

Onderzoeksmodus NextSeq 550Dx

Referentiegids van het instrument



Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.

ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar www.illumina.com/company/legal.html voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

Revisiegeschiedenis

Document	Datum	Omschrijving van wijziging
Documentnr. 1000000041922 v03	Oktober 2021	Een opmerking toegevoegd over de 7-daagse timer in Controles voor sequencing-runs. Sequencingworkflow bijgewerkt door een nieuwe paragraaf toe te voegen over het aanmaken van een run met behulp van Local Run Manager-software. Stabiliteitslimiet gewijzigd. Infinium Methylation EPIC toegevoegd aan BeachChip-types Pictogramafbeeldingen bijgewerkt om wijzigingen in de gebruikersinterface weer te geven.
Documentnr. 1000000041922 v02	November 2020	Afbeelding in Een handmatige wassing uitvoeren bijgewerkt om nieuwe reagenswascartridges en bufferwascartridges weer te geven. Statusbalkinformatie bijgewerkt met aanvullende kleuren.
Documentnr. 1000000041922 v01	Maart 2018	Informatie over de Illumina Proactive-monitoringservice toegevoegd in het gedeelte Configure System Settings (Systeeminstellingen configureren).
Documentnr. 1000000041922 v00	November 2017	Eerste uitgave.

Inhoudsopgave

Hoofdstuk 1 Overzicht	1
Toelichting op deze handleiding	1
Inleiding	1
Extra hulpmiddelen	1
Instrumentonderdelen	2
Overzicht reagenskit	5
Overzicht verbruiksartikelen sequencing	5
Hoofdstuk 2 Aan de slag	9
Het instrument opstarten	9
Systeeminstellingen aanpassen	10
Door de gebruiker geleverde verbruiksartikelen en apparatuur	11
Hoofdstuk 3 Sequencing	13
Inleiding	13
Workflow sequencing	14
De reagenscartridge prepareren	14
De stroomcel prepareren	15
Bibliotheken voorbereiden voor sequencing	15
Een sequencing-run instellen	16
De voortgang van de run bewaken	23
Automatische wassing na de run	24
Hoofdstuk 4 Scannen	25
Inleiding	25
Scanworkflow	26
De DMAP-map downloaden	26
Laad de BeadChip op de adapter	27
Een scan instellen	28
De voortgang van de scan bewaken	30
Hoofdstuk 5 Onderhoud	33
Inleiding	33
Een handmatige wassing uitvoeren	33
Het luchtfilter vervangen	36
Software-updates	37
Opties voor opnieuw opstarten en uitschakelen	39
Bijlage A Problemen oplossen	41
Inleiding	41
Probleemoplossingsbestanden	41
Fouten bij automatische controle oplossen	42
De bak voor gebruikte reagentia is vol	44

Workflow-rehybridisatie	44
BeadChip- en scanfouten	46
Aangepaste recepten en receptmappen	48
RAID-foutmelding	48
Systeeminstellingen configureren	48
Bijlage B Realtime analyse	53
Overzicht Real-Time Analysis	53
Workflow Real-Time Analysis	54
Bijlage C Uitvoerbestanden en -mappen	59
Sequencinguitvoerbestanden	59
Structuur uitvoermap	62
Uitvoerbestanden scannen	63
Structuur van de uitvoermap voor scans	63
Index	65
Technische ondersteuning	69

Hoofdstuk 1 Overzicht

Toelichting op deze handleiding	1
Inleiding	1
Extra hulpmiddelen	1
Instrumentonderdelen	2
Overzicht reagenskit	5
Overzicht verbruiksartikelen sequencing	5

Toelichting op deze handleiding

Deze referentiegidis voor het instrument biedt instructies voor het gebruik van het NextSeq 550Dx-instrument in de onderzoeksmodus (RUO).

Inleiding

Sequencingfuncties

- ▶ **High-throughput sequencing** (Sequencing met hoge doorvoer) – het NextSeq™ 550Dx-instrument maakt sequencing van DNA-bibliotheken mogelijk.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** (Realtime analyse) – voert beeldverwerking en basebepalingen uit. Raadpleeg *Realtime analyse* op pagina 53 voor meer informatie.
- ▶ **On-instrument data analysis capability** (Mogelijkheid van gegevensanalyse op instrument) – met analysemodules van Analysis Software die voor de run zijn gespecificeerd, kunnen rungegevens worden geanalyseerd.
- ▶ **Dual Boot** (Dubbel opstarten) – het NextSeq 550Dx-instrument bevat afzonderlijke harde schijven die diagnostische (Dx) en onderzoeksmodi (RUO) ondersteunen.

Array-scanningfunctionaliteiten

- ▶ **Integrated array scanning in control software** (Geïntegreerde array-scanning in besturingssoftware) – met het NextSeq 550Dx-instrument kunt u wisselen tussen array-scanning en hoogvolume sequentiëring op hetzelfde instrument met dezelfde besturingssoftware.
- ▶ **Extended imaging capability** (Uitgebreide beeldvormingscapaciteiten) – het beeldvormingssysteem in het NextSeq 550Dx-instrument omvat software en platformaanpassingen die beeldvorming van een groter oppervlak mogelijk maken ten behoeve van BeadChip-scanning.
- ▶ **BeadChip-types** – compatibele BeadChip-types zijn CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC en Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip-adapter** – een herbruikbare BeadChip-adapter maakt eenvoudig laden van een BeadChip op het instrument mogelijk.
- ▶ **Data Analysis** (Gegevensanalyse) – gebruik de BlueFuse® Multi-software om array-gegevens te analyseren.

Extra hulpmiddelen

Op de website van Illumina kan de volgende documentatie worden gedownload.

Hulpmiddel	Omschrijving
<i>Handleiding voorbereiding locatie NextSeq 550Dx-instrument (documentnr. 100000009869)</i>	Dit document bevat de specificaties voor de laboratoriumruimte, de elektrische vereisten en de overwegingen ten aanzien van de omgeving.
<i>Handleiding veiligheid en compliance voor het NextSeq 550Dx-instrument (documentnr. 100000009868)</i>	Geeft informatie over overwegingen aangaande operationele veiligheid, nalegingsverklaringen en instrumentetikettering.
<i>Handleiding conformiteit RFID-lezer (documentnr. 1000000030332)</i>	Dit document bevat informatie over de RFID-lezer van het instrument, nalegingscertificaten en veiligheidsoverwegingen.
<i>Referentiegids onderzoeksmodus NextSeq 550Dx-instrument (documentnr. 1000000041922)</i>	Geeft instructies voor de bediening van het instrument en procedures voor probleemoplossing. Voor gebruik bij het bedienen van het NextSeq 550Dx-instrument in onderzoeksmodus met NextSeq-besturingssoftware (NCS) v3.0.
<i>Handleiding NextSeq 550-systeem (documentnr. 15069765)</i>	Geeft instructies voor de bediening van het instrument en procedures voor probleemoplossing. Voor gebruik bij het bedienen van het NextSeq 550Dx-instrument in onderzoeksmodus met NextSeq-besturingssoftware (NCS) v4.0 of later.
<i>Systeemhandleiding NextSeq 550</i>	Geeft een overzicht van de instrumentonderdelen, instructies voor de bediening van het instrument en procedures voor onderhoud en probleemoplossing.
<i>Hulp BaseSpace</i>	Geeft informatie over het gebruik van de BaseSpace™ sequentie-hub en de beschikbare analyseopties.

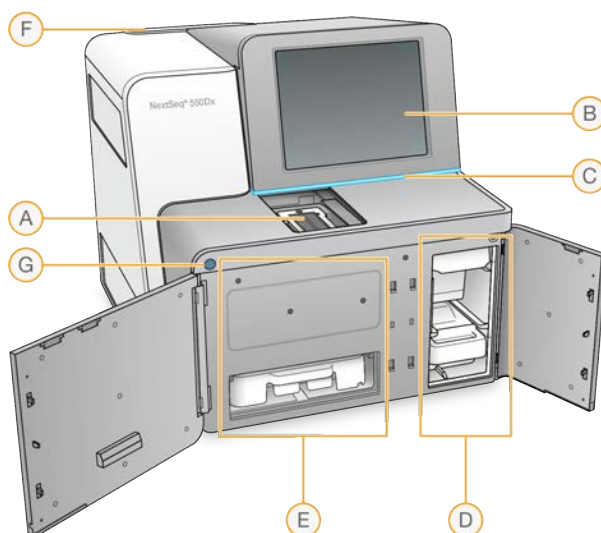
Ga naar de ondersteuningspagina van het [NextSeq 550Dx-instrument](#) op de website van Illumina om toegang te krijgen tot documentatie,软件下载, online training en veelgestelde vragen.

Ga naar de [NextSeq 550Dx-ondersteuningspagina's](#) op de website van Illumina om toegang te krijgen tot documentatie,软件下载, online training en veelgestelde vragen.

Instrumentonderdelen

Het NextSeq 550Dx-instrument heeft een monitor met touchscreen, een statusbalk en 4 compartimenten.

Afbeelding 1 Instrumentonderdelen



- A **Beeldvormingscompartiment** – houdt de stroomcel vast tijdens een sequencing-run.
- B **Monitor met touchscreen** – maakt configuratie en installatie op het instrument mogelijk via de besturingssoftware-interface.
- C **Statusbalk** – geeft de instrumentstatus aan als aan het verwerken (blauw), aandacht nodig (oranje), klaar voor sequencing (groen), aan het initialiseren (afwisselend blauw en wit), nog niet geïnitieerd (wit) of er moet binnen de komende 24 uur een wassing worden gedaan (geel).
- D **Buffercompartiment** – bevat de buffercartridge en de bak voor gebruikte reagentia.
- E **Reagenscompartiment** – bevat de reagenscartridge.
- F **Luchtfiltercompartiment** – bevat het luchtfilter. Het filter is toegankelijk via de achterkant van het instrument.
- G **Aan-uitknop** – hiermee krijgt het instrument voeding en wordt de instrumentcomputer aan- en uitgezet.

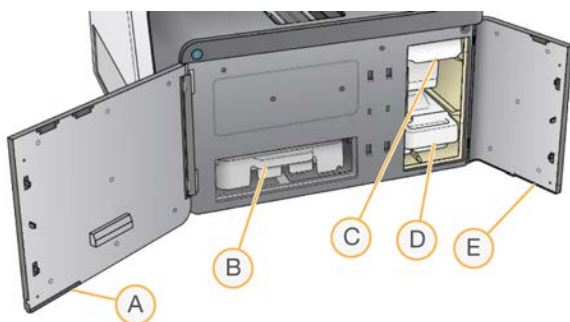
Beeldvormingscompartiment

In het beeldvormingscompartiment bevindt zich het platform met drie uitlijningspennetjes voor het positioneren van de stroomcel. Na het laden van de stroomcel sluit het klepje van het beeldvormingscompartiment zich automatisch en worden de onderdelen in positie geplaatst.

Reagens- en buffercompartimenten

Het instellen van een sequencing-run op het NextSeq 550Dx-instrument vereist toegang tot het reagenscompartiment en het buffercompartiment om runverbruiksartikelen te laden en de bak voor gebruikte reagentia te legen.

Afbeelding 2 Reagens- en buffercompartimenten



- A **Klep reagenscompartiment** – sluit het reagenscompartiment af met een schuifje onder het gedeelte rechts onder de klep. In het reagenscompartiment zit de reagenscartridge.
- B **Reagenscartridge** – de reagenscartridge is een voorgevuld verbruiksartikel voor eenmalig gebruik.
- C **Buffercartridge** – de buffercartridge is een voorgevuld verbruiksartikel voor eenmalig gebruik.
- D **Bak voor gebruikte reagentia** – na elke run worden gebruikte reagentia verzameld en afgevoerd.
- E **Klep buffercompartiment** – sluit het buffercompartiment af met een schuifje onder de hoek links onder de klep.

Luchtfiltercompartiment

Het luchtfiltercompartiment bevat het luchtfilter en bevindt zich aan de achterkant van het instrument. Vervang het luchtfilter elke 90 dagen. Voor meer informatie over het vervangen van het luchtfilter, zie [Het luchtfilter vervangen op pagina 36](#).






NextSeq 550Dx-software

De instrumentsoftware bevat geïntegreerde applicaties die sequentiëringruns uitvoeren.

- ▶ **NextSeq-besturingssoftware (NCS)** – de besturingssoftware begeleidt u door de stappen om een sequencingrun in te stellen.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)-software** – RTA voert beeldanalyses en basebepalingen uit tijdens de run. Het NextSeq 550Dx-instrument gebruikt RTA v2, welke belangrijke architectuur- en functiever verschillen bevat in vergelijking tot eerdere versies. Raadpleeg *Realtime analyse op pagina 53* voor meer informatie.

Statuspictogrammen

Een statuspictogram in de rechterbovenhoek van de NCS geeft elke wijziging in de omstandigheden tijdens het instellen van de run of tijdens de run zelf aan.

Statuspictogram	Naam status	Omschrijving
	Status OK	Systeem werkt normaal.
	Bezig met verwerken	Het systeem is bezig met verwerken.
	Waarschuwing	Er wordt een waarschuwing weergegeven. Waarschuwingen stoppen een run niet en vereisen geen actie voordat u verder gaat.
	Fout	Er is een fout opgetreden. Foutmeldingen vereisen een actie alvorens een run kan worden voortgezet.
	Service vereist	Er is een melding opgetreden die aandacht vereist. Raadpleeg het bericht voor aanvullende informatie.

Wanneer de toestand verandert, knippert het pictogram om u te waarschuwen. Selecteer het pictogram om een beschrijving van de situatie te bekijken. Selecteer **Acknowledge** (Bevestigen) om het bericht te accepteren en **Close** (Sluiten) om het dialoogvenster te sluiten.

OPMERKING

Als u een bericht bevestigt, wordt het pictogram gereset en wordt het bericht in grijs weergegeven. Het bericht is nog steeds zichtbaar voor de gebruiker als hij het pictogram selecteert, maar verdwijnt zodra de NCS opnieuw wordt opgestart.

Aan-uitknop

De aan-uitknop aan de voorkant van de NextSeq 550Dx schakelt de voeding naar het instrument en de instrumentcomputer in. De aan-uitknop voert de volgende acties uit, afhankelijk van de status van de instrumentvoeding. De NextSeq 550Dx start standaard op in de diagnostische modus.

Voor informatie over de eerste keer opstarten van het instrument, zie *Het instrument opstarten op pagina 9*.

Voor informatie over het uitschakelen van het instrument, zie *Het instrument uitschakelen op pagina 39*.

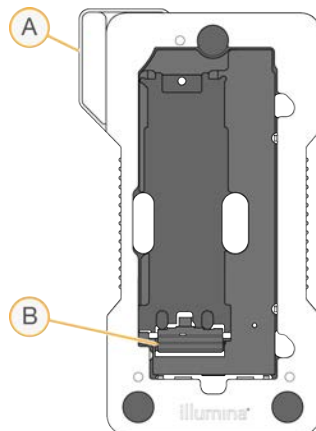
Voedingsstatus	Actie
Instrument is uitgeschakeld	Druk kort op de knop om het apparaat in te schakelen.
Instrument is ingeschakeld	Druk kort op de knop om het apparaat uit te schakelen. Er verschijnt een dialoogvenster op het scherm om te bevestigen dat het instrument wordt uitgeschakeld.
Instrument is ingeschakeld	Houd de aan-uitknop 10 seconden ingedrukt om het instrument en de instrumentcomputer geforceerd uit te schakelen. Gebruik deze methode alleen om het instrument uit te schakelen als het instrument niet reageert.

OPMERKING Als u het instrument uitschakelt tijdens een sequencing-run, wordt de run onmiddellijk beëindigd. Beëindiging van een run is definitief. De verbruiksartikelen voor de run kunnen niet worden hergebruikt en sequencing-gegevens van de run worden niet opgeslagen.

Overzicht van Herbruikbare BeadChip-adapter

De herbruikbare BeadChip-adapter houdt de BeadChip vast tijdens het scannen. De BeadChip wordt met de bevestigingsclip bevestigd in het verzonken schap van de adapter. Vervolgens wordt de BeadChip-adapter op het podium in het beeldvormingscompartiment geplaatst.

Afbeelding 3 Herbruikbare BeadChip-adapter



- A BeadChip-adapter
- B Bevestigingsclip

Overzicht reagenskit

Overzicht verbruiksartikelen sequencing

De verbruiksartikelen voor sequencing die nodig zijn om de NextSeq 550Dx te gebruiken, worden afzonderlijk geleverd in een kit voor eenmalig gebruik. Elke kit bevat één stroomcel, een reagenscartridge, een buffercartridge en een bibliotheekverduunningsbuffer. Raadpleeg voor meer informatie de bijsluiter van de *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cycli)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycli)* of *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycli)*.

De stroomcel, reagenscartridge en buffercartridge maken gebruik van radiofrequentie-identificatie (RFID) voor nauwkeurig volgen en controleren van de compatibiliteit van verbruiksartikelen.

LET OP

Voor NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5-kits is NOS 1.3 of later vereist, zodat het instrument de v2.5 stroomcelcartridge kan accepteren. Voltooi software-updates voordat u monsters en verbruiksartikelen voorbereidt om verspilling van reagentia en/of monsters te voorkomen.

OPMERKING

Houd verbruiksartikelen voor sequencing opgeslagen in de desbetreffende dozen totdat ze klaar zijn voor gebruik.

Labeling betreffende kitcompatibiliteit

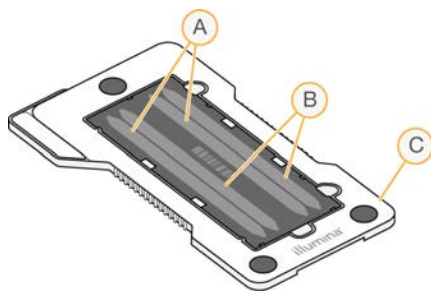
Kitcomponenten hebben labels met een kleurcodering om de compatibiliteit tussen stroomcellen en reagenscartridges te tonen. Gebruik altijd een reagenscartridge die compatibel is met de stroomcel. De buffercartridge is universeel.

Elke stroomcel en reagenscartridge is gelabeld met **High** (hoog) of **Mid** (gemiddeld). Controleer bij het voorbereiden van gebruiksartikelen voor een run altijd het label.

Type kit	Markering op label
Hoge uitvoer kitcomponenten	
Mid-uitvoer kitcomponenten	

Overzicht stroomcel

Afbeelding 4 Stroomcelcartridge



- A Banenpaar A – Banen 1 en 3
- B Banenpaar B – Banen 2 en 4
- C Kader stroomcelcartridge

De stroomcel is een glazen substraat waarop clusters worden gegenereerd en de sequencingreactie wordt uitgevoerd. De stroomcel is ingesloten in een stroomcelcartridge.

De stroomcel bevat 4 banen die worden afgebeeld in paren.

