Izpildes sākumā izveidotajā RTA konfigurācijas failā ir uzskaitīti attiecīgās izpildes iestatījumi. [Saknes direktorijs], RTAConfiguration.xml
Cikla informācijas fails	Uzskaita izpildes nosaukumu, ciklu skaitu katrā lasījumā, vai lasījums ir indeksa lasījums un kopu un elementu skaitu plūsmas šūnā. Izpildes informācijas fails tiek izveidots izpildes sākumā. [Saknes direktorijs], RunInfo.xml

Plūsmas šūnas elementi

Elementi ir nelieli attēlveidošanas laukumi plūsmas šūnā, ko kamera definē kā skata lauku. Kopējais elementu skaits ir atkarīgs no joslu, vālu un virsmu skaita, kas attēloti uz plūsmas šūnas, un no tā, kā kameras darbojas kopā, lai apkopotu attēlus. Augstas izvades plūsmas šūnām kopā ir 864 elementi.

2. tabula Plūsmas šūnas elementi

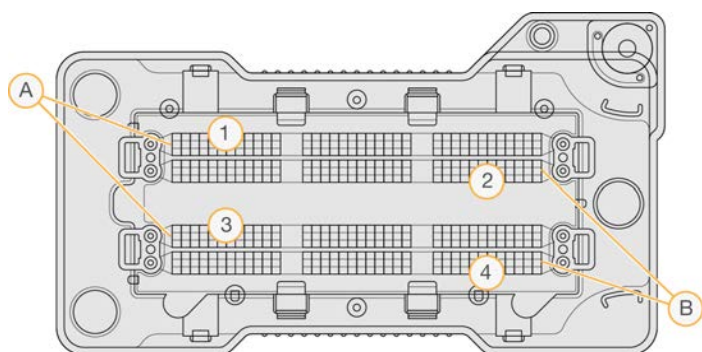
Plūsmas šūnas komponents	Augsta izvade	Apraksts
Joslas	4	Josla ir fizisks kanāls ar īpašiem ieejas un izejas portiem.
Virsmas	2	Plūsmas šūna ir attēlota uz 2 virsmām — augšējās un apakšējās. Vispirms tiek attēlota viena elementa augšējā virsma, pēc tam šī paša elementa apakšējā virsma, un tad sistēma pāriet uz nākamo elementu.

Plūsmas šūnas komponents	Augsta izvade	Apraksts
Vāli pa joslām	3	Vāls ir joslā esošu elementu kolonna.
Kameras segmenti	3	Instrumentu izmanto sešas kameras, lai attēlotu plūsmas elementu trijos segmentos katrā joslā.
Elementu skaits vālā vienā kameras segmentā	12	Elements ir laukums uz plūsmas šūnas, ko kamera redz kā vienu attēlu.
Kopējais attēloto elementu skaits	864	Kopējais elementu skaits ir: joslas × virsmas × vāli × kameras segmenti × vāla elementi vienā segmentā.

Joslu numerācija

1. un 3. josla, ko sauc par joslu pāri A, tiek attēlotas vienlaikus. 2. un 4. josla, ko sauc par joslu pāri B, tiek attēlotas tad, kad ir pabeigta joslu pāra A attēlveidošana.

31. attēls Joslu numerācija

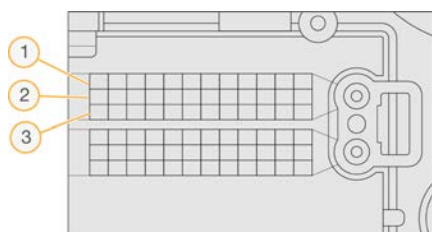


- A Joslu pāris A — 1. un 3. josla
- B Joslu pāris B — 2. un 4. josla

Vālu numerācija

Redzamajā attēlā katrai joslai ir trīs vāli. Augstas izvades plūsmas šūnām vāli ir numurēti no 1 līdz 3.

32. attēls Vālu numerācija

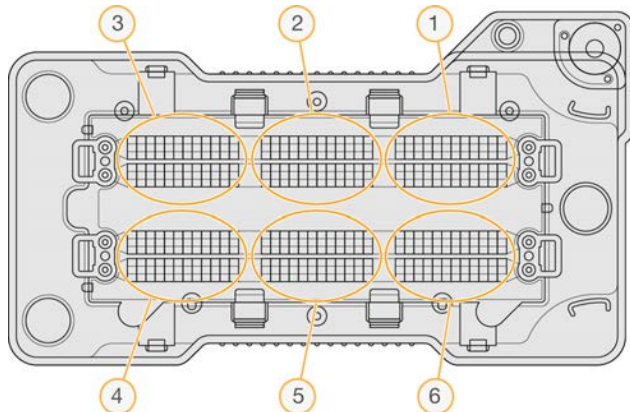


Kameru numerācija

Plūsmas šūnas attēlveidošanai NextSeq 550Dx instruments izmanto 6 kameras.

