

Referenčná príručka prístroja NextSeq 550Dx

Referenčná príručka prístroja



Tento dokument a jeho obsah sú vlastníctvom spoločnosti Illumina, Inc. a jej pridružených spoločností (ďalej len „Illumina“) a sú určené výlučne na zmluvné použitie u zákazníka v súvislosti s používaním výrobku (výrobkov) opísaného (opísaných) v tomto dokumente a na žiadny iný účel. Tento dokument a jeho obsah sa nesmú používať ani šíriť na žiadny iný účel a/alebo inak poskytovať, zverejňovať alebo reprodukovat' akýmkoľvek spôsobom bez predchádzajúceho písomného súhlasu spoločnosti Illumina. Spoločnosť Illumina týmto dokumentom neposkytuje žiadnu licenciu na základe patentu, ochrannej známky, autorských práv alebo práv podľa zvykového práva, či podobných práv tretích strán.

Pokyny v tomto dokumente musia byť prísne a výslovne dodržiavané kvalifikovaným a riadne vyškoleným personálom, aby sa zabezpečilo správne a bezpečné používanie tu popísaného výrobku (výrobkov). Pred použitím takéhoto výrobku (výrobkov) je nutné prečítať si celý obsah tohto dokumentu s porozumením.

NEPREČÍTANIE VŠETKÝCH POKYNOV TU OBSIAHNUTÝCH A ICH VÝSLOVNÉ NEDODRŽANIE MÔŽE MAŤ ZA NÁSLEDOK POŠKODENIE VÝROBKU (VÝROBKOV), ZRANENIE OSOBY VRÁTANE POUŽÍVATEĽOV ALEBO INÝCH OSÔB, POŠKODENIE ĎALŠIEHO MAJETKU A ZRUŠENIE PLATNOSTI ZÁRUKY VZŤAHUJÚCEJ SA NA VÝROBOK (VÝROBKY).

SPOLOČNOSŤ ILLUMINA NEPREBERÁ ŽIADNU ZODPOVEDNOSŤ VYPLÝVAJÚCU Z NEBEZPEČNÉHO POUŽITIA TU POPÍSANÉHO VÝROBKU (VÝROBKOV) (VRÁTANE SÚČASTÍ ALEBO SOFTVÉRU).

© 2021 Illumina, Inc. Všetky práva vyhradené.

Všetky ochranné známky sú vlastníctvom spoločnosti Illumina, Inc. alebo príslušných vlastníkov. Informácie o konkrétnych ochranných známkach nájdete na stránke www.illumina.com/company/legal.html.

História revízií

Dokument	Dátum	Popis zmeny
Dokument č. 1000000041922 v03	Október 2021	Do časti Kontroly sekvenovacích chodov sa pridala poznámka o 7-dňovom časovači Aktualizoval sa pracovný postup sekvenovania pridaním časti na vytvorenie chodu pomocou softvéru Local Run Manager (Správca lokálnych chodov). Zmenil sa limit stability Pridala sa súprava čipov Infinium Methylation EPIC do typov čipov BeadChip Aktualizovali sa obrázky ikon zohľadňujúce zmeny v používateľskom rozhraní.
Dokument č. 1000000041922 v02	November 2020	Aktualizoval sa obrázok v časti Vykonanie manuálneho prepláchnutia, na ktorom sú zobrazené nové kazety na prepláchnutie reagencií a kazety na prepláchnutie pufru. Aktualizoval sa stavový riadok s doplňujúcou informáciou o farbách.
Dokument č. 1000000041922 v01	Marec 2018	Doplnili sa informácie o monitorovacej službe Illumina Proactive v časti Konfigurácia nastavení systému.
Dokument č. 1000000041922 v00	November 2017	Úvodné vydanie.

Obsah

Kapitola 1 Základné informácie	1
Informácie o tejto príručke	1
Úvod	1
Ďalšie zdroje	2
Súčasť prístroja	3
Prehľad súpravy reagensí	6
Základné informácie o spotrebnom materiáli na sekvenovanie	6
Kapitola 2 Začiatok práce so systémom	11
Spustenie prístroja	11
Prispôbenie nastavení systému	12
Spotrebný materiál a zariadenia dodávané používateľom	13
Kapitola 3 Sekvenovanie	15
Úvod	15
Pracovný postup sekvenovania	16
Príprava kazety s reagensiami	16
Prípravte prietokový článok	17
Príprava knižníc na sekvenovanie	17
Nastavenie sekvenovacieho chodu	18
Monitorovanie priebehu chodu	25
Automatické prepláchnutie po ukončení chodu	26
Kapitola 4 Skenovanie	27
Úvod	27
Pracovný postup skenovania	28
Stiahnutie priečinka DMAP	28
Vloženie čipu BeadChip do adaptéra	29
Nastavenie skenovania	30
Monitorovanie priebehu skenovania	32
Kapitola 5 Údržba	35
Úvod	35
Vykonanie manuálneho prepláchnutia	35
Výmena vzduchového filtra	38
Aktualizácie softvéru	39
Možnosti reštartovania a vypnutia	41
Dodatok A Riešenie problémov	43
Úvod	43
Súbory riešenia problémov	43
Odstránenie chýb automatickej kontroly	44
Zásobník na zber použitých reagensí je plný	46