- ▶ Banen 1 en 3 (banenpaar A) worden tegelijkertijd afgebeeld.
- ▶ Banen 2 en 4 (banenpaar B) worden afgebeeld als de beeldvorming van banenpaar A voltooid is.

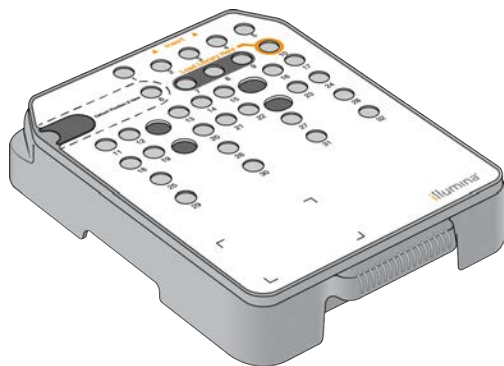
Hoewel de stroomcel 4 banen heeft, wordt er slechts één bibliotheek of set van samengevoegde bibliotheken gesequencet op de stroomcel. Bibliotheken worden op de reagenscartridge geladen vanaf één enkel reservoir en worden automatisch overgedragen naar de stroomcel, naar alle 4 de banen.

Elke baan wordt afgebeeld in kleine afbeeldingsgebieden die tegels worden genoemd. Zie *Stroomceltegels* op pagina 59 voor meer informatie.

Overzicht reagenscartridge

De reagenscartridge is een verbruiksartikel voor eenmalig gebruik met RFID-tracering en met folie afgedichte reservoirs die vooraf gevuld zijn met cluster- en sequencingreagentia.

Afbeelding 5 Reagenscartridge



De reagenscartridge bevat een speciaal reservoir voor het laden van voorbereide bibliotheken. Zodra de run start worden bibliotheken automatisch vanuit het reservoir naar de stroomcel gestuurd.

Er zijn verschillende reservoirs gereserveerd voor de automatische wassing na de run. De wasoplossing wordt vanuit de buffercartridge naar de gereserveerde reservoirs gepompt, door het systeem geleid, en vervolgens naar de bak met gebruikte reagentia.

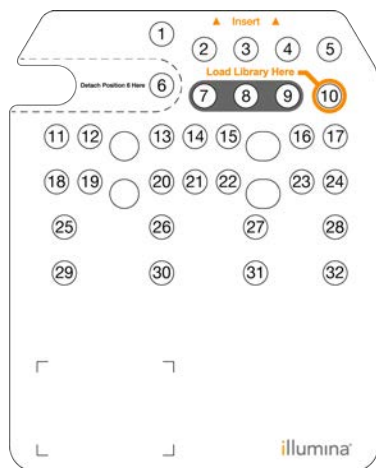


WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

Gereserveerde reservoirs

Afbeelding 6 Genummerde reservoirs



Positie	Omschrijving
7, 8 en 9	Gereserveerd voor optionele aangepaste primers
10	Bibliotheken laden

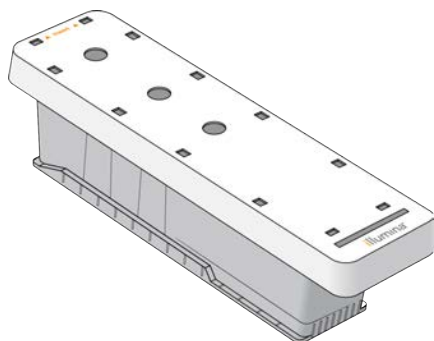
Verwijderbaar reservoir in positie nr. 6

De voorgevulde reagenscartridge bevat een denaturatiereagens op positie 6 dat formamide bevat. Om het veilig verwijderen van eventueel ongebruikt reagens na de run mogelijk te maken, is het reservoir in positie 6 verwijderbaar. Zie [Gebruikt reservoir uit positie 6 verwijderen op pagina 20](#) voor meer informatie.

Overzicht buffercartridge

De buffercartridge is een verbruiksartikel voor eenmalig gebruik dat bestaat uit drie reservoirs die vooraf gevuld zijn met buffers en wasoplossing. De inhoud van de buffercartridge is voldoende voor het sequencen van één stroomcel.

Afbeelding 7 Buffercartridge



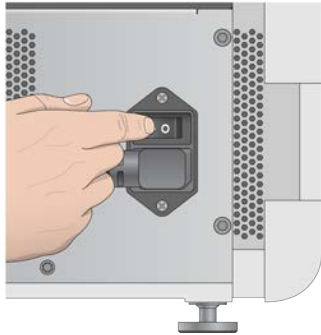
Hoofdstuk 2 Aan de slag

Het instrument opstarten	9
Systeeminstellingen aanpassen	10
Door de gebruiker geleverde verbruiksartikelen en apparatuur	11

Het instrument opstarten

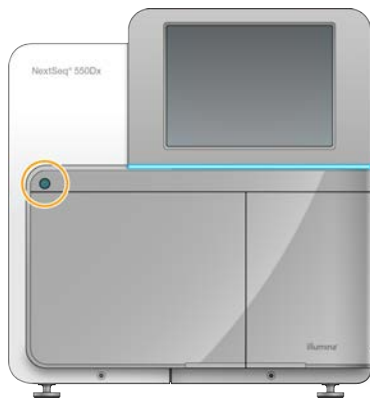
Zet de aan-uitschakelaar op positie I (aan).

Afbeelding 8 De aan-uitschakelaar op de achterkant van het instrument



- 1 Druk op de aan-uitknop boven het reagenscompartiment. De aan-uitknop zet de voeding van het instrument aan en start de geïntegreerde instrumentcomputer en -software.

Afbeelding 9 De aan-uitknop op de voorkant van het instrument



- 2 Wacht tot het besturingssysteem klaar is met laden.
De NextSeq-besturingsssoftware (NCS) start op en het systeem wordt automatisch geïnitieerd. Als de initialisatiestap voltooid is, wordt het startscherm geopend.
- 3 Voer uw gebruikersnaam en het wachtwoord voor de Local Run Manager in.
Voor informatie over wachtwoorden, zie *Gebbruikerswachtwoorden op pagina 1*. Voor informatie over het instellen van een account op Local Run Manager, zie *Administratieve instellingen en taken op pagina 1*.
- 4 Selecteer **Login** (Inloggen).
Het startscherm wordt geopend, met de pictogrammen voor sequentie, lokaal runbeheer, instrument beheren en wassing uitvoeren.

Modusindicatoren instrument

De standaardmodus van de NextSeq 550Dx is de diagnostische modus. Het volgende op het NCS-scherm geeft de modus van het instrument aan.

Modus	Startscherm	Kleurenbalk	Richting statuspictogram
Diagnostische modus	Welcome to NextSeqDx (Welkom bij NextSeqDx)	Blauw	Horizontaal
Onderzoeksmodus	Welcome to NextSeq (Welkom bij NextSeq)	Oranje	Verticaal

Stysteeminstellingen aanpassen

De besturingssoftware omvat aanpasbare systeeminstellingen voor instrumentidentificatie, invoerkeuren, audio-instellingen en locatie van de uitvoermap. Zie [Systeeminstellingen configureren op pagina 48](#) om de netwerkconfiguratie-instellingen te wijzigen.

Aanpassingsopties:

- ▶ Instrumentidentificatie aanpassen (avatar en bijnaam)
- ▶ Invoeroptie instellen en audio-indicator
- ▶ Opties voor runinstallatie instellen
- ▶ Opties voor afsluiten
- ▶ Configuratie van instrumentstart na pre-runcontrole
- ▶ Kiezen voor het verzenden van instrumentprestatiegegevens naar Illumina
- ▶ Aanwijzen van een uitvoermap

Instrumentavatar en bijnaam aanpassen

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren) vanuit het startscherm.
- 2 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem).
- 3 Selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar de betreffende afbeelding om een voorkeursafbeelding voor uw instrument toe te wijzen.
- 4 In het veld Nick Name (Bijnaam) kan een voorkeursnaam voor het instrument worden ingevoerd.
- 5 Selecteer **Save** (Opslaan) om instellingen op te slaan en advance (ga verder) naar het volgende scherm.
De afbeelding en naam verschijnen in de linker bovenhoek van elk scherm.

Optie toetsenbord instellen en audio-indicator

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren) vanuit het startscherm.
- 2 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem).
- 3 Vink het vakje **Use on-screen keyboard** (Schermtoetsenbord gebruiken) aan om het schermtoetsenbord te activeren voor invoer in het instrument.
- 4 Vink het vakje **Play audio** (Audio afspelen) aan om audio-indicatoren in te schakelen voor de volgende gebeurtenissen.
 - ▶ Bij initialisatie van het instrument
 - ▶ Wanneer een run wordt gestart

- ▶ Wanneer bepaalde fouten optreden
 - ▶ Wanneer interactie van de gebruiker vereist is
 - ▶ Wanneer een run is voltooid
- 5 Selecteer **Save** (Opslaan) om instellingen op te slaan en advance (ga verder) naar het volgende scherm.

Opties voor runinstallatie instellen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Vink het selectievakje **Use Advanced Load Consumables** (Verbruiksgoederen voor geavanceerd laden toepassen) aan om de optie om alle verbruiksartikelen voor een run vanaf een enkel scherm te laden.
- 3 Vink het selectievakje **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Bevestiging pre-runcontrole overslaan) aan om het sequentiëren automatisch te starten na een succesvolle automatische controle.
- 4 Selecteer **Save** (Opslaan) om de instellingen op te slaan en het scherm te sluiten.

Optie voor automatisch verwijderen instellen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Vink het selectievakje **Purge Consumables at End of Run** (Verbruiksartikelen na afloop van de run verwijderen) aan om de ongebruikte reagentia in de reagenscartridge na elke run automatisch te verwijderen naar de container voor verbruikte reagentia.

OPMERKING Bij automatisch verwijderen van verbruiksartikelen zal de workflow langer zijn.

- 3 Selecteer **Save** (Opslaan) om de instellingen op te slaan en het scherm te sluiten.

Door de gebruiker geleverde verbruiksartikelen en apparatuur

De volgende verbruiksartikelen en apparaten worden gebruikt op het NextSeq 550Dx-instrument. De volgende verbruiksartikelen en apparatuur worden gebruikt voor de preparatie van verbruiksartikelen, sequencing en instrumentonderhoud. Zie de *NextSeq 550-systeemhandleiding* voor meer informatie.

Verbruiksartikelen voor sequencing

Verbruiksartikel	Leverancier	Doel
Isopropylalcoholdoekjes, 70% of Ethanol, 70%	VWR, catalogusnr. 95041-714 (of gelijkwaardig) Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Reiniging van de stroomcel en algemeen gebruik
Labweefsel, pluisarm	VWR, catalogusnr. 21905-026 (of gelijkwaardig)	Reiniging van de stroomcel en algemeen gebruik

Verbruiksartikelen voor onderhoud en probleemoplossing

Verbruiksartikel	Leverancier	Doel
NaOCl, 5% (natriumhypochloriet)	Sigma-Aldrich, catalogusnr. 239305 (of gelijkwaardig product van laboratoriumkwaliteit)	Handmatig het instrument wassen na de run; verdund tot 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, catalogusnr. P7949	Opties voor het handmatig wassen van het instrument; verdund tot 0,05%
Water van laboratoriumkwaliteit	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Het instrument wassen (handmatig wassen)
Luchtfilter	Illumina, catalogusnr. 20022240	Reinigen van de lucht die het instrument binnenlaat voor koeling

Richtlijnen voor water van laboratoriumkwaliteit

Gebruik altijd water van laboratoriumkwaliteit of gedestilleerd water om de instrumentprocedures uit te voeren. Gebruik nooit kraanwater. Gebruik alleen water van de volgende kwaliteit of vergelijkbaar:

- ▶ Gedestilleerd water
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 megohm (M Ω) water
- ▶ Milli-Q-water
- ▶ Super-Q-water
- ▶ Water van moleculaire-biologiekwaliteit

Apparatuur

Artikel	Bron
Vriezer, -25 °C tot -15 °C, vorstvrij	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden
Koelkast, 2 °C tot 8 °C	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden

Hoofdstuk 3 Sequencing

Inleiding	13
Workflow sequencing	14
De reagenscartridge prepareren	14
De stroomcel prepareren	15
Bibliotheken voorbereiden voor sequencing	15
Een sequencing-run instellen	16
De voortgang van de run bewaken	23
Automatische wassing na de run	24

Inleiding

Om een sequencing-run op het NextSeq 550Dx-instrument uit te voeren, bereidt u een reagenscartridge en stroomcel voor, en volgt u vervolgens de aanwijzingen van de software om de run in te stellen en te starten. Clustervorming en sequencing worden op het instrument uitgevoerd. Na de run wordt automatisch begonnen met het wassen van het instrument, met behulp van onderdelen die al in het instrument zijn geladen.

Genereren van cluster

Tijdens het genereren van een cluster worden enkele DNA-moleculen aan het oppervlak van de stroomcel gebonden en vervolgens geamplificeerd tot ze clusters vormen.

Sequencing

Clusters worden afgebeeld met behulp van tweekanaalssequencingchemie en filtercombinaties specifiek voor elk van de fluorescent gelabelde nucleotiden. Nadat de beeldvorming van een tegel op de stroomcel is voltooid, wordt de volgende tegel in beeld gebracht. Het proces wordt voor elke sequencing-cyclus herhaald. Na de beeldanalyse voert de software basebepaling, filtering en kwaliteitsscorebepaling uit.

Analyse

Naarmate de run vordert zal de besturingssoftware automatisch basebepalingsbestanden (BCL) naar de aangegeven uitvoerlocatie versturen voor secundaire analyse.

Duur sequencing-run

De duur van de sequencing-run is afhankelijk van het aantal cycli dat wordt uitgevoerd. De maximale runlengte is een paired-end run van 150 cycli bij elke bepaling (2 x 150), plus tot wel 8 cycli elk voor 2 indexbepalingen.

Aantal cycli in een bepaling

Bij een sequencing-run is het aantal cycli dat wordt uitgevoerd in een bepaling 1 cyclus meer dan het aantal geanalyseerde cycli. Voorbeeld: een paired-end run van 150 cycli voert bepalingen van 151 cycli uit (2 x 151) met in totaal 302 cycli. Aan het eind van de run worden 2 x 150 cycli geanalyseerd. De extra cyclus dient voor faserings- en voorfaseringsberekeningen.

Workflow sequencing

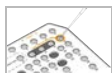
Create Run



Maak de run aan in de Local Run Manager-softwaremodule. Zie de handleiding voor de analyseworkflow voor uw specifieke module.



Prepareer een nieuwe reagenscartridge: ontdooien en inspecteren.
Bereid een nieuwe stroomcel voor: op kamertemperatuur brengen, uitpakken en inspecteren.



Denatureer en verdun bibliotheken. Zie de bijsluiter van de bibliotheekpreparatie voor instructies.



Laad de bibliotheekverduunning op de reagenscartridge in reservoir nr. 10.



Selecteer in het scherm NCS Home (Start NCS) van het instrument **Sequence** (Sequentie), uw run-ID en begin met de stappen voor het instellen van de run. Selecteer **Run** (Uitvoeren).



Laad de stroomcel.



Leeg de bak voor gebruikte reagentia en plaats deze terug.
Laad de buffercartridge en reagenscartridge.



Beoordeel de resultaten van de pre-runcontrole. Selecteer **Start** (Starten). (Niet vereist indien geconfigureerd om automatisch te starten).



Bewaak de run vanuit de interface van de besturingssoftware of vanaf een netwerkcomputer met Local Run Manager.

Er wordt automatisch een instrumentenwassing gestart wanneer de sequencing is voltooid.

De reagenscartridge prepareren

Volg de aanwijzingen van de reagenscartridge zorgvuldig op voor een succesvolle sequencing.

- 1 Neem de reagenscartridge uit de opslag bij een temperatuur van -25 °C tot -15 °C.
- 2 Kies een van de volgende methoden om de reagentia te ontdooien. Dompel de cartridge niet onder. Droog de cartridge af als deze is ontdooid, voordat u verder gaat met de volgende stap.

Temperatuur	Ontdooitijd	Stabiliteitslimiet
Waterbad van 15 °C tot 30 °C	60 minuten	Niet langer dan 6 uur
2 °C tot 8 °C	7 uur	Niet langer dan 7 dagen

OPMERKING Als er meer dan één cartridge in hetzelfde waterbad wordt ontdooid, moet u er rekening mee houden dat het ontdooien langer duurt.

- 3 Draai de cartridge vijf maal om om de reagentia te mengen.
- 4 Controleer de onderkant van de cartridge om er zeker van te zijn dat de reagentia ontdooid zijn en dat er geen sprake is van neerslag. Controleer of de posities 29, 30, 31 en 32 ontdooid zijn, aangezien deze het grootst zijn en het ontdooien hiervan het langst duurt.
- 5 Tik voorzichtig tegen de bank om eventuele luchtballen te verwijderen.
Voor de beste resultaten gaat u direct verder met het laden van het monster en het instellen van de run.



WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

De stroomcel prepareren

- 1 Neem een nieuwe stroomcelverpakking uit de opslag bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C.
- 2 Verwijder de folieverpakking van de doos en zet deze opzij op kamertemperatuur gedurende 30 minuten.

OPMERKING Als de folieverpakking intact is, kan de stroomcel tot 12 uur op kamertemperatuur worden bewaard. Vermijd herhaaldelijk afkoelen en opwarmen van de stroomcel.

Bibliotheken voorbereiden voor sequencing

Denatureer en verdun uw bibliotheken tot een laadvolume van 1,3 ml. In de praktijk kan de laadconcentratie variëren afhankelijk van de bibliotheekpreparatie en kwantificeringsmethododes. De verdunning van monsterbibliotheken hangt af van de complexiteit van oligonucleotidepools. Voor aanwijzingen over het voorbereiden van monsterbibliotheken voor sequencing, inclusief bibliotheekverdunning en pooling, raadpleegt u het gedeelte in de gebruiksaanwijzing voor de betreffende bibliotheekpreparatiekit. Optimalisatie van de clusterdichtheid op de NextSeq 550Dx is vereist.

Bibliotheken denatureren en verdunnen

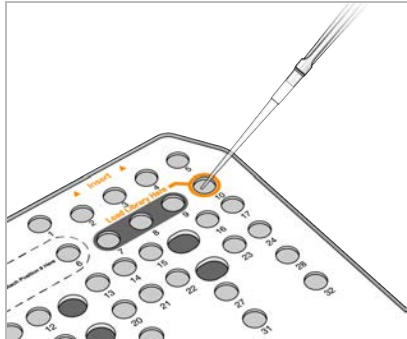
Denatureer en verdun uw bibliotheken tot een laadvolume van 1,3 ml en een laadconcentratie van 1,8 pM. In de praktijk kan de laadconcentratie variëren afhankelijk van de bibliotheekpreparatie en kwantificeringsmethododes. Zie de bijsluiters van de bibliotheekpreparatie voor instructies.