Kameras ir numurētas ar cipariem 1–6. 1.–3. kamera tiek izmantota 1. joslas attēlveidošanai. 4.–6. kamera tiek izmantota 3. joslas attēlveidošanai. Pēc tam, kad ir izveidoti 1. un 3. joslas attēli, attēlveidošanas modulis pārvietojas uz X asi, lai izveidotu 2. un 4. joslas attēlus.

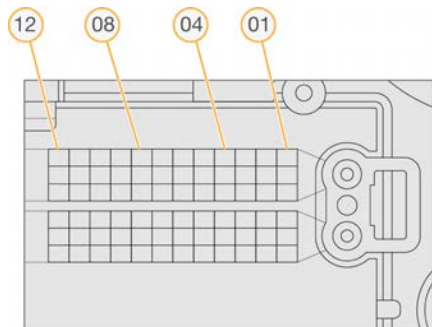
33. attēls Kameras un segmentu numerācija (attēlota augstas izvades plūsmas šūna)



Elementu numerācija

Katra kameras segmenta rindā ir 12 elementi. Elementi ir numurēti no 01 līdz 12 neatkarīgi no rindas numura vai kameras segmenta, un tos attēlo ar 2 cipariem.

34. attēls Elementu numerācija



Pilnajā elementa numurā ir 5 cipari, kas turpmāk norādītajā veidā apzīmē atrašanās vietu.

- ▶ **Virsmā** — 1 apzīmē augšējo virsmu; 2 apzīmē apakšējo virsmu
- ▶ **Rinda** — 1, 2 vai 3
- ▶ **Kamera** — 1, 2, 3, 4, 5 vai 6
- ▶ **Elements** — 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 vai 12

Piemērs: Elementa numurs 12508 norāda uz augšējo virsmu, 2. rindu, 5. kameru un 8. elementu.

Pilns 5 ciparu elementa numurs tiek izmantots sīktēlu un empīriskās fāzēšanas failu nosaukumos. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Sekvenēšanas izvades faili* 57. lpp.

Izvades mapes struktūra

Vadības programmatūra nodrošina automātisku izvades mapju nosaukumu veidošanu.

📁 Data (Dati)

📁 Intensities (Intensitātes)

📁 BaseCalls (Bāzu noteikšanas vienumi)

📁 L001 — 1. joslas bāzu nosaukšana faili, apkopoti vienā failā katram ciklam.