Pracovný postup rehybridizácie	46
Chyby čipu BeadChip a skenovania	48
Vlastné návody a priečinky návodov	50
RAID Error Message (Chybové hlásenie RAID (redundantné pole nezávislých diskov))	50
Konfigurácia nastavení chodu	51
Dodatok B Real-Time Analysis (Analýza v reálnom čase)	55
Prehľad aplikácie Real-Time Analysis (Analýza v reálnom čase)	55
Pracovný postup analýzy v reálnom čase	56
Dodatok C Výstupné súbory a priečinky	59
Výstupné súbory sekvenovania	59
Štruktúra výstupného priečinka	62
Výstupné súbory skenovania	63
Štruktúra výstupného priečinka skenovania	63
Index	65
Technická pomoc	69

Kapitola 1 Základné informácie

Informácie o tejto príručke	1
Úvod	1
Ďalšie zdroje	2
Súčasť prístroja	3
Prehľad súpravy reagensí	6
Základné informácie o spotrebnom materiáli na sekvenovanie	6

Informácie o tejto príručke

Táto referenčná príručka prístroja poskytuje pokyny týkajúce sa používania prístroja NextSeq 550Dx vo výskumnom (RUO) režime.

Úvod

Funkcie sekvenovania

- ▶ **Sekvenovanie s vysokým prietokom** – Prístroj NextSeq™ 550Dx umožňuje sekvenovanie knižníc DNA.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA) (Analýza v reálnom čase)** – Vykonáva spracovanie snímok a primárnu analýzu báz. Ďalšie informácie nájdete v časti *Real-Time Analysis (Analýza v reálnom čase)* na strane 55.
- ▶ **Funkcie analýzy údajov na prístroji** – Analytické moduly analytického softvéru špecifikované pre chod analyzujú údaje chodu.
- ▶ **Duálne zavedenie** – Prístroj NextSeq 550Dx obsahuje samostatné pevné disky, ktoré podporujú diagnostický (Dx) a výskumný (RUO) režim.

Funkcie čipového skenovania

- ▶ **Integrované čipové skenovanie v riadiacom softvéri** – Prístroj NextSeq 550Dx umožňuje prechod medzi čipovým skenovaním a vysokovýkonným sekvenovaním na rovnakom prístroji použitím rovnakého riadiaceho softvéru.
- ▶ **Pokročilé možnosti snímkovania** – Snímkovací systém v prístroji NextSeq 550Dx zahŕňa softvérové a fázové modifikácie umožňujúce snímkovanie väčšej povrchovej oblasti s cieľom zjednodušiť skenovanie BeadChip.
- ▶ **Typy čipov BeadChip** – Medzi kompatibilné typy čipov BeadChip patria CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC a Karyomap-12.
- ▶ **Adaptér čipov BeadChip** – Adaptér čipov BeadChip na opakované použitie umožňuje jednoduché vkladanie čipu BeadChip do prístroja.
- ▶ **Analýza údajov** – Softvér BlueFuse® Multi použite na analýzu údajov čipu.

Ďalšie zdroje

Z webovej lokality spoločnosti Illumina si možno stiahnuť túto dokumentáciu.

Zdroj	Popis
<i>Sprievodca prípravou pracoviska pre prístroj NextSeq 550Dx (dokument č. 1000000009869)</i>	Obsahuje špecifikácie laboratórneho priestoru, požiadaviek týkajúcich sa elektrickej energie a opatrení súvisiacich s prevádzkovým prostredím.
<i>Sprievodca bezpečnosťou a súladom prístroja NextSeq 550Dx s požiadavkami (dokument č. 1000000009868)</i>	Poskytuje informácie o bezpečnostných aspektoch prevádzky, vyhláseniach o spôsobilosti, označovaní prístrojov a vstavanej Wi-Fi.
<i>Sprievodca súladom čítačky RFID s požiadavkami (dokument č. 1000000030332)</i>	Poskytuje informácie o čítačke RFID v prístroji vrátane osvedčení o zhode a bezpečnostných aspektov.
<i>Referenčná príručka prístroja NextSeq 550Dx vo výskumnom režime (dokument č. 1000000041922)</i>	Poskytuje pokyny na prevádzku prístroja a riešenie problémov. Na použitie pri používaní prístroja NextSeq 550Dx vo výskumnom režime s riadiacim softvérom NextSeq (NCS) v3.0.
<i>Príručka systému NextSeq 550 (dokument č. 15069765)</i>	Poskytuje pokyny na prevádzku prístroja a riešenie problémov. Na použitie pri používaní prístroja NextSeq 550Dx vo výskumnom režime s riadiacim softvérom NextSeq (NCS) v4.0 alebo novším.
<i>Príručka k systému NextSeq 550</i>	Poskytuje prehľad komponentov prístroja, pokyny na prevádzku, údržbu a riešenie problémov s prístrojom.
<i>Pomocník systému BaseSpace</i>	Poskytuje informácie o používaní sekvenčného centra BaseSpace™ Sequence Hub a dostupných možnostiach analýzy.