Bibliotheken op de reagenscartridge laden

- 1 Reinig de folieafdichting van reservoir nr. 10 met het label **Load Library Here** (Bibliotheek hier laden) met een niet-pluizende tissue.
- 2 Prik de afdichting door met een schone pipetpunt van 1 ml.

- 3 Laad 1,3 ml geprepareerde bibliotheken in reservoir nr. 10 met het label **Load Library Here** (Bibliotheek hier laden). Raak de folie niet aan bij het dispenseren van de bibliotheken.

Afbeelding 10 Bibliotheken laden



Een sequencing-run instellen

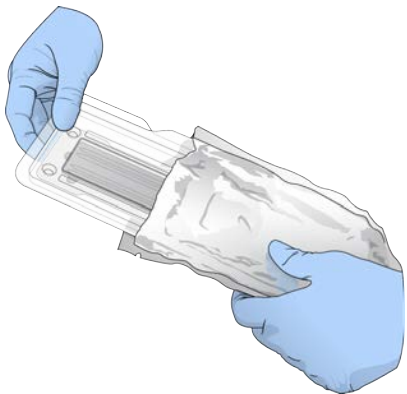
Aanmelden bij BaseSpace

- 1 Voer uw gebruikersnaam en wachtwoord voor BaseSpace in.
- 2 Selecteer **Next** (Volgende).

De stroomcel laden

- 1 Verwijder de gebruikte stroomcel van een vorige run.
- 2 Neem de stroomcel uit de folieverpakking.

Afbeelding 11 Verwijder de folieverpakking



- 3 Open de doorzichtige plastic verpakking en neem de stroomcel eruit.

Afbeelding 12 Verwijder de clamshellverpakking

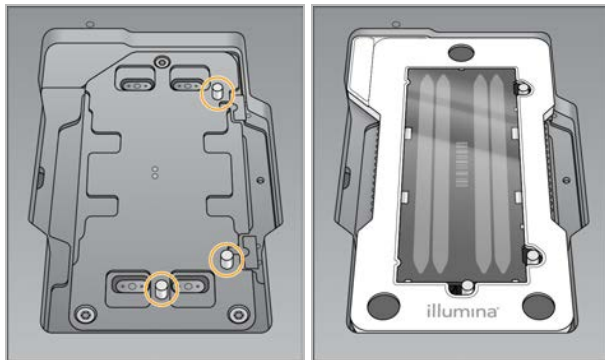


- 4 Reinig het glazen oppervlak van de stroomcel met een pluisvrij alcoholdoekje. Droog het glas af met een pluisarm labdoek.

OPMERKING Zorg ervoor dat het glasoppervlak van de stroomcel schoon is. Herhaal indien nodig de reinigingsstap.

- 5 Lijn de stroomcel uit over de uitlijnpennen en plaats de stroomcel op het platform.

Afbeelding 13 De stroomcel laden



- 6 Selecteer **Load** (Laden).
Het klepje sluit automatisch, de stroomcel-ID verschijnt op het scherm en de sensoren worden gecontroleerd.

OPMERKING Houd uw handen uit de buurt van de klep van de stroomcel wanneer deze zich sluit, om beknelling te voorkomen.

- 7 Selecteer **Next** (Volgende).

De bak voor gebruikte reagentia legen

- 1 Open de klep van het buffercompartiment met het schuifje onder de hoek links onder de klep.
- 2 Verwijder de bak voor gebruikte reagentia en gooi de inhoud weg volgens de geldende normen.

Afbeelding 14 Verwijder de bak voor gebruikte reagentia



OPMERKING Als u de bak verwijdert, plaats dan uw andere hand eronder ter ondersteuning.

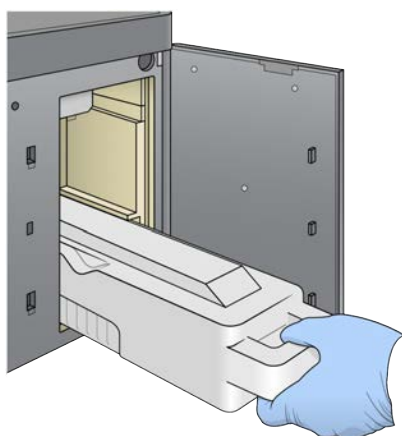


WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

- 3 Schuif de lege bak voor gebruikte reagentia in het buffercompartiment totdat deze niet verder kan. Een hoorbare klik geeft aan dat de bak op zijn plaats zit.

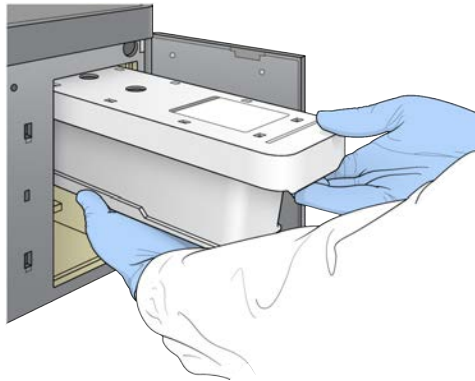
Afbeelding 15 Plaats de lege bak voor gebruikte reagentia



De buffercartridge plaatsen

- 1 Verwijder de gebruikte buffercartridge uit het bovenste compartiment.
Er is enige kracht nodig om de buffercartridge op te tillen en eruit te trekken.
- 2 Schuif een nieuwe buffercartridge in het buffercompartiment totdat deze niet verder kan.
Een hoorbare klik geeft aan dat de cartridge op zijn plaats zit, de ID van de buffercartridge wordt op het scherm weergegeven en de sensor wordt gecontroleerd.

Afbeelding 16 De buffercartridge plaatsen



- 3 Sluit de klep van het buffercompartiment en selecteer **Next** (Volgende).

De reagenscartridge laden

- 1 Open de klep van het reagenscompartiment met het schuifje onder de hoek rechts onder de klep.
- 2 Verwijder de gebruikte reagenscartridge uit het reagenscompartiment. Voer de ongebruikte inhoud af volgens de geldende normen.



WAARSCHUWING

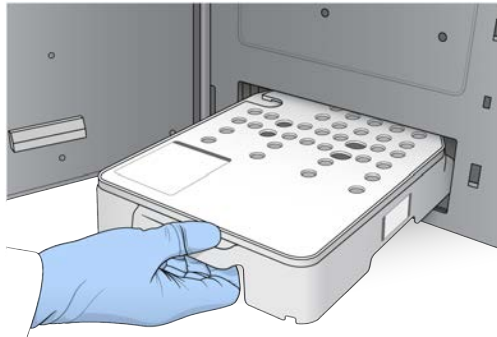
Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving.

Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

OPMERKING Om het veilig verwijderen van ongebruikte reagentia mogelijk te maken, is het reservoir in positie 6 verwijderbaar. Zie *Gebruikt reservoir uit positie 6 verwijderen op pagina 20* voor meer informatie.

- 3 Schuif de reagenscartridge in het reagenscompartiment totdat deze niet verder kan, en sluit vervolgens de klep van het reagenscompartiment.

Afbeelding 17 De reagenscartridge laden

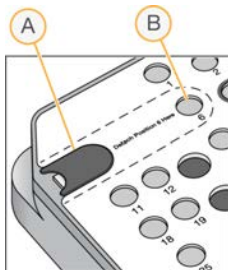


- 4 Selecteer **Load** (Laden).
De software brengt de cartridge automatisch in positie (~30 seconden), de ID van de reagenscartridge wordt op het scherm weergegeven en de sensoren worden gecontroleerd.
- 5 Selecteer **Next** (Volgende).

Gebruikt reservoir uit positie 6 verwijderen

- 1 Nadat u de **gebruikte** reagenscartridge uit het instrument hebt verwijderd, verwijdert u de rubberen bescherming over de gleuf naast positie nr. 6.

Afbeelding 18 Verwijderbaar positie nr. 6



- A Beschermende rubber afdekking
- B Positie nr. 6

- 2 Druk op het doorzichtige plastic lipje en duw het naar links om het reservoir uit te werpen.
- 3 Voer het reservoir af volgens de geldende normen.

Runparameters specificeren

De stappen op het scherm Run Setup (Runinstelling) verschillen afhankelijk van de systeemconfiguratie:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** – in het scherm Run Setup (Runinstelling) worden runs weergegeven die zijn ingesteld met het tabblad BaseSpace Prep (Vorbereiding BaseSpace). Als de beoogde run niet verschijnt op het scherm Run Setup (Runinstelling), controleer dan of de run voor sequencing is gemarkeerd in BaseSpace.
- ▶ **Standalone** – het scherm Run Setup (Runinstelling) bevat velden voor het definiëren van runparameters.

Beschikbare run selecteren (BaseSpace-configuratie)

- 1 Selecteer een runnaam uit de lijst van beschikbare runs.
Gebruik de pijlen omhoog en omlaag om de lijst door te bladeren of voer in het Search-veld (Zoeken) een runnaam in.
- 2 Selecteer **Next** (Volgende).
- 3 Bevestig de runparameters.
 - ▶ **Runnaam** – naam van de run zoals toegewezen in BaseSpace.
 - ▶ **Bibliotheek-ID** – naam van de samengevoegde bibliotheken zoals toegewezen in BaseSpace.
 - ▶ **Recept** – naam van het recept, of **NextSeq High** (NextSeq Hoog) of **NextSeq Mid** (NextSeq Gemiddeld), afhankelijk van de reagenscartridge die voor de run wordt gebruikt.
 - ▶ **Bepalingstype** – enkelvoudige bepaling of gekoppeld einde.
 - ▶ **Bepalingslengte** – aantal cycli voor elke bepaling.
 - ▶ **[Optioneel]** aangepaste Primers, indien van toepassing.
 - ▶ **Runparameters** – wijzig het aantal bepalingen of aantal cycli per bepaling.
 - ▶ **Aangepaste primers** – wijzig de instellingen voor aangepaste primers. Raadpleeg *Handleiding voor aangepaste NextSeq-primers (documentnr. 15057456)* voor meer informatie.
 - ▶ **Verwijder verbruiksartikelen voor deze run** – wijzig de instelling om verbruiksartikelen na de huidige run automatisch te verwijderen.
- 4 Selecteer **Next** (Volgende).

Runparameters invoeren (Standalone-configuratie)

- 1 Voer een runnaam naar keuze in.
- 2 **[Optioneel]** Voer een bibliotheek-ID naar keuze in.
- 3 Selecteer een bepalingstype, **Enkele bepaling** of **Gekoppeld eind**.
- 4 Voer het aantal cycli per bepaling in de sequentiëringrun in.
 - ▶ **Read 1** (Bepaling 1) – voer een waarde in tot maximaal 151 cycli.
 - ▶ **Index 1** – voer het vereiste aantal cycli in voor de Index 1 (i7) primer.
 - ▶ **Index 2** – voer het vereiste aantal cycli in voor de Index 2 (i5) primer.
 - ▶ **Read 2** (Bepaling 2) – voer een waarde in tot maximaal 151 cycli. Deze waarde is normaliter hetzelfde aantal cycli als Bepaling 1.





De besturingssoftware bevestigt uw invoer aan de hand van de volgende criteria:

 - ▶ Totaal aantal cycli overschrijdt het maximum toegestane aantal cycli niet.
 - ▶ Cycli voor Bepaling 1 is groter dan de vijf cycli die voor het genereren van de sjabloon worden gebruikt.
 - ▶ Cycli voor Index Bepaling overschrijden het aantal cycli voor Bepaling 1 en Bepaling 2 niet.
- 5 **[Optioneel]** Als u aangepaste primers gebruikt, vink dan het selectievakje voor de gebruikte primers aan. Raadpleeg *handleiding voor aangepaste NextSeq-primers (documentnr. 15057456)* voor meer informatie.
 - ▶ **Read 1** (Bepaling 1) – aangepaste primer voor Bepaling 1.
 - ▶ **Index 1** – aangepaste primer voor Index 1.
 - ▶ **Index 2** – aangepaste primer voor Index 2.
 - ▶ **Read 2** (Bepaling 2) – aangepaste primer voor Bepaling 2.

- 6 **[Optioneel]** Selecteer de knop **Advanced Settings**  (Geavanceerde instellingen) om de runparameters aan te passen.
- ▶ Selecteer een recept uit het vervolgkeuzemenu Recipe (Recept). Alleen compatibele recepten worden in de lijst vermeld.
 - ▶ **Locatie uitvoermap** – wijzig de locatie van de uitvoermap voor de huidige run. Selecteer **Browse** (Bladeren) om naar een netwerklocatie te navigeren.
 - ▶ **Opgenomen bestand** – selecteer bestanden die u in de uitvoermap wilt opnemen en die bruikbaar kunnen zijn wanneer er verdere analyse vereist is. Zoals manifestbestanden en monsterlijsten.
 - ▶ **Verwijder verbruiksartikelen voor deze run** – wijzig de instelling om verbruiksartikelen na de huidige run automatisch te verwijderen.
 - ▶ **Runbewaking gebruiken voor deze run** – wijzig in BaseSpace de instelling om runbewaking te gebruiken.
- 7 Selecteer **Next** (Volgende).

Pre-runcontrole beoordelen

De software voert een automatische pre-runcontrole van het systeem uit. Tijdens de controle verschijnen de volgende indicatoren op het scherm:

- ▶ **Grijs**  vinkje – De controle is nog niet uitgevoerd.
- ▶ **Pictogram Progress**  (**Bezig**) – De controle is in uitvoering.
- ▶ **Groen**  vinkje – De controle is geslaagd.
- ▶ **Rood**  – De controle is niet geslaagd. Voor alle items die niet slagen, is een actie vereist voordat u verder kunt gaan. Zie *Fouten bij automatische controle oplossen op pagina 42*.

Om een lopende automatische pre-runcontrole te stoppen, selecteert u de knop **Cancel** (Annuleren). Selecteer de knop **Retry** (Opnieuw proberen) om de controle opnieuw te starten. De controle wordt hervat bij de eerste onvolledige of niet-geslaagde controle.

Selecteer het tabblad Category (Categorie) om de resultaten van elke afzonderlijke controle binnen een categorie te bekijken.

Als het instrument niet is geconfigureerd om de run automatisch te starten, start u de run nadat de automatische pre-runcontrole is voltooid.

De run starten

Selecteer **Start** als de automatische pre-runcontrole voltooid is. De sequencing-run wordt gestart.

Raadpleeg *Opties voor runinstallatie instellen op pagina 11* om het systeem te configureren om de run automatisch te starten na een succesvolle controle.



LET OP

Zorg ervoor dat u aangemeld blijft bij Windows. Als u zich tijdens een sequencing-run afmeldt van het Windows-systeem, wordt de run gestopt.

OPMERKING Reagentia mogen niet langer dan 24 uur inactief in het instrument blijven.

De voortgang van de run bewaken

- 1 Monitor de voortgang van de run, de intensiteit en de kwaliteitsscores als meetwaarden die op het scherm zichtbaar zijn.









OPMERKING Nadat u Home (Start) hebt geselecteerd, is het niet mogelijk om terug te keren om de meetwaarden van de run te bekijken. Meetgegevens voor de run zijn echter toegankelijk op BaseSpace of te bekijken vanaf een afzonderlijke computer met de Sequencing Analysis Viewer (SAV).

Cycli voor runmeetwaarden

Runmeetwaarden verschijnen op verschillende momenten tijdens een run.

- ▶ Tijdens de stappen voor clustergeneratie verschijnen er geen meetwaarden.
- ▶ De eerste 5 cycli zijn gereserveerd voor het maken van een sjabloon.
- ▶ Runmeetwaarden verschijnen na cyclus 25, waaronder clusterdichtheid, clusters die het filter passeren, resultaat en kwaliteitsscores.

Gegevensoverdracht

Status	Local Run Manager	Uitvoermap
Verbonden		
Verbonden en bezig met gegevensoverdracht		
Niet verbonden		
Uitgeschakeld		

Als de gegevensoverdracht tijdens de run wordt onderbroken, worden de gegevens tijdelijk opgeslagen op de computer van het instrument. Wanneer de verbinding is hersteld, wordt de gegevensoverdracht automatisch hervat. Als de verbinding niet wordt hersteld voordat de run eindigt, moeten de gegevens handmatig van de instrumentcomputer worden overgebracht voordat een volgende run kan worden gestart.

Universal Copy Service (Universele kopieerservice)

De NextSeq 550Dx bevat een Universal Copy Service (Universele kopieerservice). RTA2 vraagt de service om bestanden te kopiëren vanaf een bronlocatie naar een doellocatie en de service verwerkt kopieerverzoeken in de volgorde waarin ze zijn ontvangen. Als er een uitzondering optreedt, wordt het bestand opnieuw in de rij geplaatst voor kopiëren op basis van het aantal bestanden in de rij voor kopiëren.

Sequencing Analysis Viewer

De Sequencing Analysis Viewer-software toont meetgegevens voor de sequentiëring die tijdens de run zijn gegenereerd. Meetgegevens verschijnen in de vorm van diagrammen, grafieken en tabellen op basis van de gegevens die door RTA zijn gegenereerd en zijn weggeschreven naar InterOp-bestanden.

Meetgegevens worden geüpdatet naargelang de run vordert. Selecteer **Refresh** (Vernieuwen) op enig moment tijdens de run om de geüpdatete meetgegevens te bekijken. Raadpleeg voor meer informatie de *Gebruikershandleiding van de Sequencing Analysis Viewer (onderdeelnr. 15020619)*.

De Sequencing Analysis Viewer wordt meegeleverd met de op de instrumentcomputer geïnstalleerde software. U kunt de Sequencing Analysis Viewer ook installeren op een andere computer die in hetzelfde netwerk is gekoppeld als het instrument om de meetgegevens voor de run op afstand te volgen.

Automatische wassing na de run

Wanneer de sequencing-run voltooid is, initieert de software een automatische wassing na de run met de wasoplossing die in de buffercartridge zit en de NaOCl die in de reagenscartridge zit.

De automatische wassing na een run duurt ongeveer 90 minuten. Als de wassing is voltooid, wordt de knop Home (Start) geactiveerd. Tijdens de wassing blijven de sequencingresultaten zichtbaar op het scherm.

Na de wassing

Na de wassing blijven de zuigmondjes in de omlaaggerichte positie om te voorkomen dat er lucht in het systeem komt. Laat de cartridges zitten tot de volgende run.

Hoofdstuk 4 Scannen

Inleiding	25
Scanworkflow	26
De DMAP-map downloaden	26
Laad de BeadChip op de adapter	27
Een scan instellen	28
De voortgang van de scan bewaken	30

Inleiding

Om een scan uit te voeren op het NextSeq 550Dx-instrument, hebt u de volgende runonderdelen nodig:

- ▶ een gehybridiseerde en bevlekte BeadChip;
- ▶ de herbruikbare BeadChip-adapter;
- ▶ DMAP-bestanden (Decode Map) voor de BeadChip die u gebruikt;
- ▶ een manifestbestand voor het type BeadChip dat u gebruikt;
- ▶ een clusterbestand voor het type BeadChip dat u gebruikt.