 **L002** — 2. joslas bāzu nosaukšana faili, apkopoti vienā failā katram ciklam.

 **L003** — 3. joslas bāzu nosaukšana faili, apkopoti vienā failā katram ciklam.

 **L004** — 4. joslas bāzu nosaukšana faili, apkopoti vienā failā katram ciklam.

 **L001** — apkopots 1. joslas *.locs fails.

 **L002** — apkopots 2. joslas *.locs fails.

 **L003** — apkopots 3. joslas *.locs fails.

 **L004** — apkopots 4. joslas *.locs fails.

 **Images** (Attēli)

 **Focus** (Fokuss)

 **L001** — 1. joslas fokusa attēli.


 **L002** — 2. joslas fokusa attēli.

 **L003** — 3. joslas fokusa attēli.

 **L004** — 4. joslas fokusa attēli.

 **InterOp** — binārie faili.

 **Logs** (Žurnāli) — darbības posmus aprakstoši žurnālfaili.

 **Recipe** (Recepte) — izpildei specifisks receptes fails, kura nosaukumu veido reaģenta kasetnes ID numurs.

 **RTALogs** — žurnālfaili, kas apraksta analīzes posmus.

 RTAComplete.txt

 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

Skenēšanas izvades faili

Faila veids	Faila apraksts, atrašanās vieta un nosaukums
GTC faili	Genotipu nosaukšanas fails. Katram uz BeadChip skenētam paraugam tiek ģenerēts GTC fails. Faila nosaukumā ir svītrkods un skenētais paraugs. [barcode]_[sample].gtc ([svītrkods]_[paraugs].gtc)
Attēlu faili	Attēlu faili tiek nosaukti atbilstoši apgabalam, kas skenēts uz BeadChip. Nosaukumā ietilpst svītrkods, paraugs un BeadChip sadaļa, vāls un attēlveidošanas kanāls (sarkans vai zaļš). [barcode]_[sample]_[section]_[swath]_[camera]_[tile]_[channel].jpg ([svītrkods]_[paraugs]_[sadaļa]_[vāls]_[kamera]_[elements]_[kanāls].jpg) <ul style="list-style-type: none"> • Barcode (Svītrkods) — faila nosaukums sākas ar BeadChip svītrkodu. • Sample (Paraugš) — BeadChip apgabals, kas ir numurēts kā rinda (R0X) no augšas uz leju un kolonna (C0X) no kreisās uz labo. • Section (Sadaļa) — numurēta rinda paraugā. • Swath (Vāls) — BeadChip tiek attēloti kā savstarpēji pārklājošu elementu kolekcija. Tāpēc, lai attēlotu sadaļu, tiek izmantots tikai viens vāls. • Camera (Kamera) — kamera, ko izmanto attēla iegūšanai. • Tile (Elements) — neliels attēlveidošanas laukums plūsmas šūnā, ko kamera definē kā skata lauku. • Channel (Kanāls) — kanāls ir sarkans vai zaļš.

Skenēšanas izvades mapju struktūra

📁 [Date]_[Instrument Name]_[Scan#]_[Barcode] ([Datums]_[Instrumenta nosaukums]_[Skenēšanas #]_[Svītrkods])

📁 [Barcode] ([Svītrkods])

📁 Config (Konfig.)

📄 Effective.cfg — reģistrē skenēšanas laikā izmantotos konfigurācijas iestatījumus.

📁 Focus (Fokuss) — satur attēlu failus, ko izmanto skenēšanas fokusēšanai.

📁 Logs (Žurnāli) — satur žurnālfailus, kuros uzskaitītas visas skenēšanas laikā veiktās darbības.

📁 PreScanDiagnosticFiles

📁 [Date_Time] Barcode Scan ([Datums_Laiks] Svītrkoda skenēšana)

📄 ProcessedBarcode.jpg — BeadChip svītrkoda attēls.

📄 Skenēšanas diagnostika (žurnālfaili)

📄 PreScanChecks.csv — reģistrē automātiskās pārbaudes rezultātus.

📄 GTC faili — genotipu noteikšanas faili (1 fails katrā paraugā).

📄 IDAT faili — [neobligāti] intensitātes datu faili (2 faili katrā paraugā; 1 katrā kanālā).

📄 Attēlu faili — katra parauga, sadaļas, vāla, kameras, elementa un kanāla skenēšanas attēli.

📄 [Barcode]_sample_metrics.csv ([Svītrkods]_parauga_rādītāji.csv)

📄 [Barcode]_section_metrics.csv ([Svītrkods]_sadaļas_rādītāji.csv)

📄 ScanParameters.xml

Rādītājs

A

- adapteris
 - BeadChip ievietošana 29
 - BeadChip novietojums 27
 - pārskats 5
- analīze
 - izvades faili 57
- analīze, primārā
 - signāla tīrums 56
- apkope 33
- atsāknēšana
 - instruments 39
- attēlveidošana, divkanālu sekvencēšana 55
- attēlveidošanas nodaļums 3
- audio 10
- autonoma konfigurācija 21

B

- BaseSpace 49
 - pieteikšanās 16
- BaseSpace konfigurācija 21
- bāzu nosaukšana 55, 57
 - indeksēšanas apsvērumi 56
- BeadChip
 - adapteris 5, 27
 - analīze 1
 - ievietošana 29
 - reģistrācijas kļūda 47
 - svītrkoda novietojums 27
 - svītrkodu nevar nolasīt 46
 - veidi 1
- bufera kasetne 8, 19
- bufera nodaļums 3

C

- cikli lasījumā 13
- ciklu skaits lasījumā 13

D

- darbības parametri
 - parametru rediģēšana 21
- darbplūsma
 - autonoms režīms 21
 - BaseSpace režīms 21
 - BeadChip 29

- bufera kasetne 19
- indeksēšanas apsvērumi 56
- izlietotie reaģenti 17
- izpildes ilgums 13-14
- izpildes rādītāji 22
- nātrija hipohlorīts 34
- pārskats 14, 26
- pieteikšanās BaseSpace 16
- pirmsizpildes pārbaude 22, 29
- plūsmas šūna 16
- plūsmas šūnas sagatavošana 15
- reaģentu kasetne 19
- sekvencēšana 54
- uzlabota ielādes opcija 11
- datu pārraide
 - universālais kopēšanas pakalpojums 23
- datu pārsūtīšana
 - skenēšanas dati 31
- DMAP mape
 - faila klienta atšifrēšana 25
 - lejupielāde 26
- dokumentācija 1, 67