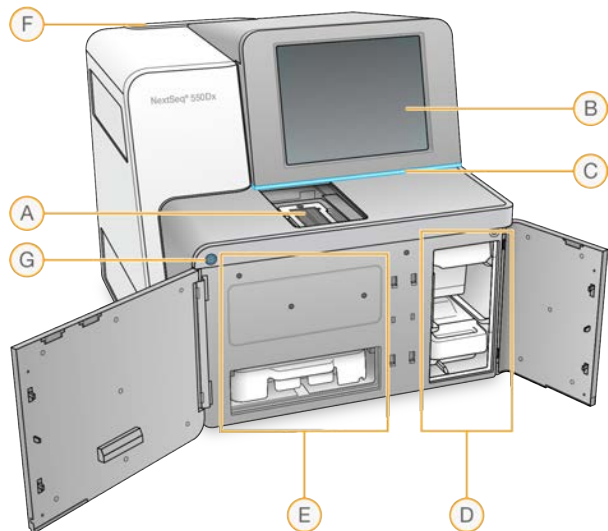
Ak chcete získať prístup k dokumentácii, možnosti stiahnuť si softvér, k online školeniu alebo často kladeným otázkam, navštívte na webovej lokalite spoločnosti Illumina [stránku s podporou pre prístroj NextSeq 550Dx](#).

Ak chcete získať prístup k dokumentácii, k možnosti stiahnuť si softvér, k online školeniu alebo často kladeným otázkam, navštívte na webovej lokalite spoločnosti Illumina [stránky s podporou pre NextSeq 550Dx](#).

Súčasti prístroja

Prístroj NextSeq 550Dx obsahuje monitor s dotykovou obrazovkou, stavový pruh a 4 priečinky.

Obrázok 1 Súčasti prístroja



- A **Snímací priečnik** – Počas sekvenovacieho chodu obsahuje prietokový článok.
- B **Monitor s dotykovou obrazovkou** – Umožňuje zadávanie konfigurácie a nastavenia na prístroji prostredníctvom rozhrania riadiaceho softvéru.
- C **Stavový pruh** – Udáva stav prístroja, napr. spracováva (modrý), vyžaduje si pozornosť (oranžový), pripravený na sekvenovanie (zelený), inicializuje sa (strieda sa modrá a biela farba), zatiaľ neinicializovaný (biely) alebo si vyžaduje prepláchnutie do 24 hodín (žltý).
- D **Priečnik na pufer** – Obsahuje kazetu s puferom a zásobník na zber použitých reagensí.
- E **Priečnik na reagencie** – Obsahuje kazetu s reagensiami.
- F **Priečnik na vzduchový filter** – Obsahuje vzduchový filter. K filtru sa dostanete zo zadnej strany prístroja.
- G **Vypínač** – Slúži na zapnutie ale vypnutie prístroja a počítača prístroja.

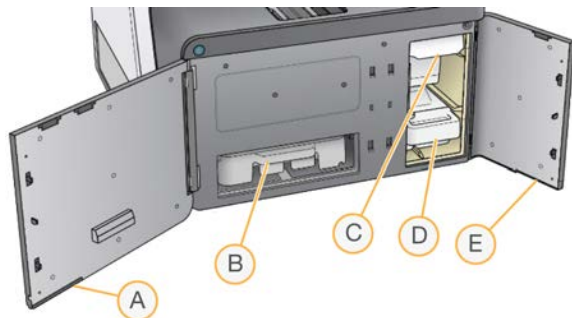
Snímací priečnik

V snímacom priečniku sa nachádza plocha s tromi zarovnávacími kolíkmi na umiestnenie prietokového článku. Po zasunutí prietokového článku sa dverka snímacieho priečnika automaticky zatvoria a komponenty sa presunú na svoje miesto.

Priečinky na reagencie a pufré

Na nastavenie sekvenovacieho chodu na prístroji NextSeq 550Dx je potrebný prístup k priečniku na reagencie a priečniku na pufer, aby bolo možné vložiť spotrebný materiál chodu a vyprázdniť zásobník na zber použitých reagensí.

Obrázok 2 Priečinky na reagencie a pufre



- A Dvierka priečinka na reagencie – uzatvárajú priečinok na reagencie pomocou západky pod pravou dolnou časťou dvierok. Do priečinka na reagencie sa umiestňuje kazeta s reagentami.
- B Kazeta s reagentami – kazeta s reagentami predstavuje vopred naplnený jednorazový spotrebný materiál.
- C Kazeta s pufrom – kazeta s pufrom predstavuje vopred naplnený jednorazový spotrebný materiál.
- D Zásobník na zber použitých reagentí – použité reagentie sa zbierajú a po každom chode sa zlikvidujú.
- E Dvierka priečinka na pufer – uzatvárajú priečinok na pufer pomocou západky pod ľavou dolnou časťou dvierok.