Uitvoerbestanden worden gegenereerd tijdens de scan en in een wachtrij voor overdracht naar de gespecificeerde uitvoermap geplaatst.

Voer een analyse met de BlueFuse Multi-software uit, wat vereist dat scangegevens in een genotypebepaling (GTC)-bestandsindeling beschikbaar zijn. Standaard genereert het NextSeq 550Dx-instrument genormaliseerde gegevens en geassocieerde genotypebepalingen in een GTC-bestandsindeling. Optioneel kunt u het instrument configureren om aanvullende IDAT-bestanden intensity data (intensiteitsgegevens) te genereren. Raadpleeg *BeadChip-scanconfiguratie op pagina 50* voor meer informatie.

Bestanddecoderingsclient

De DMAP-map bevat informatie die de bead-locaties identificeert op de BeadChip en het met elke bead geassocieerde signaal kwantificeert. Een DMAP-map is uniek voor elke BeadChip-barcode.

Met het hulpprogramma Bestanddecoderingsclient kunt u DMAP-mappen rechtstreeks van de Illumina-servers downloaden via het standaard HTTP-protocol.

Voor toegang tot de Decode File Client (Bestanddecoderingsclient) gaat u naar de [Decode File Client ondersteuningspagina](#) op de Illumina-website (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Installeer de Bestanddecoderingsclient op een computer met toegang tot de netwerkllocatie van de DMAP-map.

Raadpleeg *De DMAP-map downloaden op pagina 26* voor meer informatie.

Manifestbestanden en clusterbestanden

Voor elke BeadChip vereist de software toegang tot een manifestbestand en een clusterbestand. Elk manifest- en clusterbestand is uniek voor een BeadChip-type. Zorg ervoor dat u clusterbestanden gebruikt met NS550 in de bestandsnaam. Deze bestanden zijn compatibel met het NextSeq 550Dx-systeem.

- ▶ **Manifestbestand** – manifestbestanden beschrijven de SNP of sonde-inhoud op een BeadChip. Manifestbestanden gebruiken de *.bpm-bestandsindeling.

- ▶ **Clusterbestanden** – clusterbestanden beschrijven de clusterposities voor de genotyperings-array van Illumina en worden bij het analyseren van gegevens gebruikt om het genotype te bepalen. Clusterbestanden gebruiken de *.egt-bestandsindeling.

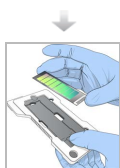
De locatie van de bestanden is gespecificeerd in het BeadChip-scanconfiguratiescherm. Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren), **System Configuration** (Systeemconfiguratie) en dan **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-scanconfiguratie) vanuit het NCS-startscherm.

Als het NextSeq 550Dx-instrument is geïnstalleerd, downloadt de Illumina-vertegenwoordiger deze bestanden en specificeert het pad in de besturingssoftware. Het is niet nodig deze bestanden te wijzigen, behalve in geval van verlies of als er een nieuwe versie beschikbaar is. Raadpleeg *Manifestbestanden en clusterbestanden vervangen op pagina 47* voor meer informatie.

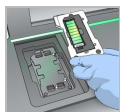
Scanworkflow

DMAP

Download de DMAP-informatie en sla dit in de gespecificeerde locatie van de DMAP-map op.



Laad de BeadChip op de BeadChip-adapter.



Laad de BeadChip-adapter op het instrument.



Specificeer de scanparameters: locatie van DMAP-map en uitvoerlocatie.



Bekijk de resultaten van de automatische controle. Selecteer **Start** (Starten).



Bewaak de scan vanuit de interface van de besturingssoftware.

De DMAP-map downloaden

U kunt de DMAP-map openen door de Bestanddecoderingsclient via account of via BeadChip (standaardweergave) te gebruiken.

Toegang tot DMAP-map via account

- 1 Selecteer vanuit de hoofdtab van de Bestanddecoderingsclient een downloadoptie:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ Nog niet alle BeadChips zijn gedownload
 - ▶ Alle BeadChips
 - ▶ BeadChips in volgorde van aankooporder
 - ▶ BeadChips in volgorde van barcode

- 2 Voer de vereiste informatie in.
- 3 Navigeer naar de DMAP-map die u wilt downloaden.
- 4 Zorg ervoor dat u voldoende beschikbare ruimte hebt op de downloadbestemming.
- 5 Start de download. Bekijk de downloadstatus in het tabblad Download Status and Log (Downloadstatus en -log).
- 6 Bewaar de DMAP-map op de gespecificeerde DMAP-maplocatie.

Toegang tot DMAP-map via BeadChip

- 1 Gebruik 2 van de onderstaande opties om de BeadChips te identificeren:
 - ▶ BeadChip-barcode
 - ▶ BeadChips box-ID
 - ▶ Aankoopordernummer
 - ▶ Verkoopordernummer
- 2 Navigeer naar de DMAP-map die u wilt downloaden.
- 3 Zorg ervoor dat u voldoende beschikbare ruimte hebt op de downloadbestemming.
- 4 Start de download. Bekijk de downloadstatus in het tabblad Download Status and Log (Downloadstatus en -log).
- 5 Bewaar de DMAP-map op de gespecificeerde DMAP-maplocatie.

Laad de BeadChip op de adapter

- 1 Druk de adapterbevestigingsclip aan. De clip buigt iets naar achteren om te openen.
- 2 Terwijl u de BeadChip aan de randen vasthoudt, positioneert u de BeadChip met de barcode vlakbij de bevestigingsclip en plaatst u de BeadChip op de verzonken plank van de adapter.

Afbeelding 19 Laad de BeadChip op de adapter



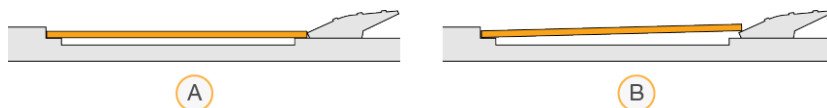
- 3 Gebruik de openingen aan beide kanten van de BeadChip, zorg ervoor dat de BeadChip goed in de verzonken plank van de adapter zit.

Afbeelding 20 Plaats en bevestig de BeadChip



- 4 Maak de bevestigingsclip voorzichtig los om de BeadChip te bevestigen.
- 5 Inspecteer de BeadChip van de zijkant om u ervan te verzekeren dat de BeadChip vlak op de adapter is aangebracht. Herpositioneer de BeadChip indien nodig.

Afbeelding 21 Inspecteer de positie van de BeadChip



- A Juiste positie – de BeadChip rust vlak op de adapter als de clip los is.
 B Onjuiste positie – de BeadChip rust niet vlak als de clip los is.

Een scan instellen

- 1 Selecteer **Experiment** en vervolgens **Scan** vanuit het startscherm.
 De opdracht Scannen opent het klepje van het beeldvormingscompartiment, geeft, indien aanwezig, de verbruiksartikelen van een eerdere run vrij en opent de reeks schermen voor scaninstellingen.
 Een korte vertraging is normaal.

De verbruiksartikelen voor sequentiëring uitladen

Als gebruikte verbruiksartikelen voor sequentiëring aanwezig zijn tijdens het instellen van een scan, zal de software u vragen de reagenscartridge en buffercartridge te verwijderen voordat u doorgaat naar de volgende stap.

- 1 Als hiertoe wordt verzocht, verwijder dan de verbruiksartikelen die tijdens een eerdere sequentiëringsrun zijn gebruikt.
 - a Verwijder de reagenscartridge uit het reagenscompartiment. Voer de ongebruikte inhoud af volgens de geldende normen.
 - b Verwijder de gebruikte buffercartridge uit het buffercompartiment.



WAARSCHUWING

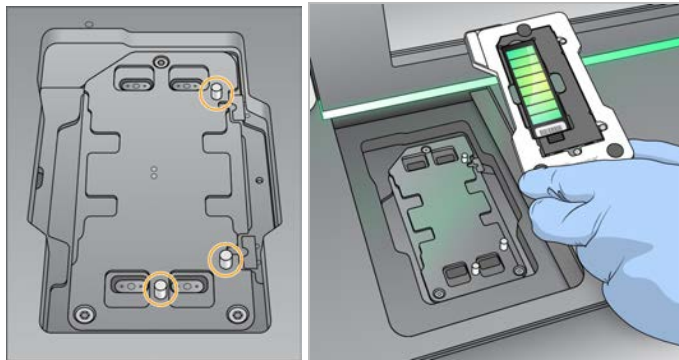
Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

- 2 Verwijder de stroomcel uit het beeldvormingscompartiment.
- 3 Sluit de deuren van het reagens- en buffercompartiment.

De BeadChip-adapter laden

- 1 Gebruik de uitlijnpennetjes om de BeadChip-adapter op het platform te positioneren.

Afbeelding 22 De BeadChip-adapter laden






- 2 Selecteer **Load** (Laden).
Het klepje sluit automatisch, de BeadChip-ID verschijnt op het scherm en de sensoren worden gecontroleerd. Een korte vertraging is normaal. Als de BeadChip-barcode niet gelezen kan worden, verschijnt er een dialoogvenster dat u de mogelijkheid geeft de barcode handmatig in te voeren. Raadpleeg *Software kan de BeadChip-barcode niet lezen* op pagina 46.
- 3 Selecteer **Next** (Volgende).

Scaninstelling

- 1 Bevestig op het scherm Scan Setup (scaninstelling) de volgende informatie:
 - ▶ **Barcode** – de software leest de BeadChip-barcode bij het laden van de BeadChip. Als de barcode handmatig is ingevoerd, verschijnt de knop Edit (Wijzigen) voor het aanbrengen van verdere wijzigingen.
 - ▶ **Type** – het veld BeadChip-type wordt automatisch opgevuld op basis van de BeadChip-barcode.
 - ▶ **DMAP-locatie** – de locatie van de DMAP-map is gespecificeerd in het BeadChip-scanconfiguratiescherm. Selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar de gewenste locatie om alleen voor de huidige scan de locatie te wijzigen.
 - ▶ **Uitvoerlocatie** – de locatie van de uitvoermap is gespecificeerd in het BeadChip-scanconfiguratiescherm. Selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar de gewenste locatie om alleen voor de huidige scan de locatie te wijzigen.
- 2 Selecteer **Next** (Volgende).

Pre-runcontrole beoordelen

De software voert een automatische pre-runcontrole van het systeem uit. Tijdens de controle verschijnen de volgende indicatoren op het scherm:

- ▶ **Grijs**  vinkje – De controle is nog niet uitgevoerd.
- ▶ **Pictogram Progress**  (**Bezig**) – De controle is in uitvoering.
- ▶ **Groen**  vinkje – De controle is geslaagd.

- ▶ **Rood** ✘ – De controle is niet geslaagd. Voor alle items die niet slagen, is een actie vereist voordat u verder kunt gaan. Zie *Fouten bij automatische controle oplossen op pagina 42*.

Om een lopende automatische pre-runcontrole te stoppen, selecteert u de knop **Cancel** (Annuleren). Selecteer de knop **Retry** (Opnieuw proberen) om de controle opnieuw te starten. De controle wordt hervat bij de eerste onvolledige of niet-geslaagde controle.

Selecteer het tabblad Category (Categorie) om de resultaten van elke afzonderlijke controle binnen een categorie te bekijken.

Als het instrument niet is geconfigureerd om de run automatisch te starten, start u de run nadat de automatische pre-runcontrole is voltooid.

Start de Scan

Selecteer **Start** als de automatische controle voltooid is. De scan begint.

Raadpleeg *Opties voor runinstallatie instellen op pagina 11* om het systeem te configureren om de scan automatisch te starten na een succesvolle controle.

De voortgang van de scan bewaken

- 1 De voortgang van de scan bewaken met het BeadChip-beeld. Elke kleur op de afbeelding geeft de scanstatus aan.

- ▶ **Lichtgrijs** – niet gescand
- ▶ **Donkergrijs** – gescand maar niet geregistreerd.
- ▶ **Groen** – gescand en succesvol geregistreerd.
- ▶ **Rood** – gescand en registratie mislukt.

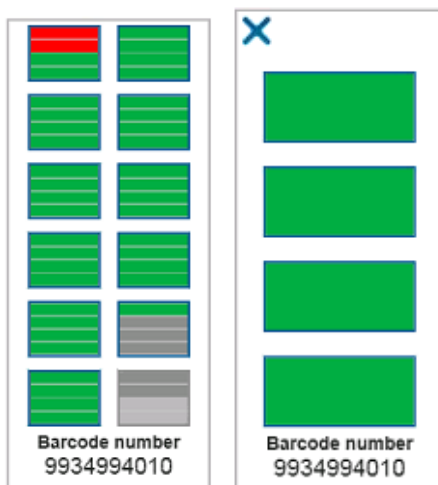
Als de registratie mislukt, kunt u de monsters die mislukte secties bevatten opnieuw scannen.

Raadpleeg *BeadChip-scanfout op pagina 46*.

- 2 Selecteer de BeadChip-afbeelding om te wisselen tussen volledige weergave en gedetailleerde weergave voor een geselecteerd monster.

- ▶ De volledige weergave toont de monsters op de BeadChip en secties binnen elk monster.
- ▶ De gedetailleerde weergave toont elke sectie binnen het geselecteerde monster.

Afbeelding 23 BeadChip-afbeelding: Volledige weergave en gedetailleerde weergave



OPMERKING Beëindiging van een scan is definitief. Als u de scan beëindigt voordat de scan is voltooid, worden de scangegevens *niet* opgeslagen.

Gegevensoverdracht

Als de scan is voltooid, worden gegevens in de wachtrij voor overdracht naar de scanuitvoermap geplaatst. Gegevens worden tijdelijk weggeschreven op de instrumentcomputer. De tijdelijke map wordt automatisch verwijderd van de instrumentcomputer zodra een volgende scan wordt gestart.

De tijd die vereist is voor gegevensoverdracht is afhankelijk van uw netwerkverbinding. Bevestig, voordat een volgende scan wordt gestart, dat de gegevens zijn weggeschreven naar de uitvoermap. Controleer of er GTC-bestanden aanwezig zijn in de barcodemap om dit te bevestigen. Raadpleeg voor meer informatie de *Structuur van de uitvoermap voor scans op pagina 63*.

Als de verbinding wordt onderbroken, wordt de gegevensoverdracht automatisch voortgezet als de verbinding is hersteld. Elk bestand heeft een timer van 1 uur nadat het in de wachtrij is geplaatst voor overdracht naar de uitvoermap. Als de timer afloopt of als het instrument opnieuw wordt opgestart voordat de overdracht is voltooid, zijn de gegevens niet in de uitvoermap opgeslagen.

Hoofdstuk 5 Onderhoud

Inleiding	33
Een handmatige wassing uitvoeren	33
Het luchtfilter vervangen	36
Software-updates	37
Opties voor opnieuw opstarten en uitschakelen	39

Inleiding

Onderhoudsprocedures omvatten handmatige instrumentwassingen en het vervangen van het luchtfilter. De opties voor het uitschakelen en opnieuw opstarten van het instrument worden ook beschreven.

- ▶ **Instrumentwassingen** – Een automatische wassing na elke sequencing-run zorgt ervoor dat het instrument goed blijft functioneren. Onder bepaalde omstandigheden is echter periodiek een handmatige wassing vereist. Zie *Een handmatige wassing uitvoeren op pagina 33*.
- ▶ **Vervanging luchtfilter** – Het regelmatig vervangen van het luchtfilter zorgt voor een goede luchtdoorstroming door het instrument.

Preventief onderhoud

Illumina adviseert elk jaar een preventieve onderhoudsbeurt te laten uitvoeren. Als u geen servicecontract heeft afgesloten kunt u contact opnemen met de accountmanager voor uw regio of met de technische ondersteuning van Illumina om een afspraak te maken voor een preventieve onderhoudsbeurt. Voor een dergelijke onderhoudsbeurt worden kosten in rekening gebracht.

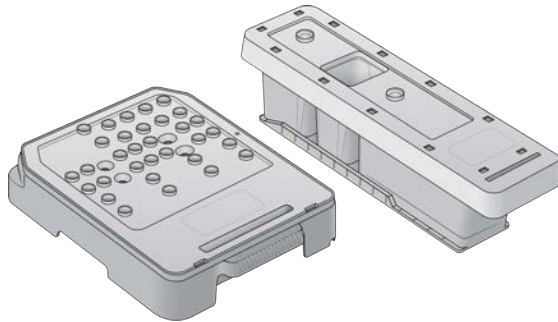
Een handmatige wassing uitvoeren

Handmatige wassingen worden gestart vanuit het startscherm. De wasmogelijkheden omvatten de Snelle wassing en de Handmatige wassing na de run.

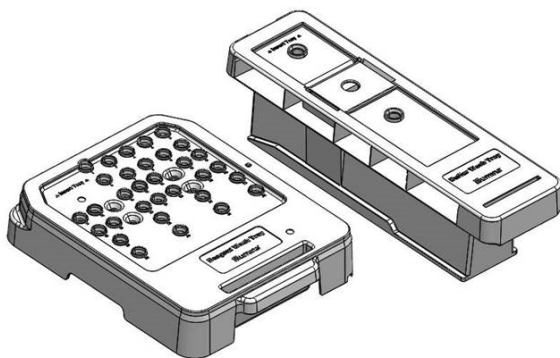
Typen wassingen	Omschrijving
Snelle wassing Duur: 20 minuten	Spoelt het systeem met een door de gebruiker geleverde wasoplossing van water van laboratoriumkwaliteit en Tween 20 (bufferwascartridge). <ul style="list-style-type: none">• Moet elke 14 dagen dat het instrument inactief is worden uitgevoerd, waarbij de reagenscartridge en buffercartridge op hun plaats blijven.• Moet elke 7 dagen dat het instrument in droge toestand is (reagenscartridge en buffercartridge verwijderd), worden uitgevoerd.
Handmatige wassing na de run Duur: 90 minuten	Spoelt het systeem met een door de gebruiker geleverde wasoplossing van water van laboratoriumkwaliteit en Tween 20 (bufferwascartridge) en 0,12% natriumhypochloriet (reagenswascartridge). Vereist indien de automatische wassing na de run niet werd uitgevoerd.

Voor een handmatige wassing zijn de bij het instrument geleverde reagens- en bufferwascartridge en een gebruikte stroomcel nodig. Een gebruikte stroomcel kan tot 20 keer worden gebruikt voor de wassing van instrumenten.

Afbeelding 24 Reagenswascartridge en bufferwascartridge originele stijl.



Afbeelding 25 Reagenswascartridge en bufferwascartridge nieuwe stijl.



Prepareren voor een handmatige wassing na de run

Kies voor het voorbereiden van een handmatige wassing na de run zoals hieronder beschreven, of voor het voorbereiden van een snelle wassing (volgende gedeelte). Als u een handmatige wassing na de run wilt uitvoeren, sla dan het gedeelte over de snelle wassing over en ga verder naar [Een gebruikte stroomcel en de wascartridges laden op pagina 35](#).