E

- elementu numerācija 59
- empīriskā fāzēšana 54

F

- faila klienta atšifrēšana 25
- Faila klienta atšifrēšana
 - piekļuve ar kontu 26
 - piekļuve, izmantojot BeadChip 27
- fāzēšana, pirmsfāzēšana 54
- filtru faili 57
- formamīds, 6. pozīcija 20

G

- gaisa filtrs 3, 36
- GTC faili 60

I

- ieslēgšanas poga 4, 9
- ievades faili, skenēšana
 - DMAP mape 25

- klasteru faili 25, 48
 - manifesta faili 25, 48
- ievades faili, skenēšana
 - DMAP mape, lejupielāde 26
- ikonas
 - kļūdas un brīdinājumi 4
 - statuss 4
- llumina proaktīvās uzraudzības pakalpojums 49
- indeksēšanas apsvērumi 56
- instrumenta izslēgšana 39
- instrumenta pārvaldība
 - izslēgšana 39
- instruments
 - atsāknēšana 39
 - avatārs 10
 - ieslēgšanas poga 4
 - izslēgšana 39
 - konfigurācijas iestatījumi 48
 - restartēšana 39
 - režīma indikatori 10
 - segvārds 10
 - uzsākšana 9
- instrumentu apkope
 - palīgmateriāli 11
- instrumentu mazgāšana 33
- intensitāte 55
- InterOp faili 41, 57
- izlaišana caur filtru 56
- izlietoti reaģenti
 - pilna tvertne 44
- izlietotie reaģenti
 - iznīcināšana 17, 35
- izpētes režīma atsāknēšana 10
- izpildes iestatīšana, papildu opcija 11
- izpildes ilgums 13-14
- izpildes parametri
 - autonoms režīms 21
 - BaseSpace režīms 21
- izpildes rādītāji 22
- izvades faili 57
- izvades faili, sekvencēšana 57
- izvades faili, skenēšana
 - GTC, IDAT 60

J

- joslu numurēšana 58
- joslu pāri 58

K

- kameras numerācija 58
- klastera atrašanās vieta
 - veidnes ģenerēšana 54
- klasteri tiek izlaisti caur filtru 56
- klasteru atrašanās vieta
 - faili 57
- klasteru ģenerēšana 13, 23
- klientu atbalsts 67
- kļūdas un brīdinājumi 4, 53
- kļūdu iespējamība 56
- komponenti
 - attēlveidošanas nodaļums 3
 - bufera nodaļums 3
 - reaģenta nodaļums 3
 - statusa josla 3
- Konfigurācija 49
- konfigurācijas iestatījumi 48

L

- lasījuma garums 13
- lasījumu garums 13-14
- lietotāja nodrošināti palīgmateriāli 11
- lietotāja piegādāti palīgmateriāli 11
- lietotāja vārds un parole 9
- locs faili 57

M

- mapes atrašanās vieta 21
- mazgāšana
 - automātiska 24
 - lietotāja nodrošināti palīgmateriāli 33
 - manuālā mazgāšana 33
 - mazgāšanas komponenti 33
- mazgāšana pēc izpildes 24
- metrika
 - bāzu nosaukšana 55

N

- nātrija hipohlorīts, mazgāšana 34

P

- palīdzība
 - dokumentācija 1

- palīdzība, tehniskā 67
- palīgmateriāli 5
 - bufera kasetne 8
 - instrumenta apkope 11
 - laboratorijas klases ūdens 12
 - mazgāšanas palīgmateriāli 33-34
 - plūsmas šūna 6
 - reaģenta kasetne 7
 - sekvencēšanas izpildes 11
- palīgmateriālu iztīrīšana 11
- Phred algoritms 56
- pirmsizpildes pārbaude 22, 29
- pirmsizpildes pārbaudes kļūdas 42
- plūsmas šūna
 - attēlveidošana 58
 - elementi 57
 - elementu numerācija 59
 - iepakojums 15
 - izlīdzināšanas tapas 16
 - joslū numurēšana 58
 - joslū pāri 6
 - pārskats 6
 - rehibridizācija 45
 - tīrīšana 15
 - vāla numurs 58
- praīmera rehibridizācija 45
- problēmu novēršana
 - aizstāt manifesta un klasteru failus 48
 - nevar nolasīt BeadChip svītrkodu 46
 - skēnēšanas reģistrācijas kļūme 47
 - zemas kvalitātes rādītāji 45
- Problēmu novēršana
 - skēnēšanai specifiski faili 42
- profilakse 33
- profilaktiskā apkope 33
- programmatūra
 - attēlu analīze, bāzu noteikšana 3
 - automātiska atjaunināšana 38
 - inicializācija 9
 - instrumentā 3
 - izpildes ilgums 13-14
 - konfigurācijas iestatījumi 48
 - manuāla atjaunināšana 38
- programmatūra BlueFuse Multi 1
- programmatūras atjaunināšana 37