Priečinok na vzduchový filter

V priečinku na vzduchový filter sa nachádza vzduchový filter a je umiestnený v zadnej časti prístroja. Po 90 dňoch vždy filter vymeňte. Informácie o výmene filtra nájdete v kapitole *Výmena vzduchového filtra na strane 38*.



Softvér NextSeq 550Dx




Softvér prístroja obsahuje integrované aplikácie, ktoré vykonávajú sekvenovacie chody.

- ▶ **Riadiaci softvér NextSeq (NCS)** – Tento riadiaci softvér vás sprevádza krokmi nastavenia sekvenovacieho chodu.
- ▶ **Softvér Real-Time Analysis (RTA)** (Analýza v reálnom čase (RTA)) – RTA vykonáva analýzu snímok a primárnu analýzu báz počas chodu. Prístroj NextSeq 550Dx používa softvér RTA v2, ktorý obsahuje dôležité rozdiely v architektúre a funkciách v porovnaní s predchádzajúcimi verziami. Ďalšie informácie nájdete v časti *Real-Time Analysis (Analýza v reálnom čase)* na strane 55.

Ikony stavu

Ikona stavu v pravom hornom rohu NCS signalizuje akúkoľvek zmenu podmienok počas nastavenia chodu alebo v priebehu chodu.

Ikona stavu	Názov stavu	Popis
	Stav OK	System funguje normálne.
	Spracovanie	System vykonáva spracovanie.

Ikona stavu	Názov stavu	Popis
	Varovanie	Došlo k varovaniu. Pri varovaniach sa chod nezastaví ani sa pred spracovaním nevyžaduje žiadna akcia.
	Chyba	Vyskytla sa chyba. Chyby je potrebné vyriešiť pred pokračovaním chodu.
	Vyžaduje sa servis	Vyskytlo sa upozornenie vyžadujúce si pozornosť. Ďalšie informácie sú uvedené v hlásení.

Keď dôjde k zmene stavu, ikona vás upozorní blikaním. Po stlačení ikony sa zobrazí popis stavu. Výberom možnosti **Acknowledge** (Potvrdiť) prijmete hlásenie a následným výberom možnosti **Close** (Zatvoriť) zatvoríte dialógové okno.

POZNÁMKA

Potvrdením hlásenia sa ikona resetuje a hlásenie sa zmení na neaktívne. Ak používateľ vyberie ikonu, hlásenie sa mu bude naďalej zobrazovať, hneď po reštartovaní NCS však zmizne.

Vypínač

Vypínač na prednej strane prístroja NextSeq 550Dx zapne napájanie prístroja a jeho počítača. Vypínač vykoná v závislosti od stavu napájania prístroja nasledujúce akcie. Prístroj NextSeq 550Dx sa štandardne reštartuje do diagnostického režimu.

Informácie o počiatočnom zapnutí prístroja nájdete v časti *Spustenie prístroja na strane 11*.

Informácie o vypnutí prístroja nájdete v časti *Vypnutie prístroja na strane 41*.

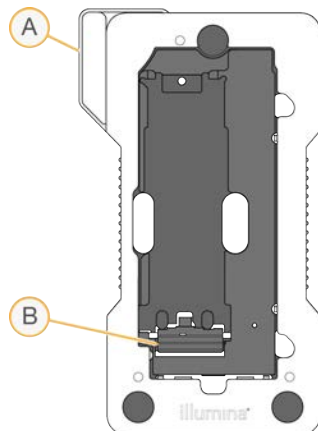
Stav napájania	Opatrenie
Napájanie prístroja je vypnuté	Napájanie zapnete stlačením tlačidla.
Napájanie prístroja je zapnuté	Napájanie vypnete stlačením tlačidla. Na obrazovke sa zobrazí dialógové okno na potvrdenie vypnutia prístroja.
Napájanie prístroja je zapnuté	Stlačte a 10 sekúnd podržte vypínač, čím sa prístroj a jeho počítač natrvalo vypnú. Tento spôsob používajte na vypnutie prístroja len v prípade, ak nereaguje.

POZNÁMKA Vypnutím prístroja počas sekvenovania dôjde k okamžitému ukončeniu chodu. Ukončenie chodu je konečné. Spotrebný materiál chodu nie je možné opakovane použiť a údaje sekvenovania z chodu sa neuložia.

Základné informácie o adaptéri čipu BeadChip na opakované použitie

Adaptér čipu BeadChip na opakované použitie slúži na uchytenie čipu BeadChip počas skenovania. Čip BeadChip sa upína do zapustenej priehradky adaptéra pomocou upínacej svorky. Následne sa adaptér čipu BeadChip zasunie na plochu v snímacom priečinku.