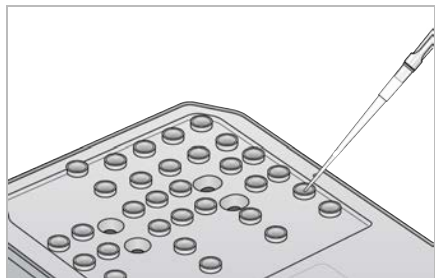
Verbruiksartikelen die door de gebruiker moeten worden geleverd	Hoeveelheid en beschrijving
NaOCl	1 ml, verdund tot 0,12% Geladen op de reagenswascartridge (positie nr. 28)
100% Tween 20 Water van laboratoriumkwaliteit	Gebruikt om 125 ml wasoplossing van 0,05% Tween 20 te maken Geladen op de bufferwascartridge (middelste reservoir)

OPMERKING Gebruik altijd een verse verdunning van NaOCl die binnen de afgelopen **24 uur** is bereid. Als u meer dan 1 ml bereidt, bewaar de resterende verdunning dan bij 2 °C tot 8 °C voor gebruik binnen de komende 24 uur. Gooi anders de resterende verdunning van NaOCl weg.

- Voeg de volgende volumes samen in een microcentrifugebuis om 1 ml 0,12% NaOCl te verkrijgen:
 - ▶ 5% NaOCl (24 µl)
 - ▶ Water van laboratoriumkwaliteit (976 µl)
- Meng de inhoud door het buisje om te keren.

- Voeg 1 ml 0,12% NaOCl toe aan de reagenswascartridge. Het juiste reservoir komt overeen met positie nr. 28 van de voorgevulde cartridge.

Afbeelding 26 NaOCl laden



- Combineer de volgende volumes om een wasoplossing van 0,05% Tween 20 te verkrijgen:
 - Bufferwascartridge originele stijl
 - ▶ 100% Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Water van laboratoriumkwaliteit (125 ml)
 - ▶ Voeg 125 ml wasoplossing toe aan het middelste reservoir van de bufferwascartridge.
 - Bufferwascartridge nieuwe stijl
 - ▶ 100% Tween 20 (75 µl)
 - ▶ Water van laboratoriumkwaliteit (150 ml)
 - ▶ Voeg 150 ml wasoplossing toe aan het middelste reservoir van de bufferwascartridge.
- Selecteer **Perform Wash** (Wassing uitvoeren) en selecteer vervolgens **Manual Post-Run Wash** (Handmatige wassing na de run).

Prepareren voor een snelle wassing

U kunt een snelle wassing voorbereiden zoals hieronder beschreven, als alternatief voor *Prepareren voor een handmatige wassing na de run op pagina 34*.

Verbruiksartikelen die door de gebruiker moeten worden geleverd	Hoeveelheid en beschrijving
100% Tween 20 Water van laboratoriumkwaliteit	Gebruikt om 40 ml wasoplossing van 0,05% Tween 20 te maken Geladen op wasbuffercartridge (middelste reservoir)

- Combineer de volgende volumes om een wasoplossing van 0,05% Tween 20 te verkrijgen:
 - ▶ 100% Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Water van laboratoriumkwaliteit (40 ml)
- Voeg 40 ml wasoplossing toe aan het middelste reservoir van de bufferwascartridge.
- Selecteer **Perform Wash** (Wassing uitvoeren) en selecteer vervolgens **Quick Wash** (Snelle wassing).

Een gebruikte stroomcel en de wascartridges laden

- Plaats een gebruikte stroomcel als deze zich nog niet in het instrument bevindt. Selecteer **Load** (Laden) en selecteer vervolgens **Next** (Volgende).

- 2 Verwijder de bak voor gebruikte reagentia en gooi de inhoud weg volgens de geldende normen.



WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

- 3 Schuif de lege bak voor gebruikte reagentia in het buffercompartiment totdat deze niet verder kan.
- 4 Verwijder de gebruikte buffercartridge van de vorige run, indien aanwezig.
- 5 Laad de bufferwascartridge met wasoplossing.
- 6 Verwijder de gebruikte reagenscartridge van de vorige run, indien aanwezig.
- 7 Laad de reagenswascartridge.
- 8 Selecteer **Next** (Volgende). De voorwascontrole begint automatisch.

Start de wassing

- 1 Selecteer **Start** (Starten).
- 2 Wanneer de wassing is voltooid, selecteert u **Home** (Start).

Na de wassing

Na de wassing blijven de zuigmondjes in de omlaaggerichte positie om te voorkomen dat er lucht in het systeem komt. Laat de cartridges zitten tot de volgende run.

Het luchtfilter vervangen

Er worden drie reserve luchtfilters meegeleverd bij nieuwe systemen. Deze moeten worden bewaard en gebruikt wanneer een verzoek van het instrument wordt ontvangen om het filter te vervangen.

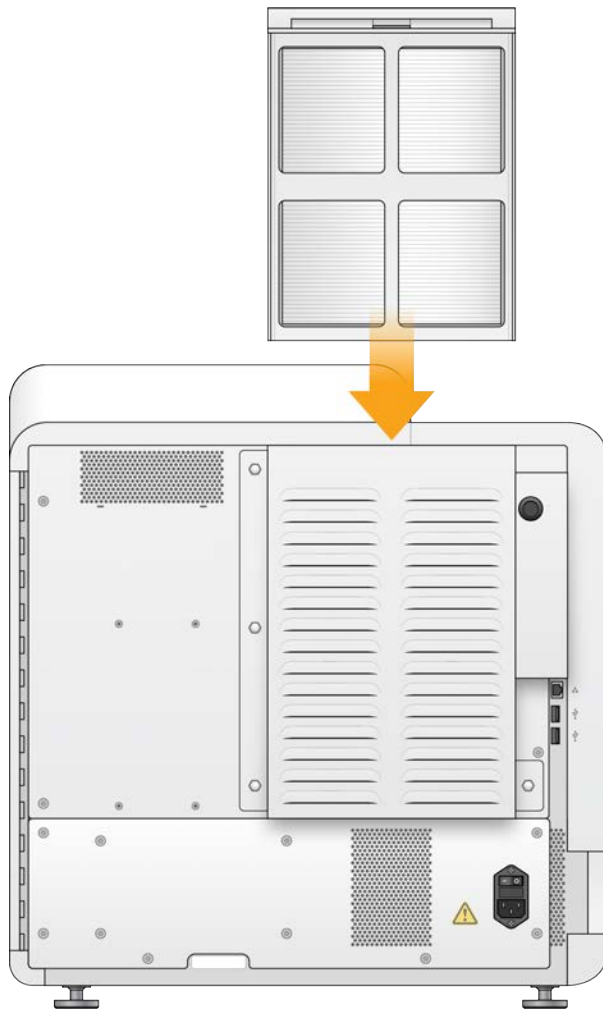
Het luchtfilter zorgt voor de luchtstroom door het instrument. De software geeft een melding om het luchtfilter om de 90 dagen te vervangen. Wanneer daarom wordt gevraagd, selecteert u **Remind in 1 day** (Herinner mij over 1 dag), of volgt u de volgende procedure en selecteert u **Filter Changed** (Filter vervangen). Het aftellen van 90 dagen wordt gereset na het selecteren van **Filter Changed** (Filter vervangen).

- 1 Haal het nieuwe luchtfilter uit de verpakking en noteer de datum waarop u het filter installeert op de rand van het filter.
- 2 Druk aan de achterkant van het instrument op de bovenkant van de filterbak om de bak los te maken.
- 3 Pak de bovenkant van de filterbak vast en trek de bak omhoog om deze volledig uit het instrument te tillen.
- 4 Verwijder het oude luchtfilter en gooi het weg.
- 5 Plaats het nieuwe luchtfilter in de bak.

OPMERKING Het luchtfilter werkt niet goed als het achterstevoren zit. Zorg dat u het luchtfilter zo in de bak plaatst dat u de groene pijl omhoog kunt zien en dat u het waarschuwingsetiket niet kunt zien. De pijl moet in de richting van het handvat van de filterbak wijzen.

- Schuif de filterbak in het instrument. Duw de bovenkant van de filterbak naar beneden totdat deze vastklikt.

Afbeelding 27 Plaatsen luchtfilter



Software-updates

Software-updates worden gebundeld in een softwarepakket genaamd System Suite, die de volgende software bevat:

- ▶ NextSeq Control Software (NextSeq-besturingssoftware, NCS)
- ▶ NextSeq-recepten
- ▶ RTA2
- ▶ NextSeq Service-software (NSS)

- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

U kunt software-updates automatisch installeren via een internetverbinding of handmatig vanaf een netwerk of USB-locatie.

- ▶ **Automatic updates** (Automatische updates) – voor instrumenten die zijn verbonden met een netwerk met toegang tot het internet verschijnt een melding -pictogram op de knop Manage Instrument (Instrument beheren) op het startscherm als er een update beschikbaar is.
- ▶ **Manual updates** (Handmatige updates) – download het System Suite-installatiebestand van de [ondersteuningspagina voor het NextSeq 550Dx-instrument](#) op de Illumina-website.

Automatische software-update

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Software Update** (Software-update).
- 3 Selecteer **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Installeer de update die al van BaseSpace is gedownload).
- 4 Selecteer **Update** om de update te starten. Er wordt een dialoogvenster geopend om de opdracht te bevestigen.
- 5 Volg de instructies in de installatiewizard:
 - a Accepteer de licentieovereenkomst.
 - b Bekijk de release-opmerkingen.
 - c Bekijk de lijst van software die in de update is inbegrepen.

Als de update voltooid is, wordt de besturingssoftware automatisch opnieuw gestart.

OPMERKING Als er een firmware-update is inbegrepen, zal het systeem automatisch opnieuw moeten opstarten nadat de firmware is geüpdatet.

Handmatige software-update

- 1 Download de System Suite-installatiemodule van de Illumina-website en sla deze op in een netwerklocatie.
U kunt ook het software-installatiebestand kopiëren naar een draagbare USB-schijf.
- 2 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 3 Selecteer **Software Update** (Software-update).
- 4 Selecteer **Manually install the update from the following location** (De update handmatig installeren vanuit de volgende locatie).
- 5 Selecteer **Browse** (Bladeren) om te navigeren naar de locatie van het software-installatiebestand en selecteer dan **Update**.
- 6 Volg de instructies in de installatiewizard:
 - a Accepteer de licentieovereenkomst.
 - b Bekijk de release-opmerkingen.
 - c Bekijk de lijst van software die in de update is inbegrepen.

Als de update voltooid is, wordt de besturingssoftware automatisch opnieuw gestart.

OPMERKING Als er een firmware-update is inbegrepen, zal het systeem automatisch opnieuw moeten opstarten nadat de firmware is geüpdatet.

Opties voor opnieuw opstarten en uitschakelen

U kunt de volgende functies openen door de knop Reboot / Shutdown (Opnieuw opstarten/Uitschakelen) te selecteren:

- ▶ Reboot to RUO (Opnieuw opstarten in RUO) – Het instrument opent in de onderzoeksmodus.
- ▶ Restart (Opnieuw opstarten) – Het instrument opent in diagnostische modus.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Opnieuw opstarten in Dx vanuit RUO) – Het instrument opent in diagnostische modus.
- ▶ Shutdown (Uitschakelen) – Wanneer het instrument weer wordt ingeschakeld, wordt het geopend in de diagnostische modus.
- ▶ Exit to Windows (Afsluiten en naar Windows) – Afhankelijk van de rechten, kunt u NCS sluiten en Windows bekijken.

Opnieuw opstarten in diagnostische modus

Gebruik de opdracht Restart (Opnieuw opstarten) om het instrument veilig uit te schakelen en opnieuw op te starten in de diagnostische modus. De diagnostische modus is de standaard opstartmodus.

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Reboot / Shutdown** (Opnieuw opstarten/Uitschakelen).
- 3 Selecteer **Restart** (Opnieuw opstarten).

Het instrument uitschakelen

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Reboot / Shutdown** (Opnieuw opstarten/Uitschakelen).
- 3 Selecteer **Shutdown** (Uitschakelen).

Met de opdracht Shutdown (Uitschakelen) wordt de software veilig afgesloten en wordt de stroom van het instrument uitgeschakeld. Wacht ten minste 60 seconden voordat u het instrument weer aan zet.

OPMERKING Het instrument start standaard op in de diagnostische modus wanneer het wordt ingeschakeld.



LET OP

Verplaats het instrument *niet*. Het verkeerd verplaatsen van het instrument kan invloed hebben op de optische uitlijning en kan de gegevensintegriteit in gevaar brengen. Als u het instrument moet verplaatsen, moet u contact opnemen met een vertegenwoordiger van Illumina.

Afsluiten en naar Windows

De opdracht Exit to Windows (Afsluiten en naar Windows) geeft toegang tot het besturingssysteem van het instrument en elke map op de computer van het instrument. Het commando sluit de software veilig af en keert terug naar Windows. Alleen een admin-gebruiker kan afsluiten en naar Windows gaan.

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Reboot / Shutdown** (Opnieuw opstarten/Uitschakelen).
- 3 Selecteer **Exit to Windows** (Afsluiten en naar Windows).

Bijlage A Problemen oplossen

Inleiding	41
Probleemoplossingsbestanden	41
Fouten bij automatische controle oplossen	42
De bak voor gebruikte reagentia is vol	44
Workflow-rehybridisatie	44
BeadChip- en scanfouten	46
Aangepaste recepten en receptmappen	48
RAID-foutmelding	48
Systeeminstellingen configureren	48

Inleiding

Neem voor problemen met de runkwaliteit of runprestatie contact op met de technische ondersteuning van Illumina. Zie *Technische ondersteuning* op pagina 69.

Probleemoplossingsbestanden

Een vertegenwoordiger van de technische ondersteuning van Illumina kan vragen om kopieën van runspecifieke of scanspecifieke bestanden om problemen op te lossen. Doorgaans worden de volgende bestanden gebruikt voor het oplossen van problemen.

Probleemoplossingsbestanden voor sequencing-runs

Hoofdbestand	Map	Omschrijving
Runinformatiebestand (RunInfo.xml)	Hoofdmap	Bevat de volgende informatie: <ul style="list-style-type: none">• naam run;• aantal cycli in de run;• aantal cycli in elke bepaling;• of de bepaling een indexbepaling is;• aantal stroken en tegels op de stroomcel.
Runparametersbestand (RunParameters.xml)	Hoofdmap	Bevat informatie over runparameters en runonderdelen. De informatie omvat de RFID, het serienummer, het onderdeelnummer en de vervaldatum.
RTA-configuratiebestand (RTAConfiguration.xml)	Hoofdmap	Bevat de RTA configuratie-instellingen voor de run. Het RTAConfiguration.xml-bestand wordt aangemaakt aan het begin van de run.
InterOp-bestanden (*.bin)	InterOp	Binaire rapportbestanden. InterOp-bestanden worden gedurende de run bijgewerkt.
Logboekbestanden	Logboeken	Logboekbestanden beschrijven elke stap die voor elke cyclus door het instrument wordt uitgevoerd en geven de software- en firmwareversies weer die bij de run worden gebruikt. Het bestand met de naam [InstrumentName]_CurrentHardware.csv bevat de serienummers van de onderdelen van het instrument.
Foutlogboekbestanden (*ErrorLog*.txt)	RTA-logboekbestanden	Logboek van RTA-fouten. Foutlogboekbestanden worden bijgewerkt als er een fout optreedt.
Algemene logboekbestanden (*GlobalLog*.tsv)	RTA-logboekbestanden	Logboek van alle RTA-gebeurtenissen. Algemene logboekbestanden worden gedurende de run bijgewerkt.
Baanlogboekbestanden (*LaneLog*.txt)	RTA-logboekbestanden	Logboek van RTA-verwerkingsgebeurtenissen. Baanlogboekbestanden worden gedurende de run bijgewerkt.

RTA-fouten

Controleer eerst het RTA-foutenlogboek, dat is opgeslagen in de map RTALogs, om problemen met RTA-fouten op te lossen. Dit bestand is niet aanwezig bij geslaagde runs. Voeg het foutenlogboek bij als u problemen meldt aan de technische ondersteuning van Illumina.

Probleemoplossingsbestanden voor array-scans

Hoofdbestand	Map	Omschrijving
Scanparametersbestand (ScanParameters.xml)	Hoofdmap	Bevat informatie over scanparameters. Informatie omvat scandatum, BeadChip-barcode, locatie van clusterbestand en locatie van manifestbestand.
Logboekbestanden	Logboeken	Logboekbestanden beschrijven elke stap die tijdens de scan op het instrument is uitgevoerd.
Meetwaardenbestanden	[Barcode]	Meetwaarden worden aangeboden als monstermeetwaarden en als sectiemeetwaarden. [barcode]_sample_metrics.csv – geeft voor elk monster en kanaal (rood en groen) de gegevens Percentage van beeld, Percentage uitschieters, P05, P50, P95, Gem FWHM Gem, FWHM Stdafw en Min Registratie Score. [barcode]_section_metrics.csv – geeft voor elke sectie en tegel de gegevens: Laser Z-positie, Through Focus Z-positie, Rood FWHM, Groen FWHM, Rood gem pixelintensiteit, Groen gem pixelintensiteit, Rode-registratiescore en Groene-registratiescore.
Opnieuw-gescand bestand	[Barcode]	[barcode]_rescan.flowcell – geeft de voor een herscan aangepaste tegellocaties, die een hogere tegeloverlapping omvatten.

Fouten bij automatische controle oplossen

Als er fouten optreden tijdens de automatische controle, gebruik dan de volgende aanbevolen acties om de fout op te lossen.

Controles voor sequencing-runs

Als een pre-runcontrole mislukt, is de RFID van de reagenscartridge niet vergrendeld en kan deze voor een volgende run worden gebruikt. De RFID's van de stroomcel, reagenscartridge en buffercartridge worden echter vergrendeld tijdens een initialisatie van de besturingssoftware, wat vereist kan zijn om een fout op te lossen. De gebruiker moet de stroomcel, reagenscartridge en buffercartridge verwijderen uit het instrument voordat het systeem wordt herstart. Daarnaast worden de RFID's van verbruiksartikelen vergrendeld nadat de folieafsluitingen zijn doorgeprikt. Zodra een stroomcel-RFID door de software is gelezen, wordt een timer van 7 uur gestart voordat de stroomcel als vergrendeld en onbruikbaar wordt beschouwd.

Systeemcontroles	Aanbevolen actie
Kleppen gesloten	Zorg ervoor dat de kleppen van het compartiment dicht zijn.
Verbruiksartikelen geladen	Sensoren voor verbruiksartikelen registreren de verbruiksartikelen niet. Zorg ervoor dat elk verbruiksartikel correct geplaatst is. Selecteer in het scherm run setup (Runinstellingen) Back (Terug) om terug te keren naar de laadstap en stel de runinstellingen opnieuw in.
Vereiste software	Essentiële componenten van de software ontbreken. Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.