Q

Q rādītāji 56

R

- RAID kļūdas ziņojums 48
- rādītāji
 - intensitātes cikli 23
 - klasteru blīvuma cikli 23
- reaģenta kasetne
 - 28. rezervuārs 34
 - 6. rezervuārs 20
 - pārskats 7
- reaģenta nodalījums 3
- reaģenti
 - komplektos 5
 - pareiza iznīcināšana 19
- reāllaika analīzes programmatūra 3
 - darbplūsma 54
 - fāzēšana 54
- Reāllaika analīzes programmatūra
 - rezultāti 57
- rehibridizācija, 1. nolasījums 45
- restartēšana 39
- RFID izsekošana 5
- RunInfo.xml 41, 57
- RUO režīms 10

S

- saderība
 - plūsmas šūna, reaģenta kasetne 5
 - RFID izsekošana 5
 - RFID izsekošanas birka 7
- sekvencēšana
 - ievads 13
 - lietotāja nodrošināti palīgmateriāli 11
- sekvencēšanas darbplūsma 14, 54
- sistēmas iestatījumi 10
- sistēmas lietotāja vārds un parole 9
- skēnēšanas izvades faili
 - GTC, IDAT 60
- statusa brīdinājumi 4
- statusa josla 3

T

- tastatūra 10
- tehniskā palīdzība 67
- tiešsaistes apmācība 1
- tīrības filtrs 56
- traucējummeklēšana
 - izlietoto reaģentu tvertne 44

izpildei specifiski faili 41
pirmsizpildes pārbaude 42

U

Universālais kopēšanas pakalpojums 23
uzlabota ielādes opcija 11

V

vadības programmatūra 3
vadlīnijas par laboratorijas klases ūdeni 12
vālu numerācija 58
veidnes ģenerēšana 54

W

Windows atvēršana
iziešana 39

Tehniskā palīdzība

Lai saņemtu tehnisko palīdzību, sazinieties ar Illumina tehniskā atbalsta dienestu.

Tīmekļa vietne: www.illumina.com
E-pasta adrese: techsupport@illumina.com

Illumina klientu atbalsta dienesta tālrunu numuri

Reģions	Bezmaksas	Reģionālais
Ziemeļamerika	+1.800.809.4566	
Apvienotā Karaliste	+44 8000126019	+44 2073057197
Austrālija	+1.800.775.688	
Austrija	+43 800006249	+43 19286540
Beļģija	+32 80077160	+32 34002973
Dānija	+45 80820183	+45 89871156
Dienvidkoreja	+82 80 234 5300	
Francija	+33 805102193	+33 170770446
Honkonga, Ķīna	800960230	
Itālija	+39 800985513	+39 236003759
Īrija	+353 1800936608	+353 016950506
Japāna	0800.111.5011	
Jaunzēlande	0800.451.650	
Ķīna	400.066.5835	
Nīderlande	+31 8000222493	+31 207132960
Norvēģija	+47 800 16836	+47 21939693
Singapūra	+1.800.579.2745	
Somija	+358 800918363	+358 974790110
Spānija	+34 911899417	+34 800300143
Šveice	+41 565800000	+41 800200442
Taivāna, Ķīna	00806651752	
Vācija	+49 8001014940	+49 8938035677
Zviedrija	+46 850619671	+46 200883979
Citas valstis	+44.1799.534000	

Drošības datu lapas (DDL) — pieejamas Illumina tīmekļa vietnē: support.illumina.com/sds.html.

Produkta dokumentācija — pieejama lejupielādei tīmekļa vietnē support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122, ASV

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ārpus Ziemeļamerikas)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Tikai pētniecības nolūkiem. Nav izmantojams diagnostikas procedūrās.

© 2021 Illumina, Inc. Visas tiesības paturētas.

illumina[®]