Obrázok 3 Adaptér čipu BeadChip na opakované použitie



- A Adaptér čipu BeadChip
- B Upínacia svorka

Prehľad súpravy reagensí

Základné informácie o spotrebnom materiáli na sekvenovanie

Spotrebný materiál na sekvenovanie potrebný na spustenie prístroja NextSeq 550Dx sa dodáva samostatne v jednorazovej súprave. Každá súprava obsahuje jeden prietokový článok, kazetu s reagensiami, kazetu s puľom a puľer na riedenie knižníc. Ďalšie informácie nájdete v príbalovom letáku v časti *Súprava reagensí NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cyklov)*, *Súprava reagensí NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cyklov)* alebo *Súprava reagensí NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cyklov)*.

Prietokový článok, kazeta s reagensiami a kazeta s puľom využívajú na účely presného sledovania a zhody spotrebného materiálu rádiovú identifikáciu (RFID).

UPOZORNENIE

Súpravy NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 si vyžadujú, aby bol prístroj vybavený softvérom NOS 1.3 alebo jeho novšou verziou, aby akceptoval kazetu s prietokovým článkom v2.5. Aktualizáciu softvéru vykonajte ešte pred prípravou vzoriek a spotrebného materiálu, aby nedošlo k plytvaniu reagensí a/alebo vzoriek.



POZNÁMKA

Spotrebný materiál na sekvenovanie uchovávajte v pôvodných škatuliach až do jeho použitia.

Označenie kompatibility súpravy

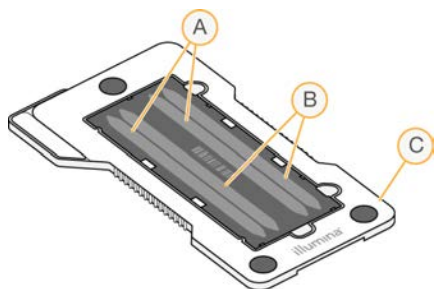
Komponenty súpravy sú označené farebnými indikátormi, ktoré zobrazujú kompatibilitu medzi prietokovými článkami a kazetami s reagensiami. Vždy používajte kompatibilnú kazetu s reagensiami a prietokový článok. Kazeta s puľom je univerzálna.

Každý prietokový článok a kazeta s reagensiami majú označenie **High** (Vysoký výkon) alebo **Mid** (Stredný výkon). Počas prípravy spotrebného materiálu na chod vždy skontrolujte štítok.

Typ súpravy	Označenie na štítku
Komponenty vysokovýkonnej súpravy (High Output)	
Komponenty súpravy so stredným výkonom (Mid Output)	

Základné informácie o prietokovom článku

Obrázok 4 Kazeta s prietokovým článkom



- A Pár pruhov A – pruhy 1 a 3
- B Pár pruhov B – pruhy 2 a 4
- C Rám kazety s prietokovým článkom

Prietokový článok je sklenená podložka, na ktorej sa vytvárajú klastre a uskutočňuje sa reakcia sekvenovania. Prietokový článok je uzavretý v kazete na prietokový článok.

Prietokový článok obsahuje 4 pruhy, ktoré sa zobrazujú v pároch.

- ▶ Pruhy 1 a 3, nazývané pár pruhov A, sa zobrazujú súčasne.
- ▶ Pruhy 2 a 4, nazývané pár pruhov B, sa zobrazia vtedy, keď sa ukončí zobrazovanie páru pruhov A.

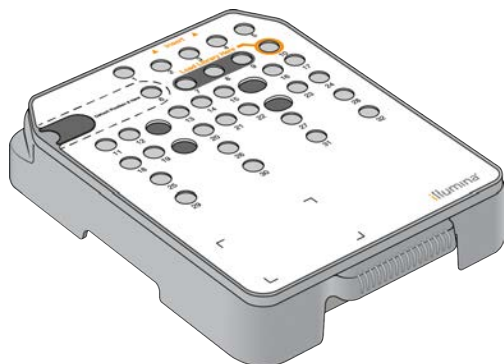
Aj keď má prietokový článok 4 pruhy, sekvenuje sa na ňom len jediná knižnica alebo súbor združených knižníc. Knižnice sa zasunú do kazety s reagentami z jediného zásobníka a automaticky sa prenesú na prietokový článok na všetky 4 pruhy.

Každý pruh je zobrazený na malých zobrazovacích plochách nazývaných dlaždice. Viac informácií nájdete v časti [Dlaždice prietokového článku na strane 59](#).

Základné informácie o kazete s reagensiami

Kazeta s reagensiami je jednorazový spotrebný materiál so sledovaním pomocou RFID a zásobníkmi s fóliovým utesnením, ktoré sú vopred naplnené klastrovacími a sekvenovacími reagensiami.