Systemcontroles	Aanbevolen actie
Schijfruimte instrument	De harde schijf van het instrument beschikt niet over voldoende schijfruimte om een run uit te voeren. De gegevens van een vorige run zijn mogelijk niet doorgestuurd. Wis de rungegevens van de harde schijf van het instrument.
Netwerkverbinding	De netwerkverbinding is onderbroken. Controleer de netwerkstatus en de fysieke netwerkverbinding.
Ruimte netwerkschijf	De netwerkserver is vol.

Temperatuur	Aanbevolen actie
Temperatuur	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Temperatuursensoren	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Ventilatoren	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.

Beeldvormingssysteem	Aanbevolen actie
Beperkingen in de beeldvorming	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Z Steps-and-Settle	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Bitfoutpercentage	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Stroomcelregistratie	De stroomcel zit mogelijk niet goed op zijn plaats. <ul style="list-style-type: none"> • Selecteer in het scherm run setup (Runinstellingen) Back (Terug) om terug te keren naar de stroomcelstap. De klep van het beeldvormingscompartiment gaat open. • Verwijder de stroomcel en plaats hem opnieuw om te controleren of hij goed op zijn plaats zit.

Reagensafgifte	Aanbevolen actie
Ventielreactie	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Pomp	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Buffermechanisme	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Gebruikte reagentia leeg	Maak de bak voor gebruikte reagentia leeg en plaats de lege bak terug.

Controles voor array-scans

Systemcontroles	Aanbevolen actie
Kleppen gesloten	Zorg ervoor dat de kleppen van het compartiment dicht zijn.
Verbruiksartikelen geladen	Sensoren voor verbruiksartikelen registreren de verbruiksartikelen niet. Zorg ervoor dat elk verbruiksartikel correct geplaatst is. Selecteer in het scherm run setup (Runinstellingen) Back (Terug) om terug te keren naar de laadstap en stel de runinstellingen opnieuw in.
Vereiste software	Essentiële componenten van de software ontbreken. Voer een handmatige software-update uit om alle softwarecomponenten te herstellen.
Invoerbestanden verifiëren	Zorg dat het pad naar het cluster- en het manifestbestand juist is en de bestanden aanwezig zijn.
Schijfruimte instrument	De harde schijf van het instrument beschikt niet over voldoende schijfruimte om een run uit te voeren. De gegevens van een vorige run zijn mogelijk niet doorgestuurd. Wis de rungegevens van de harde schijf van het instrument.

Systemcontroles	Aanbevolen actie
Netwerkverbinding	De netwerkverbinding is onderbroken. Controleer de netwerkstatus en de fysieke netwerkverbinding.
Ruimte netwerkschijf	De BaseSpace-account of de netwerkserver is vol.

Beeldvormingssysteem	Aanbevolen actie
Beperkingen in de beeldvorming	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Z Steps-and-Settle	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Bitfoutpercentage	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Automatisch centreren	De BeadChip-adapter uitladen Zorg dat de BeadChip goed in de adapter zit en laad de adapter vervolgens opnieuw.

De bak voor gebruikte reagentia is vol

Begin een run altijd met een lege bak voor gebruikte reagentia.

Als u een run start zonder de bak met gebruikte reagentia te legen, wordt de run onderbroken door systeemssensoren die de software triggeren wanneer de bak vol is. Systeemssensoren kunnen een run niet onderbreken tijdens clusteren, een nieuwe paired-end synthese of de automatische wassing na de run.

Wanneer de run wordt onderbroken, wordt een dialoogvenster geopend met opties om de zuigmondjes omhoog te brengen en de volle bak te legen.

De bak voor gebruikte reagentia legen

- 1 Selecteer **Raise Sippers** (Zuigmondjes omhoog bewegen).
- 2 Verwijder de bak voor gebruikte reagentia en gooi de inhoud weg volgens de voorschriften.
- 3 Plaats de lege bak terug in het buffercompartiment.
- 4 Selecteer **Continue** (Doorgaan). De run wordt automatisch hervat.

Workflow-rehybridisatie

Er kan een rehybridisatierun nodig zijn als meetgegevens die voor de eerste paar cycli worden gegenereerd intensiteiten onder de 2500 tonen. Bepaalde bibliotheken met lage diversiteit kunnen intensiteiten onder de 1000 tonen, dit ligt in de lijn der verwachting en kan niet worden verholpen met rehybridisatie.

OPMERKING De opdracht End Run (Run beëindigen) is definitief. De run kan niet worden voortgezet, verbruiksartikelen voor de run kunnen niet worden hergebruikt en sequentiëringsgegevens van de run worden niet opgeslagen.

Als u een run beëindigt, voert de software de volgende stappen uit alvorens de run eindigt:

- ▶ Plaatst de stroomcel in een veilige staat.
- ▶ Ontgrendelt de stroomcel-RFID voor een latere run.
- ▶ Wijst een rehybridisatieverloopdatum toe aan de stroomcel.
- ▶ Schrijft de logbestanden voor de voltooide cycli van de run. Enig oponthoud is normaal.

- ▶ Omzeilt de automatische wassing na de run.

Als u een rehybridisatierun start, voert de software de volgende stappen uit om de run te doen:

- ▶ Creëert een runmap op basis van een unieke runnaam.
- ▶ Controleert dat de rehybridisatiedatum van de stroomcel niet is verlopen.
- ▶ Zet de reagentia klaar. Enig oponthoud is normaal.
- ▶ Slaat de stap voor clusteren over.
- ▶ Verwijdert de vorige Bepaling 1-primer.
- ▶ Hybridiseert een verse Bepaling 1-primer.
- ▶ Doorloopt Bepaling 1 en het restant van de run verder, op basis van de gespecificeerde parameters.

Punten om een run op te beëindigen voor rehybridisatie

Latere rehybridisatie is alleen mogelijk als u de run op de volgende punten beëindigt:

- ▶ **Na cyclus 5** – intensiteiten verschijnen na sjabloonregistratie, waarvoor de eerste 5 cycli van sequentiëring vereist zijn. Hoewel een run veilig kan worden beëindigd na cyclus 1, wordt beëindiging na cyclus 5 aangeraden. Beëindig een run niet tijdens clustergeneratie.
- ▶ **Read 1 or Index 1 Read** (Bepaling 1 of index 1 bepaling) – beëindig de run **voordat** gekoppeld einde resynthese begint. Nadat gekoppeld eind resynthese begint kan de stroomcel niet worden bewaard voor latere rehybridisatie.

Vereiste verbruiksartikelen

Een rehybridisatierun vereist een nieuwe NextSeq 550Dx-reagenscartridge en -buffercartridge, ongeacht op welk punt de run werd gestopt.

De huidige run beëindigen

- 1 Selecteer **End Run** (Run beëindigen). Klik op **Yes** (Ja) als u wordt gevraagd de opdracht te bevestigen.
- 2 Klik op **Yes** (Ja) als u wordt gevraagd de stroomcel te bewaren. Let op de verloopdatum voor rehybridisatie.
- 3 Verwijder de bewaarde stroomcel en zet deze weg in een omgeving van 2 °C tot 8 °C tot u klaar bent om de rehybridisatierun in te stellen.

OPMERKING U kunt de stroomcel **zonder** het pakketje droogmiddel tot 7 dagen lang bewaren bij 2 °C tot 8 °C in de plastic mosselschelpverpakking. Rehybrideer de stroomcel binnen 3 dagen voor het beste resultaat.

Een handmatige wassing uitvoeren

- 1 Selecteer **Perform Wash** (Wassing uitvoeren) vanuit het startscherm.
- 2 Selecteer **Manual Post-Run Wash** (Handmatige wassing na run) in het Wasselectiescherm. Zie *Een handmatige wassing uitvoeren op pagina 33*.

OPMERKING Als u de reagenscartridge en buffercartridge niet hebt verwijderd uit de gestopte run, kunt u ze gebruiken voor de handmatige wassing. Voer anders de handmatige wassing uit met de reagenswascartridge en bufferwascartridge.

Een nieuwe run prepareren op het tabblad BaseSpace Prep (Vorbereiding BaseSpace)

- 1 Als het instrument is geconfigureerd voor BaseSpace of BaseSpace Onsite, prepareert u een nieuwe run op het tabblad Prep (Vorbereiding) met dezelfde parameters als de oorspronkelijke run.

TIP Klik op het tabblad Pools, selecteer de juiste pool-ID om de instellingen van de vorige run te behouden en wijs vervolgens een unieke naam toe aan de nieuwe run.

Een run instellen op het instrument

- 1 Prepareer een nieuwe reagenscartridge.
- 2 Als de bewaarde stroomcel in opslag was, laat deze dan eerst op kamertemperatuur komen (15-30 minuten).
- 3 Reinig en laad de bewaarde stroomcel.
- 4 Verwijder de bak voor gebruikte reagentia, gooi de inhoud weg volgens de voorschriften en herlaad dan de lege bak.
- 5 Laad de nieuwe buffercartridge en reagenscartridge.
- 6 Selecteer een van de volgende opties in het scherm Run Setup (Runinstallatie):
 - ▶ **BaseSpace of BaseSpace Onsite** – selecteer de run en bevestig de runparameters.
 - ▶ **Standalone** – voer de naam van de run in en geef dezelfde parameters op als voor de oorspronkelijke run.
- 7 Selecteer **Next** (Volgende) om door te gaan naar de pre-runcontrole en om de run te starten.

BeadChip- en scanfouten

Software kan de BeadChip-barcode niet lezen

Selecteer een van de volgende opties, als het dialoogvenster 'barcodefout' verschijnt:

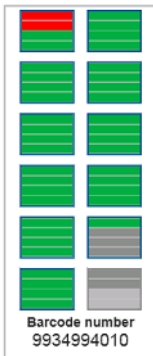
- ▶ Selecteer **Rescan** (Opnieuw scannen). De software probeert de barcode opnieuw te lezen.
- ▶ Selecteer tekstveld en voer de numerieke barcode in die op de afbeelding wordt getoond. Afhankelijk van de BeadChip hebben barcodenummers maximaal 12 cijfers. Selecteer **Save** (Opslaan). De barcode-afbeelding wordt opgeslagen in de uitvoermap.
- ▶ Selecteer **Cancel** (Annuleren). De klep van het beeldvormingscompartiment opent om de BeadChip-adapter uit te laden.

BeadChip-scanfout

Afbeeldingen worden geregistreerd nadat ze zijn gescand. Registratie identificeert beads door correlatie van locaties op de gescande beelden met informatie verstrekt in de bead-map of DMAP-map.

Secties waarbij registratiefouten optreden worden aangegeven in rood op het BeadChip-beeld.

Afbeelding 28 BeadChip toont mislukte secties



Nadat de scan is voltooid en de scangegevens zijn weggeschreven naar de uitvoermap, wordt de Rescan-knop (Opnieuw scannen) geactiveerd.

Als Rescan (Opnieuw scannen) wordt geselecteerd, voert de software de volgende stappen uit:

- ▶ Monsters met mislukte secties worden opnieuw gescand met een hogere tegel-op-tegel overlapping.
- ▶ Genereert uitvoerbestanden in de originele uitvoermap.
- ▶ Overschrijft eerdere uitvoerbestanden voor mislukte secties.
- ▶ Verhoogt de scanteller met 1 voor elke nieuwe scan, maar doet dit op de achtergrond. De software wijzigt de naam van de uitvoermap niet.

Herscannen of nieuwe scan starten

- 1 Selecteer **Rescan** (Herscannen) om monsters te scannen die mislukte secties bevatten.
- 2 Als de scan blijft mislukken, beëindig dan de scan.
- 3 Verwijder de BeadChip en adapter en inspecteer de BeadChip op stof en vuil. Gebruik een luchtspuitbus of andere luchtcompressiemethode voor afstoffen om het vuil te verwijderen.
- 4 Laad de BeadChip opnieuw en start een nieuwe scan.

Als een nieuwe scan wordt gestart, voert de software de volgende stappen uit:

- ▶ Scant de volledige BeadChip.
- ▶ Genereert uitvoerbestanden in een nieuwe uitvoermap.
- ▶ Verhoogt de scanteller met 1 afhankelijk van de scantelling bij de laatste herscan.

Manifestbestanden en clusterbestanden vervangen

- 1 Ga naar de ondersteuningspagina van Illumina (support.illumina.com) voor de BeadChip die u gebruikt en klik op het tabblad **Downloads**.
- 2 Download de te vervangen of te updaten bestanden en kopieer de bestanden naar uw voorkeursnetwerklocatie.

OPMERKING Zorg ervoor dat u manifest- en clusterbestanden selecteert die compatibel zijn met het NextSeq 550Dx-systeem. Compatibele bestanden hebben **NS550** in de bestandsnaam.

- 3 Update de locatie, alleen als deze is gewijzigd, in het scherm BeadChip-scanconfiguratie als volgt:
 - a Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren) vanuit het scherm NCS Home (Start NCS).
 - b Selecteer **System Configuration** (Systeemconfiguratie).
 - c Selecteer **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-scanconfiguratie).
- 4 Selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar de locatie van de vervangen of geüpdatete bestanden.

Aangepaste recepten en receptmappen

Pas de originele recepten niet aan. Maak altijd een kopie van het originele recept met een nieuwe naam. Als een origineel recept is aangepast, kan de software-updater het recept voor toekomstige updates niet meer herkennen en worden nieuwe versies niet geïnstalleerd.

Sla aangepaste recepten op in de gepaste receptmappen. Receptmappen zijn als volgt georganiseerd.

- 📁 **Custom** (Aangepast)
 - 📁 **High** (Hoog) – aangepaste recepten die met een kit van hoge capaciteit worden gebruikt.
 - 📁 **Mid** (Gemiddeld) – aangepaste recepten die met een kit van mid-capaciteit worden gebruikt.
- 📁 **High** (Hoog) – originele recepten die met een kit van hoge capaciteit worden gebruikt.
- 📁 **Mid** (Gemiddeld) – originele recepten die met een kit van mid-capaciteit worden gebruikt.
- 📁 **Wash** (Was) – bevat het recept voor handmatig wassen.

RAID-foutmelding

De NextSeq 550Dx-computer is uitgerust met vier harde schijven, twee voor de diagnostische modus en twee voor de onderzoeksmodus. Als een harde schijf storing krijgt, genereert het systeem een RAID-foutmelding en wordt u verzocht contact op te nemen met de technische ondersteuning van Illumina. Meestal moet de harde schijf worden vervangen.

U kunt doorgaan met de stappen voor het instellen van de run en een normale werking. Het doel van het bericht is de service vooraf te plannen om onderbrekingen in de normale werking van het instrument te voorkomen. De RAID-waarschuwing kan alleen door een beheerder worden bevestigd. Als u uw instrument slechts met één harde schijf gebruikt, kan dat leiden tot gegevensverlies.

Systeeminstellingen configureren

Het systeem wordt tijdens de installatie geconfigureerd. Als er echter een wijziging nodig is, of als het systeem opnieuw geconfigureerd moet worden, moet u de systeemconfiguratie-opties gebruiken. Alleen een Windows-beheerdersaccount heeft toegang tot de systeemconfiguratie-opties.

- ▶ **Network Configuration** (Netwerkconfiguratie) – biedt opties voor IP-adresinstellingen, DNS-adres (domeinnaamsserver), computernaam en domeinnaam.

Netwerkconfiguratie instellen

- 1 Selecteer **System Configuration** (Systeemconfiguratie) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Obtain an IP address automatically** (Automatisch een IP-adres verkrijgen) om het IP-adres via de DHCP-server te verkrijgen.

OPMERKING Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) is een standaardnetwerkprotocol voor gebruik met IP-netwerken voor dynamische toewijzing van netwerkconfiguratieparameters.

U kunt ook **Use the following IP address** (Gebruik het volgende IP-adres) selecteren om het instrument als volgt handmatig te verbinden met een andere server. Neem contact op met uw netwerkbeheerder voor de adressen die specifiek van uw instelling zijn.

- ▶ Voer het IP-adres in. Het IP-adres is een reeks van 4 getallen gescheiden door een punt, zoals bijvoorbeeld 168.62.20.37.
- ▶ Voer het subnetmasker in, een onderverdeling van het IP-netwerk.
- ▶ Voer de standaardgateway in, de router op het netwerk die verbinding maakt met het internet.

- 3 Selecteer **Obtain a DNS server address automatically** (Automatisch een DNS-serveradres verkrijgen) om het instrument te verbinden met de domeinnaamserver die bij het IP-adres hoort.

U kunt ook **Use the following DNS server addresses** (Gebruik de volgende DNS-serveradressen) selecteren om het instrument als volgt handmatig te verbinden met de domeinnaamserver.

- ▶ Voer het DNS-adres in dat u wenst. Het DNS-adres is de servernaam die wordt gebruikt voor het vertalen van domeinnamen in IP-adressen.
- ▶ Voer het alternatieve DNS-adres in. Het alternatieve DNS-adres wordt gebruikt als de gewenste DNS een bepaalde domeinnaam niet kan vertalen in een IP-adres.

- 4 Selecteer **Save** (Opslaan) om naar het computerscherm te gaan.

OPMERKING De naam van de instrumentcomputer wordt bij de fabricage aan de instrumentcomputer toegewezen. Wijzigingen in de computernaam kunnen de connectiviteit beïnvloeden en er is een netwerkbeheerder voor nodig.

- 5 Verbind de computer van het instrument als volgt met een domein of een werkgroep.

- ▶ **Voor instrumenten die zijn verbonden met het internet** – selecteer **Member of Domain** (Lid van domein) en voer vervolgens de domeinnaam in die hoort bij de internetverbinding van uw instelling. Voor domeinwijzigingen is de gebruikersnaam en het wachtwoord van een beheerder nodig.
- ▶ **Voor instrumenten die niet zijn verbonden met het internet** – selecteer **Member of Work Group** (Lid van werkgroep) en voer vervolgens een werkgroepnaam in. De werkgroepnaam is uniek voor uw instelling.

- 6 Selecteer **Save** (Opslaan).

Analyseconfiguratie instellen

- 1 Selecteer **System Configuration** (Systeemconfiguratie) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).

- 2 Selecteer **Analysis Configuration** (Analyseconfiguratie).

- 3 Selecteer een van de volgende opties om een locatie te specificeren waar de gegevens naar worden overgedragen voor de daaropvolgende analyse.

- ▶ Selecteer **BaseSpace** om de sequentiegegevens naar Illumina BaseSpace te versturen. **[Optioneel]** Selecteer het selectievakje voor de **Output Folder** (Uitvoermap), selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar een secundaire netwerklocatie om naast BaseSpace ook BCL-bestanden op te slaan.