Obrázok 5 Kazeta s reagensiami



Kazeta s reagensiami zahŕňa vyhradený zásobník na vkladanie pripravených knižníc. Po spustení chodu sa knižnice automaticky prenású zo zásobníka do prietokového článku.

Niekoľko zásobníkov je vyhradených na automatické prepláchnutie po ukončení chodu. Preplachovací roztok sa cez systém načerpá z kazety s puňrom do vyhradených zásobníkov a potom do zásobníka na zber použitých reagensí.

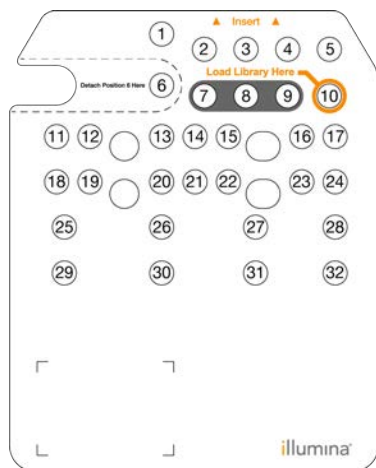


VAROVANIE

Táto súprava reagensí obsahuje potenciálne nebezpečné chemikálie. K osobným zraneniam môže dôjsť v dôsledku vdýchnutia, požitia, kontaktu s pokožkou a kontaktu s očami. Noste ochranné prostriedky vrátane ochrany očí, rukavíc a laboratórneho pláštá, ktoré sú vhodné pre toto nebezpečenstvo vystavenia. S použitými reagensiami manipulujte ako s chemickým odpadom a likvidujte ich v súlade s platnými regionálnymi, národnými a miestnymi zákonmi a predpismi. Ďalšie informácie o ochrane životného prostredia, zdravia a bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov na stránke support.illumina.com/sds.html.

Vyhradené zásobníky

Obrázok 6 Očíslované zásobníky



Pozícia	Popis
7, 8, a 9	Vyhradené na voliteľné vlastné priméry
10	Vloženie knižnič

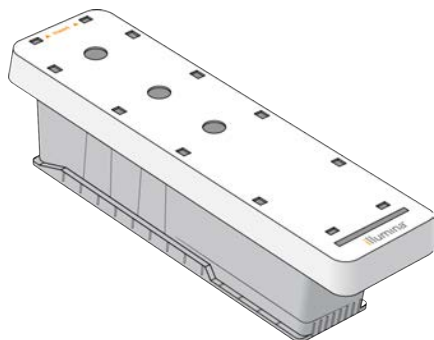
Vyberateľný zásobník na pozícii č. 6

Vopred naplnená kazeta s reagentami obsahuje denaturačnú reagenciu na pozícii č. 6 obsahujúcu formamid. Bezpečnú likvidáciu akejkoľvek nepoužitej reagentie po sekvenovacom chode umožňuje vymeniteľný zásobník na pozícii č. 6. Ďalšie informácie nájdete v časti [Odstránenie použitého zásobníka z pozície č. 6 na strane 22](#).

Základné informácie o kazete s pufrom

Kazeta s pufrom je jednorazový spotrebný materiál. Obsahuje tri zásobníky, ktoré sú naplnené pufami a preplachovacím roztokom. Obsah kazety s pufrom postačuje na sekvenovanie jedného prietokového článku.

Obrázok 7 Kazeta s pufrom



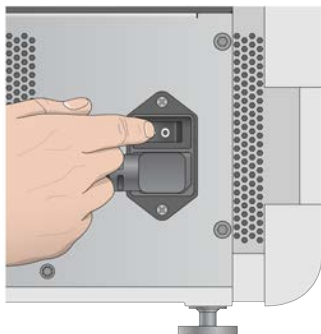
Kapitola 2 Začiatok práce so systémom

Spustenie prístroja	11
Prispôsobenie nastavení systému	12
Spotrebný materiál a zariadenia dodávané používateľom	13

Spustenie prístroja

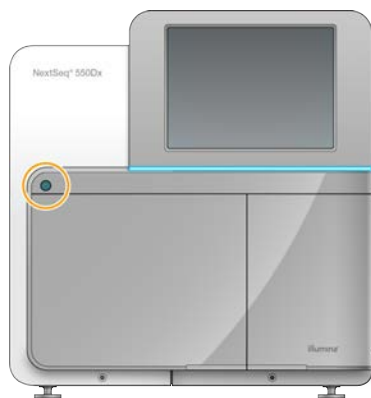
Prepnite prepínač do polohy I (zapnuté).

Obrázok 8 Vypínač umiestnený na zadnej strane prístroja



- 1 Stlačte vypínač nad priečinkom na reagentie. Stlačením vypínača sa zapne napájanie prístroja a spustí sa integrovaný počítač a softvér prístroja.

Obrázok 9 Vypínač umiestnený na prednej strane prístroja



- 2 Počkajte, kým sa nedokončí načítanie operačného systému.
Riadiaci softvér NextSeq Control Software (NCS) automaticky spustí a inicializuje systém.
Po dokončení inicializačného kroku sa zobrazí domovská obrazovka.
- 3 Zadajte svoje používateľské meno a heslo pre softvér Local Run Manager (Správca lokálnych chodov).
Informácie o heslách nájdete v časti *Používateľské heslá na strane 1*. Informácie o nastavení konta v softvéri Local Run Manager (Správca lokálnych chodov) nájdete v časti *Správčovské nastavenia a úlohy na strane 1*.
- 4 Vyberte možnosť **Login** (Prihlásenie).
Zobrazí sa domovská obrazovka s ikonami Sequence (Sekvenovať), Local Run Manager (Správca lokálnych chodov), Manage Instrument (Spravovať prístroj) a Perform Wash (Vykonať prepláchnutie).

Indikátory režimu prístroja

Predvoleným režimom prístroja NextSeq 550Dx je diagnostický režim. Režim prístroja označujú nasledujúce údaje zobrazené na obrazovke NCS.

Režim	Domovská obrazovka	Farebný indikátor	Orientácia stavovej ikony
Diagnostický režim	Vitajte v NextSeqDx	Modrý	Horizontálna
Výskumný režim	Vitajte v NextSeq	Oranžový	Vertikálna

Prispôsobenie nastavení systému

Operačný softvér obsahuje prispôsobiteľné nastavenia systému na identifikáciu prístroja, preferencie vstupných údajov, nastavenia zvuku a umiestnenie výstupného priečinka. Informácie o zmene nastavení konfigurácie siete nájdete v časti *Konfigurácia nastavení chodu na strane 51*.

Možnosti prispôsobenia:

- ▶ Prispôsobenie identifikácie prístroja (avatar a prezývka)
- ▶ Nastavenie možnosti vstupu a zvukového indikátora
- ▶ Nastavenie možností nastavenia chodu
- ▶ Možnosti vypnutia
- ▶ Konfigurácia spustenia prístroja po kontrole pred spustením chodu
- ▶ Rozhodnutie o odoslaní údajov o výkone prístroja spoločnosti Illumina
- ▶ Priradenie výstupného priečinka chodu

Prispôsobenie avatara a prezývky prístroja

- 1 Na domovskej obrazovke vyberte príkaz **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
- 2 Vyberte možnosť **System Customization** (Prispôsobenie systému).
- 3 Ak chcete k svojmu prístroju priradiť preferovaný obrázok, vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite na daný obrázok.
- 4 Do poľa Nickname (Prezývka) zadajte preferovaný názov prístroja.
- 5 Výberom možnosti **Save** (Uložiť) uložíte nastavenia a prejdete na danú obrazovku. Obrázok a prezývka sa zobrazia v ľavom hornom rohu obrazovky.

Nastavenie možnosti klávesnice a zvukového indikátora

- 1 Na domovskej obrazovke vyberte príkaz **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
- 2 Vyberte možnosť **System Customization** (Prispôsobenie systému).
- 3 Začiarknutím políčka **Use on-screen keyboard** (Použiť klávesnicu na obrazovke) aktivujte klávesnicu na obrazovke, pomocou ktorej môžete do prístroja zadávať vstupné hodnoty.
- 4 Začiarknutím políčka **Play audio** (Prehrať zvuk) zapnete indikátory zvuku pre tieto udalosti.
 - ▶ Pri inicializácii prístroja
 - ▶ Po spustení chodu
 - ▶ Po výskyte konkrétnej chyby
 - ▶ Keď sa vyžaduje interakcia používateľa
 - ▶ Po dokončení chodu

- 5 Výberom možnosti **Save** (Uložiť) uložíte nastavenia a prejdete na danú obrazovku.

Nastavenie možností nastavenia chodu

- 1 Na obrazovke Manage Instrument (Spravovať prístroj) vyberte možnosť **System Customization** (Prispôsobenie systému).
- 2 Označte políčko **Use Advanced Load Consumables** (Použiť rozšírené načítanie spotrebného materiálu), čím sa povolí možnosť načítať všetok spotrebný materiál chodu z jednej obrazovky.
- 3 Označte políčko **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Preskočiť potvrdenie kontroly pred spustením chodu), čím sa po úspešnej automatickej kontrole automaticky spustí sekvenovanie.
- 4 Výberom možnosti **Save** (Uložiť) uložíte nastavenia a ukončíte obrazovku.

Nastavenie možnosti automatického čistenia

- 1 Na obrazovke Manage Instrument (Spravovať prístroj) vyberte možnosť **System Customization** (Prispôsobenie systému).
- 2 Označte políčko **Purge Consumables at End of Run** (Vyčistiť spotrebný materiál na konci chodu), aby sa automaticky po každom chode vyčistili nepoužitá reagenty z kazety na reagenty do zásobníka na zber použitých reagentov.

POZNÁMKA Čistením spotrebného materiálu sa automaticky predĺži pracovný postup.