- ▶ Selecteer **BaseSpace Onsite**. Voer in het veld Server Name (Servernaam) het volledige pad naar uw BaseSpace Onsite-server in. **[Optioneel]** Selecteer het selectievakje voor de **Output Folder** (Uitvoermap), selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar een secundaire netwerklocatie om naast de BaseSpace Onsite-server ook BCL-bestanden op te slaan.
 - ▶ Selecteer **Standalone instrument** (Standalone-instrument) om gegevens alleen naar een netwerklocatie op te slaan. Selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar een netwerklocatie van uw voorkeur. De besturingssoftware genereert automatisch de naam voor het uitvoerbestand.
 - ▶ **[Optioneel]** Selecteer **Use Run Monitoring** (Runbewaking gebruiken) om de run te bewaken met behulp van visualisatiehulpmiddelen op BaseSpace. Inloggegevens voor BaseSpace en een internetverbinding zijn vereist.
- 4 Als u BaseSpace of BaseSpace Onsite hebt geselecteerd, stelt u de BaseSpace-parameters als volgt in.
- ▶ Voer een BaseSpace **User Name** (Gebruikersnaam) en **Password** (Wachtwoord) in om het instrument te registreren bij BaseSpace.
 - ▶ Selecteer **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Gebruik standaard inloggegevens en omzeil het BaseSpace-inlogschermb) om de geregistreerde gebruikersnaam en het wachtwoord in te stellen als standaard inloggegevens. Deze instelling omzeilt het BaseSpace-schermb tijdens het instellen van de run.
- 5 Selecteer **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Instrumentgezondheidsgegevens naar Illumina verzenden) om de Illumina Proactive-bewakingservice in te schakelen. Afhankelijk van de gebruikte NCS-versie kan de naam van de instelling in de software-interface verschillen van de naam in deze handleiding.
- Wanneer deze instelling is ingeschakeld, worden instrumentprestatiegegevens naar Illumina verzonden. Met behulp van deze gegevens kan Illumina problemen beter oplossen en mogelijke storingen detecteren voor een proactief onderhoud en maximale gebruiksduur van het instrument. Raadpleeg de *Illumina Proactive technische handleiding (documentnr. 1000000052503)* voor meer informatie over de voordelen van deze service.
- Deze service:
- ▶ verzendt geen sequencinggegevens;
 - ▶ vereist dat het instrument is verbonden met een netwerk met internettoegang;
 - ▶ is standaard uitgeschakeld. Schakel de instelling **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Instrumentprestatiegegevens naar Illumina verzenden) in om deze service in te schakelen.
- 6 Selecteer **Save** (Opslaan).

BeadChip-scanconfiguratie

- 1 Selecteer **System Configuration** (Systeemconfiguratie) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-scanconfiguratie).
- 3 Als u een standaard DMAP-maplocatie wilt specificeren, selecteert u **Browse** (Bladeren) en navigeert u naar de gewenste maplocatie op het netwerk van uw faciliteit.

OPMERKING Download en kopieer, voorafgaand aan elke scan, de DMAP-inhoud naar deze locatie. DMAP-inhoud is vereist voor elke BeadChip en is uniek voor elke BeadChip-barcode.

- 4 Als u een standaard uitvoerlocatie wilt specificeren, selecteert u **Browse** (Bladeren) en navigeert u naar de gewenste locatie op het netwerk van uw faciliteit.

- 5 Selecteer een beeldbestandstype voor opgeslagen beelden. Het standaard bestandstype voor beelden is **JPG**.
- 6 Selecteer een uitvoerbestandstype voor scangegevens. Het standaard bestandstype voor uitvoer is **GTC only** (alleen GTC).
- 7 Selecteer **Save** (Opslaan).
- 8 Specificeer vanuit het Scan Map-scherf het volledige pad naar het manifestbestand en clusterbestand voor elk BeadChip-type. Selecteer **Browse** (Bladeren) voor elk bestandstype en navigeer naar de maplocatie die deze bestanden bevat.
- 9 **[Optioneel]** Selecteer **Hide Obsolete BeadChips** (Verouderde BeadChips verbergen) om verouderde BeadChips te verwijderen uit de weergegeven lijst.
- 10 Selecteer **Save** (Opslaan).

Bijlage B Realtime analyse

Overzicht Real-Time Analysis	53
Workflow Real-Time Analysis	54

Overzicht Real-Time Analysis

Het NextSeq 550Dx-instrument gebruikt een Real-Time Analysis (RTA)-software-implementatie genaamd RTA2. RTA2 wordt uitgevoerd op de instrumentcomputer en extraheert intensiteiten van beelden, voert een basebepaling uit en wijst een kwaliteitsscore toe aan de basebepaling. RTA2 en de besturingssoftware communiceren via een webgebaseerde HTTP-interface en gedeelde geheugenbestanden. Wanneer RTA2 wordt beëindigd, wordt de verwerking niet hervat en worden de rungegevens niet opgeslagen.

RTA2-invoer

RTA2 heeft de volgende invoer nodig voor verwerking:

- ▶ Tegelbeelden in een lokaal systeemgeheugen.
- ▶ **RunInfo.xml** dat automatisch aan het begin van de run wordt gegenereerd, bepaalt de runnaam, het aantal cycli, of er een bepaling is geïndexeerd en het aantal tegels op de stroomcel.
- ▶ **RTA.exe.config**, een softwareconfiguratiebestand in XML-opmaak.

RTA2 ontvangt opdrachten van de besturingssoftware over de locatie van **RunInfo.xml** en of er een mogelijke uitvoermap is opgegeven.

RTA2-uitvoerbestanden

Beelden voor elk kanaal worden in het geheugen **aangegeven** als tegels. Tegels zijn kleine beeldvormingsgebieden op de stroomcel die door de camera worden gedefinieerd als het blikveld. Op basis van deze beelden produceert de software uitvoer als een set op kwaliteit beoordeelde basebepalingsbestanden en filterbestanden. Alle andere bestanden zijn ondersteunende uitvoerbestanden.

Bestandstype	Omschrijving
Basebepalingsbestand	Elke tegel die geanalyseerd wordt, wordt opgenomen in een samengevoegd basebepalingsbestand (*.bcl.bgzf) voor elke baan en voor elke cyclus. Het samengevoegde basebepalingsbestand bevat de basebepaling en de bijbehorende kwaliteitsscore voor elk cluster in die baan.
Filterbestanden	Elke tegel produceert filterinformatie die wordt samengevoegd in 1 filterbestand (*.filter) voor elke baan. Het filterbestand specificeert of een cluster filters passeert.
Clusterlocatiebestanden	Clusterlocatie (*.locs)-bestanden bevatten de X- en Y-coördinaten voor elke cluster in een tegel. Tijdens het genereren van een sjabloon wordt voor elke baan een clusterlocatiebestand gegenereerd.
Indexbestanden basebepaling	Voor elke baan wordt een indexbestand basebepaling (*.bci) geproduceerd waarin de oorspronkelijke tegelinformatie wordt bewaard. Het indexbestand bevat een paar waarden voor elke tegel, namelijk het tegelnummer en het aantal clusters voor die tegel.

RTA2 biedt realtime meetwaarden van runkwaliteit, opgeslagen als InterOp-bestanden. InterOp-bestanden zijn een binaire uitvoer die meetwaarden van tegels, cycli en leesniveaus bevatten.

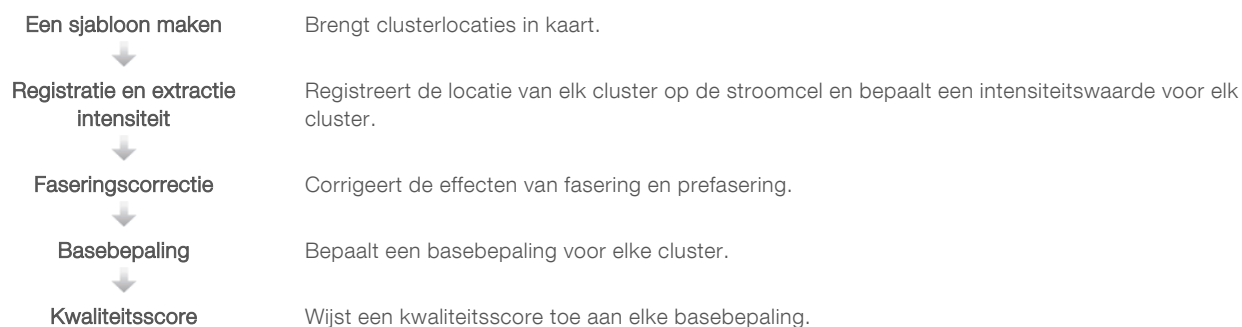
Foutafhandeling

RTA2 maakt logboekbestanden en schrijft deze naar de RTALogs-map. Fouten worden geregistreerd in een foutenbestand in *.tsv-bestandsindeling.

De volgende log- en foutenbestanden worden na afloop van de bewerking naar de definitieve uitvoerbestemming verzonden:

- ▶ *GlobalLog*.tsv bevat een samenvatting van de belangrijke rungebeurtenissen.
- ▶ *LaneNLog*.tsv bevat een lijst van verwerkingsgebeurtenissen voor elke baan.
- ▶ *Error*.tsv bevat de fouten die tijdens een run zijn opgetreden.
- ▶ *WarningLog*.tsv bevat de waarschuwingen die tijdens een run zijn opgetreden.

Workflow Real-Time Analysis



Een sjabloon maken

De eerste stap in de RTA-workflow is het maken van een sjabloon, waarin de positie van elk cluster in een tegel wordt gedefinieerd met behulp van X- en Y-coördinaten.

Het maken van een sjabloon vereist beeldgegevens van de eerste 5 cycli van de run. Nadat de laatste sjablooncyclus voor een tegel is afgebeeld, wordt het sjabloon gegenereerd.

OPMERKING Om een cluster te kunnen detecteren tijdens het maken van een sjabloon, moet er ten minste 1 base anders dan G in de eerste 5 cycli zitten. Voor eventuele indexsequenties heeft RTA2 ten minste 1 base anders dan G nodig in de eerste 2 cycli.

Het sjabloon wordt gebruikt als een referentie voor de volgende stap van de registratie en extractie van intensiteit. Clusterposities voor de volledige stroomcel worden naar clusterlocatiebestanden (*.locs) geschreven, 1 bestand voor elke baan.

Registratie en extractie intensiteit

Registratie en extractie intensiteit start na het maken van een sjabloon.

- ▶ Door registratie worden de beelden die tijdens elke volgende beeldvormingscyclus worden geproduceerd, uitgelijnd met het sjabloon.
- ▶ Extractie intensiteit bepaalt een intensiteitswaarde voor elk cluster in het sjabloon voor een bepaald beeld.

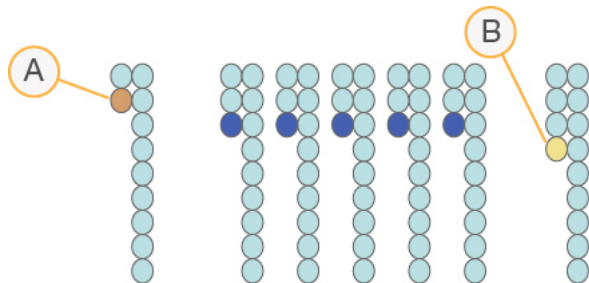
Als de registratie van een van de beelden in een cyclus mislukt, worden er geen basebepalingen gegenereerd voor die tegel in die cyclus.

Faseringscorrectie

Tijdens de sequencingreactie wordt elke DNA-streng in een cluster uitgebreid met 1 base per cyclus. Er is sprake van fasering en prefasering wanneer een streng tijdens de huidige opnamecyclus in de interfase komt.

- ▶ Er is sprake van fasering wanneer een base achterblijft.
- ▶ Er is sprake van prefasering wanneer een base vooruitloopt.

Afbeelding 29 Fasering en prefasering



- A Bepaling met een base die faseert
- B Bepaling met een base die prefaseert.

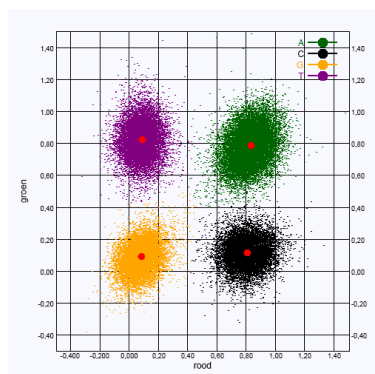
RTA2 corrigeert de effecten van fasering en prefasering, waardoor de gegevenskwaliteit tijdens elke cyclus van de run wordt gemaximaliseerd.

Basebepaling

Basebepaling bepaalt een base (A, C, G of T) voor elk cluster van een bepaalde tegel in een specifieke cyclus. Het NextSeq 550Dx-instrument maakt gebruik van sequencing met 2 kanalen, waardoor slechts 2 beelden nodig zijn om de gegevens voor 4 DNA-basen te coderen, 1 van het rode kanaal en 1 van het groene kanaal.

Intensiteiten die worden verkregen van een beeld en vergeleken met een ander beeld resulteren in 4 afzonderlijke populaties, elk overeenkomend met een nucleotide. Het basebepalingsproces bepaalt tot welke populatie een cluster behoort.

Afbeelding 30 Visualisering van clusterintensiteiten



Tabel 1 Basebepalingen in tweekanaalsequencing

Base	Rood kanaal	Groen kanaal	Resultaat
A	1 (aan)	1 (aan)	Clusters die intensiteit in zowel het rode als het groene kanaal vertonen.
C	1 (aan)	0 (uit)	Clusters die alleen intensiteit in het rode kanaal vertonen.
G	0 (uit)	0 (uit)	Clusters die geen intensiteit vertonen op een bekende clusterlocatie.
T	0 (uit)	1 (aan)	Clusters die alleen intensiteit in het groene kanaal vertonen.

Doorlaatfilter voor clusters

Tijdens de run filtert RTA2 onbewerkte gegevens om bepalingen die niet voldoen aan de gegevenskwaliteitsdrempel te verwijderen. Overlappende clusters en clusters van slechte kwaliteit worden verwijderd.

Bij 2-kanaalsanalyse maakt RTA2 gebruik van een systeem op basis van populaties om de zuiverheid van een basebepaling vast te stellen. De clusters passeren het filter (PF) als er niet meer dan 1 basebepaling in de eerste 25 cycli een zuiverheid van <0,63 heeft. Clusters die het filter niet passeren, zijn niet basebepaald.

Indexeringsoverwegingen

De procedure voor basebepaling-indexbepalingen is anders dan voor basebepaling tijdens andere bepalingen.

Indexbepalingen moeten beginnen met ten minste 1 base anders dan G in een van de eerste 2 cycli. Als een indexbepaling begint met 2 basebepalingen van G, wordt er geen signaalintensiteit gegenereerd. Er moet een signaal aanwezig zijn in één van de eerste 2 cycli om demultiplexprestatie te garanderen.

Om de kracht van demultiplexing te vergroten, moet u indexsequenties selecteren die signaal bieden in ten minste 1 kanaal, bij voorkeur beide kanalen, voor elke cyclus. Door deze richtlijn te volgen worden indexcombinaties vermeden die resulteren in uitsluitend G-basen in een cyclus.

- ▶ Rood kanaal: A of C
- ▶ Groen kanaal: A of T

Dit basebepalingsproces garandeert nauwkeurigheid bij het analyseren van low-plexmonsters.

Kwaliteitsscore

Een kwaliteitsscore, of Q-score, is een voorspelling van de kans op een onjuiste basebepaling. Een hogere Q-score duidt erop dat een basebepaling van een hogere kwaliteit is en daardoor waarschijnlijk juist is.

De Q-score is een compacte manier om een kleine kans op fouten te communiceren. Kwaliteitsscores worden vermeld als Q(X), waarbij X de score is. De volgende tabel toont de relatie tussen de kwaliteitsscore en de foutenkans.

Q-score Q(X)	Foutenkans
Q40	0,0001 (1 op 10.000)
Q30	0,001 (1 op 1.000)
Q20	0,01 (1 op 100)
Q10	0,1 (1 op 10)

OPMERKING De kwaliteitsscore is gebaseerd op een aangepaste versie van het Phred-algoritme.

Voor de kwaliteitsscore wordt voor elke basebepaling een set voorspellers berekend en worden vervolgens de voorspellende waarden gebruikt om de Q-score in een kwaliteitstabel op te zoeken. De kwaliteitstabellen zijn opgesteld om optimaal nauwkeurige kwaliteitsvoorspellingen te doen voor runs die zijn gegenereerd door middel van een specifieke configuratie van sequentiëringplatform en chemieversie. Na bepaling van de Q-score worden de resultaten in basebepalingsbestanden (*.bcl.bgzf) geregistreerd.

Bijlage C Uitvoerbestanden en -mappen

Sequencinguitvoerbestanden	59
Structuur uitvoermap	62
Uitvoerbestanden scannen	63
Structuur van de uitvoermap voor scans	63

Sequencinguitvoerbestanden

Bestandstype	Bestandsbeschrijving, locatie en naam
Basebepalingsbestand	Elke geanalyseerde tegel wordt opgenomen in een basebepalingsbestand, samengevoegd in 1 bestand voor elke baan, voor elke cyclus. Het samengevoegde bestand bevat de basebepaling en de gecodeerde kwaliteitsscore voor elke cluster van die baan. Gegevens\intensiteiten\Basebepalingen\L00[X] – De bestanden worden voor elke baan in 1 map opgeslagen. [Cycle].bcl.bgzf, waarbij [Cycle] het cyclusnummer in 4 cijfers weergeeft. Basebepalingsbestanden worden gecomprimeerd met een block gzip-compressie.
Indexbestand basebepaling	Een binair indexbestand vermeldt voor elke baan de oorspronkelijke tegelinformatie in een paar waarden voor elke tegel, namelijk het tegelnummer en het aantal clusters voor de tegel. De indexbestanden van de basebepalingen worden aangemaakt wanneer voor het eerst een basebepalingsbestand voor die baan wordt aangemaakt. Gegevens\intensiteiten\Basebepalingen\L00[X] – De bestanden worden voor elke baan in 1 map opgeslagen. s_[Lane].bci
Clusterlocatiebestanden	Bij elke tegel worden de XY-coördinaten voor elk cluster samengevoegd in 1 clusterlocatiebestand voor elke baan. Clusterlocatiebestanden zijn het resultaat van het maken van een sjabloon. Gegevens\intensiteiten\L00[X] – De bestanden worden voor elke baan in 1 map opgeslagen. s_[lane].locs
Filterbestanden	Het filterbestand specificeert of een cluster filters is gepasseerd. Filterinformatie wordt samengevoegd in 1 filterbestand voor elke baan en bepaling. Filterbestanden worden bij cyclus 26 gegenereerd op basis van gegevens van 25 cycli. Gegevens\intensiteiten\Basebepalingen\L00[X] – De bestanden worden voor elke baan in 1 map opgeslagen. s_[lane].filter
InterOp-bestanden	Binaire rapportbestanden. InterOp-bestanden worden gedurende de run bijgewerkt. InterOp-map
RTA-configuratiebestand	Het RTA-configuratiebestand, dat aan het begin van de run wordt aangemaakt, bevat de instellingen voor de run. [Root-map], RTAConfiguration.xml
Runinformatiebestand	Vermeldt de runnaam, het aantal cycli in elke bepaling, of de bepaling een indexbepaling is, alsmede het aantal stroken en tegels op de stroomcel. Het runinfobestand wordt aangemaakt aan het begin van de run. [Root folder], RunInfo.xml

Stroomceltegels

Tegels zijn kleine beeldvormingsgebieden op de stroomcel die door de camera worden gedefinieerd als het blikveld. Het totale aantal tegels is afhankelijk van het aantal banen, stroken en oppervlakken dat wordt weergegeven op de stroomcel, en hoe de camera's samenwerken om de beelden te verzamelen. Stroomcellen met een hoge uitvoer bestaan uit in totaal 864 tegels.

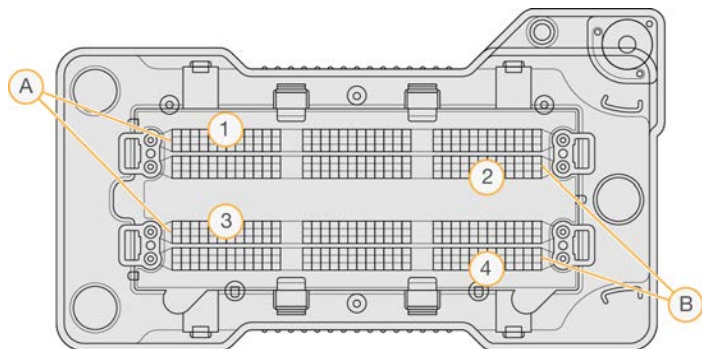
Tabel 2 Stroomceltegels

Stroomcelonderdelen	Hoge uitvoer	Omschrijving
Banen	4	Een baan is een fysiek kanaal met specifieke in- en uitvoerpoorten.
Oppervlakken	2	De stroomcel wordt afgebeeld op 2 oppervlakken, op de boven- en onderkant. De bovenkant van 1 tegel wordt afgebeeld, vervolgens wordt de onderkant van dezelfde tegel afgebeeld alvorens naar de volgende tegel te gaan.
Stroken per baan	3	Een strook is een kolom van tegels in een baan.
Camerasegmenten	3	Het instrument gebruikt 6 camera's om de stroomcel in 3 segmenten voor elke baan af te beelden.
Tegels per strook per camerasegment	12	Een tegel is een gebied op de stroomcel dat door de camera als 1 beeld wordt gezien.
Totaal aantal afgebeelde tegels	864	Het totaal aantal tegels is gelijk aan banen x oppervlakken x stroken x camerasegmenten x tegels per strook per segment.

Nummering banen

Banen 1 en 3, banenpaar A genoemd, worden tegelijkertijd afgebeeld. Banen 2 en 4, banenpaar B genoemd, worden afgebeeld als de beeldvorming van banenpaar A voltooid is.

Afbeelding 31 Nummering banen

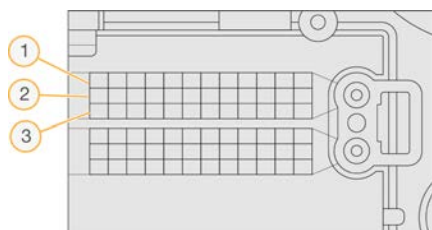


- A Banenpaar A – Banen 1 en 3
- B Banenpaar B – Banen 2 en 4

Nummering stroken

Elke baan wordt weergegeven in 3 stroken. Stroken zijn genummerd van 1 tot 3 voor stroomcellen met hoge uitvoer.

Afbeelding 32 Nummering stroken

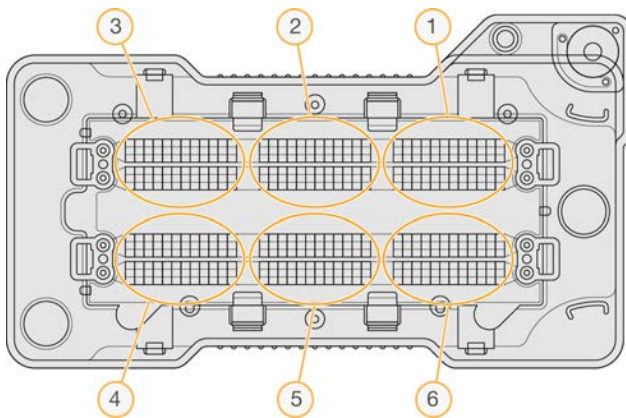


Cameranummering

Het NextSeq 550Dx-instrument gebruikt 6 camera's om de stroomcel af te beelden.

Camera's zijn genummerd van 1 tot 6. De camera's 1 tot 3 maken beelden van baan 1. De camera's 4 tot 6 maken beelden van baan 3. Nadat de banen 1 en 3 zijn afgebeeld, verplaatst de beeldvormingsmodule zich op de X-as om de banen 2 en 4 af te beelden.

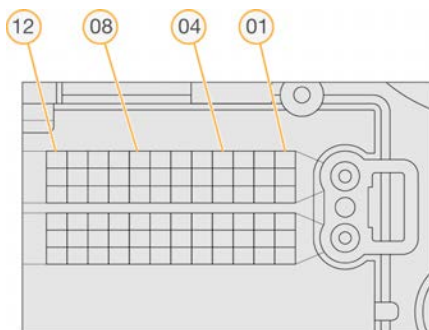
Afbeelding 33 Camera- en segmentnummering (Getoond wordt een stroomcel met hoge uitvoer)



Nummering tegels

Er bevinden zich 12 tegels in elke strook van elk camerasegment. De tegels zijn genummerd van 01 tot 12, ongeacht het strooknummer of camerasegment, en worden weergegeven in 2 cijfers.

Afbeelding 34 Nummering tegels



Het volledige tegelnummer bestaat uit 5 cijfers om de locatie weer te geven, en wel als volgt:

- ▶ **Oppervlak** – 1 vertegenwoordigt de bovenkant; 2 vertegenwoordigt de onderkant
- ▶ **Strook** – 1, 2 of 3
- ▶ **Camera** – 1, 2, 3, 4, 5 of 6
- ▶ **Tegel** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 of 12

Bijvoorbeeld: Tegelnummer 12508 staat voor bovenkant, strook 2, camera 5 en tegel 8.

Het volledige 5-cijferige tegelnummer wordt gebruikt in de bestandsnaam of miniatuurafbeeldingen en empirische faseringsbestanden. Zie [Sequencinguitvoerbestanden](#) op pagina 59 voor meer informatie.

Structuur uitvoermap

De besturingssoftware genereert automatisch de naam voor het uitvoerbestand.

Gegevens

Intensiteiten

BaseCalls

L001 – Basebepalingsbestanden voor baan 1, samengevoegd in 1 bestand per cyclus.

L002 – Basebepalingsbestanden voor baan 2, samengevoegd in 1 bestand per cyclus.

L003 – Basebepalingsbestanden voor baan 3, samengevoegd in 1 bestand per cyclus.

L004 – Basebepalingsbestanden voor baan 4, samengevoegd in 1 bestand per cyclus.

L001 – Een samengevoegd *.locs-bestand voor baan 1.

L002 – Een samengevoegd *.locs-bestand voor baan 2.

L003 – Een samengevoegd *.locs-bestand voor baan 3.

L004 – Een samengevoegd *.locs-bestand voor baan 4.

Images

Focus

L001 – Focusbeelden voor baan 1.

L002 – Focusbeelden voor baan 2.

L003 – Focusbeelden voor baan 3.

L004 – Focusbeelden voor baan 4.

InterOp – Binaire bestanden.

Logs – Logboekbestanden die de operationele stappen beschrijven.

Recipe (Recept) – Runspecifiek receptbestand met de reagenscartridge-ID in de naam.

RTALogs – Logboekbestanden beschrijven analysestappen.

RTAComplete.txt

RTAConfiguration.xml


















RunInfo.xml

RunParameters.xml

Uitvoerbestanden scannen

Bestandstype	Bestandsbeschrijving, locatie en naam
GTC-bestanden	Genotypebepalingsbestand. Er wordt een GTC-bestand gegenereerd voor elk monster dat op de BeadChip wordt gescand. De bestandsnaam bevat de gescande barcode en het gescande monster. [barcode]_[monster].gtc
Beeldbestanden	De naam die aan beeldbestanden wordt gegeven is afhankelijk van het gebied dat op de BeadChip wordt gescand. De naam bevat de barcode, monster en sectie op de BeadChip, strook en het beeldvormingskanaal (rood of groen). [barcode]_[monster]_[sectie]_[strook]_[camera]_[tegel]_[kanaal].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Barcode - De bestandsnaam begint met de BeadChip-barcode. • Monster - Een gebied van de BeadChip, genummerd als een rij (R0X), van boven naar beneden, en kolom (C0X) van links naar rechts. • Sectie - Een genummerde rij in het monster. • Strook - BeadChips worden weergegeven als een verzameling van overlappende tegels. Daarom wordt slechts 1 strook gebruikt voor beeldvorming van de sectie. • Camera - De camera die is gebruikt om het beeld te verzamelen. • Tegel - Een beeldvormingsgebied dat door de camera is gedefinieerd als het blikveld. • Kanaal - Een kanaal is of rood of groen.

Structuur van de uitvoermap voor scans

-  [Datum]_[Instrumentnaam]_[Scan#]_[Barcode]
 -  [Barcode]
 -  Config
 -  Effective.cfg - Registreert de configuratie-instellingen die tijdens de scan worden gebruikt.
 -  Focus - Bevat beeldbestanden die worden gebruikt om de scan te focussen.
 -  Logs - Bevat logbestanden die elke stap vastleggen die tijdens de scan wordt uitgevoerd.
 -  PreScanDiagnoseBestanden
 -  [Datum_Tijd] Barcodescan
 -  ProcessedBarcode.jpg - Afbeelding van de BeadChip-barcode.
 -  Scandiagnostiek (logbestanden)
 -  PreScanChecks.csv - Registreert resultaten van de automatische controle.
 -  GTC-bestanden - Genotypebepalingsbestanden (1 bestand per monster).
 -  IDAT-bestanden - [Optioneel] Intensiteitsgegevensbestanden (2 bestanden per monster; 1 per kanaal).
 -  Beeldbestanden - Scanbeelden voor elk(e) monster, sectie, strook, camera, tegel en kanaal.
 -  [Barcode]_sample_metrics.csv
 -  [Barcode]_section_metrics.csv
 -  ScanParameters.xml

Index

A

- aan-uitknop 4, 9
- aan-uitschakelaar 9
- adapter
 - BeadChip laden 29
 - BeadChip oriëntatie 27
 - overzicht 5
- analyse
 - uitvoerbestanden 59
- analyse, primair
 - signaalkuisheid 56
- audio 10

B

- banenparen 60
- basebepaling 55
 - indexeringsoverwegingen 56
- BaseSpace 49
 - aanmelden 16
- BaseSpace-configuratie 21
- BeadChip
 - adapter 5, 27
 - analyse 1
 - barcode-oriëntatie 27
 - barcode kan niet worden gelezen 46
 - laden 29
 - registratiefout 46
 - types 1
- beeldvorming, tweekanaalssequencing 55
- beeldvormingscompartiment 3
- bepalingscycli 13
- bepalingslengte 13-14
- Bestanddecoderingsclient 25
 - toegang via account 26
 - toegang via BeadChip 27
- bestanden voor basebepaling 59
- besturingssoftware 4
- BlueFuse Multi-software 1
- buffercartridge 8, 19
- buffercompartiment 3

C

- cameranummering 61
- clusterlocatie
 - bestanden 59
 - een sjabloon maken 54

- clusters die de filter passeren 56
- compatibiliteit
 - RFID-tracking 7
 - RFID tracking 5
 - stroomcel, reagenscartridge 5
- componenten
 - beeldvormingscompartiment 3
 - buffercompartiment 3
 - reagenscompartiment 3
 - statusbalk 3
- components
 - beeldvormingscompartiment 3
- Configuratie 49
- configuratie-instellingen 48

D

- DMAP-map
 - Bestanddecoderingsclient 25
 - downloaden 26
- documentatie 1, 69
- door de gebruiker geleverde
 - verbruiksartikelen 11
- doorlaatfilter (PF) 56

E

- een sjabloon maken 54
- empirische fasering 55

F

- fasering, voorfasering 55
- filterbestanden 59
- formamide, positie 6 20
- fouten bij pre-runcontrole 42
- fouten en waarschuwingen 4, 54
- foutenkans 56

G

- geavanceerde laadoptie 11
- gebruikersnaam en wachtwoord 9
- gebruikersnaam en wachtwoord systeem 9
- gebruikte reagentia
 - container vol 44
 - weggoien 17, 35

- gegevensoverdracht
 - scangegevens 31
 - universele kopieerservice 23
- genereren van cluster 13
- GTC-bestanden 63

H

- help
 - documentatie 1
- herstarten 39
- het instrument uitschakelen 39
- hulp, technisch 69

I

- Illumina Proactive-bewakingservice 49
- indexeringsoverwegingen 56
- instrument
 - aan-uitknop 4
 - avatar 10
 - bijnaam 10
 - configuratie-instellingen 48
 - herstarten 39
 - modusindicatoren 10
 - opnieuw opstarten 39
 - opstarten 9
 - uitschakelen 39
- instrument beheren
 - uitschakelen 39-40
- intensiteiten 55
- InterOp-bestanden 41, 59
- invoerbestanden, scan
 - clusterbestanden 25, 47
 - DMAP-map 25
 - DMAP-map, download 26
 - manifestbestanden 25, 47

K

- klantenondersteuning 69
- kuisheidsfilter 56

L

- locatie van map 21
- locs-bestanden 59
- luchtfilter 3, 36

M

- meetgegevens
 - clusterdichtheidscycli 23
- meetwaarden
 - basebepaling 55
 - intensiteitscycli 23

N

- natriumhypochloriet, wassen 33-34
- nummering banen 60
- nummering stroken 60
- nummering tegels 61

O

- onderhoud instrument
 - verbruiksartikelen 12
- onderhoud, preventief 33
- online training 1
- opnieuw opstarten
 - instrument 39
- opnieuw opstarten in onderzoeksmodus 10

P

- Phred-algoritme 56
- pictogrammen
 - fouten en waarschuwingen 4
 - status 4
- pre-runcontrole 22, 29
- preventief onderhoud 33
- primer-rehybridisatie 44
- probleemoplossing
 - kan BeadChip-barcode niet lezen 46
 - lage kwaliteit meetgegevens 44
 - manifest- en clusterbestanden vervangen 47
 - scanregistratiefout 46
 - scanspecifieke bestanden 42
- problemen oplossen
 - container voor gebruikte reagentia 44
 - pre-runcontrole 42
 - runspecifieke bestanden 41

Q

- Q-scores 56

R

- RAID-foutmelding 48
- reagenscartridge
 - overzicht 7
 - reservoir #28 33
 - reservoir nr. 28 34
 - reservoir nr. 6 20
- reagenscompartiment 3
- reagentia
 - goed weggooien 19
 - kit 5
- rehybridisatie, Bepaling 1 44
- RFID-tracering 5
- richtlijnen voor water van
 - laboratoriumkwaliteit 12
- runduur 13-14
- RunInfo.xml 41, 59
- runinstallatie, geavanceerde optie 11
- runmeetgegevens 23
- runparameters
 - BaseSpace-modus 21
 - parameters bewerken 21
 - standalone-modus 21
- RUO-modus 10

S

- sequencing
 - door de gebruiker geleverde
 - verbruiksartikelen 11
 - introduction 13
- sequencingworkflow 54
- software
 - automatische update 38
 - beeldvormingsanalyse, basebepaling 4
 - configuratie-instellingen 48
 - handmatige update 38
 - initialisatie 9
 - op het instrument 4
 - runduur 13-14
- software voor realtime analyse 4
 - fasering 55
 - workflow 54
- Software voor realtime analyse
 - resultaten 59
- standalone-configuratie 21
- statusbalk 3
- statusmeldingen 4

- stroomcel
 - banenparen 6
 - beeldvorming 61
 - nummering banen 60
 - nummering stroken 60
 - nummering tegels 61
 - overzicht 6
 - rehybridisatie 44
 - reinigen 15
 - tegels 59
 - uitlijnpennetjes 16
 - verpakking 15
- systeeminstellingen 10

T

- technische ondersteuning 69
- toetsenbord 10

U

- uitvoerbestanden 59
- uitvoerbestanden scan
 - GTC, IDAT 63
- uitvoerbestanden, scan
 - GTC, IDAT 63
- uitvoerbestanden, sequencing 59
- Universele kopieerservice 23
- updaten van software 37

V

- verbruiksartikelen 5
 - buffercartridge 8
 - onderhoud instrument 12
 - reagenscartridge 7
 - sequencing-runs 11
 - stroomcel 6
 - verbruiksartikelen wassen 33-34
 - water van laboratoriumkwaliteit 12
- verbruiksartikelen die door de gebruiker moeten
 - worden geleverd 12
- verbruiksartikelen verwijderen 11
- vorming van clusters 23

W

- wassen
 - automatisch 24
 - wassen na de run 24

Windows

afsluiten 40

workflow

BaseSpace-modus 21

BaseSpace aanmelden 16

BeadChip 29

buffercartridge 19

geavanceerde laadoptie 11

gebruikte reagentia 17

indexeringsoverwegingen 56

natriumhypochloriet 33-34

overview 14, 26

pre-runcontrole 22, 29

reagenscartridge 19

runduur 13-14

runmeetgegevens 23

sequencing 54

standalone-modus 21

stroomcel 16

stroomcel prepareren 15

workflow sequencing 14

Technische ondersteuning

Voor technische ondersteuning neemt u contact op met de afdeling technische ondersteuning van Illumina.

Website: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Telefoonnummers van klantenondersteuning van Illumina

Regio	Gratis telefoonnummer	Regionaal telefoonnummer
Noord-Amerika	+1 800 809 4566	
Australië	+1.800.775.688	
België	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Denemarken	+45 80820183	+45 89871156
Duitsland	+49 8001014940	+49 8938035677
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrijk	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong, China	800960230	
Ierland	+353 1800936608	+353 016950506
Italië	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800 111 5011	
Nederland	+31 8000222493	+31 207132960
Nieuw-Zeeland	0800 451 650	
Noorwegen	+47 800 16836	+47 21939693
Oostenrijk	+43 800006249	+43 19286540
Singapore	+1.800.579.2745	
Spanje	+34 911899417	+34 800300143
Taiwan, China	00806651752	
Verenigd Koninkrijk	+44 8000126019	+44 2073057197
Zuid-Korea	+82 80 234 5300	
Zweden	+46 850619671	+46 200883979
Zwitserland	+41 565800000	+41 800200442
Overige landen	+44 1799 534 000	

Veiligheidsinformatiebladen (SDS, safety data sheets) – zijn verkrijgbaar op de website van Illumina via support.illumina.com/sds.html.

Productdocumentatie – beschikbaar voor downloaden in pdf-vorm via support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Californië 92122 VS

+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

**Uitsluitend bedoeld voor onderzoekdoeleinden.
Niet voor gebruik in diagnostische procedures.**

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

illumina®