- 3 Výberom možnosti **Save** (Uložiť) uložíte nastavenia a ukončíte obrazovku.

Spotrebný materiál a zariadenia dodávané používateľom

V prístroji NextSeq 550Dx sa používajú nasledujúce spotrebné materiály a zariadenia. Na prípravu spotrebného materiálu, sekvenovanie a údržbu prístroja sa používa nasledujúce vybavenie a spotrebný materiál. Ďalšie informácie nájdete v *Príručke k systému NextSeq 550*.

Spotrebný materiál na sekvenovanie

Spotrebný materiál	Dodávateľ	Účel
Alkoholové utierky, 70 % izopropyl alebo 70 % etanol	VWR, katalógové č. 95041-714 (alebo ekvivalent) Všeobecný dodávateľ pre laboratóriá	Čistenie prietokového článku a všeobecné použitie.
Laboratórna tkanina bez vlákien	VWR, katalógové č. 21905-026 (alebo ekvivalent)	Čistenie prietokového článku a všeobecné použitie.

Spotrebný materiál na údržbu a riešenie problémov

Spotrebný materiál	Dodávateľ	Účel
NaOCl, 5 % (chlórnan sodný)	Sigma-Aldrich, katalógové č. 239305 (alebo laboratórny ekvivalent)	Prepláchnutie prístroja pomocou manuálneho prepláchnutia po ukončení chodu; zriedený na 0,12 %
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalógové č. P7949	Prepláchnutie prístroja pomocou možnosti manuálneho prepláchnutia; zriedený na 0,05 %
Laboratórna voda	Všeobecný dodávateľ pre laboratóriá	Prepláchnutie prístroja (manuálne prepláchnutie)
Vzduchový filter	Illumina, katalógové č. 20022240	Čistenie vzduchu, ktorý prístroj nasáva na účely chladenia

Usmernenia pre laboratórnu vodu

Na vykonávanie postupov na prístroji vždy používajte laboratórnu alebo deionizovanú vodu. Nikdy nepoužívajte kohútikovú vodu. Používajte len tieto stupne vody alebo ich ekvivalenty:

- ▶ Deionizovaná voda
- ▶ Illumina PW1
- ▶ Voda s odporom 18 megaohmov
- ▶ Voda Milli-Q
- ▶ Voda Super-Q
- ▶ Voda na molekulárnu biológiu

Zariadenia

Položka	Zdroj
Mraznička, -25 °C až -15 °C, beznámrazová	Všeobecný dodávateľ pre laboratóriá
Chladnička, 2 °C až 8 °C	Všeobecný dodávateľ pre laboratóriá

Kapitola 3 Sekvenovanie

Úvod	15
Pracovný postup sekvenovania	16
Príprava kazety s reagensiami	16
Prípravte prietokový článok	17
Príprava knižníc na sekvenovanie	17
Nastavenie sekvenovacieho chodu	18
Monitorovanie priebehu chodu	25
Automatické prepláchnutie po ukončení chodu	26

Úvod

Pred vykonaním sekvenovacieho chodu na prístroji NextSeq 550Dx si pripravte kazetu s reagensiami a prietokový článok a potom podľa pokynov softvéru nastavte a spustíte chod. Na prístroji sa vykoná tvorba klastrov a sekvenovanie. Po vykonaní chodu sa pomocou komponentov už zasunutých v prístroji automaticky spustí prepláchnutie prístroja.

Tvorba klastrov

Počas tvorby klastrov sa jednotlivé molekuly DNA viažu na povrch prietokového článku a potom amplifikujú sa na klastre.

Sekvenovanie

Klastre sa zobrazujú pomocou chemických procesov sekvenovania na báze dvojkanálovej detekcie a kombinácie filtrov špecifickejšej pre každý z fluorescenčne označených nukleotidov. Po ukončení spracovania snímky dlaždice na prietokovom článku sa zobrazí ďalšia dlaždica. Proces sa opakuje v každom cykle sekvenovania. Po analýze snímok softvér vykoná primárnu analýzu báz, filtrovanie a vyhodnocovanie kvality.

Analýza

Počas chodu operačný softvér automaticky preniesie súbory primárnej analýzy báz (BCL) do určeného miesta výstupu na sekundárnu analýzu.

Trvanie sekvenovacieho chodu

Trvanie sekvenovacieho chodu závisí od počtu vykonaných cyklov. Maximálna dĺžka chodu je chod čítania z oboch koncov zložený zo 150 cyklov každého čítania (2 x 150) plus maximálne 8 cyklov pre každé z 2 čítaní indexu.

Počet cyklov v čítaní

V sekvenovacom chode je počet cyklov vykonaných pri čítaní vyšší o 1 ako počet analyzovaných cyklov. Napríklad 150-cyklový chod s čítaním z oboch koncov vykoná čítania 151 cyklov (2 x 151) pre spolu 302 cyklov. Na konci chodu sa analyzuje 2 x 150 cyklov. Na výpočty fázovania a predfázovania je potrebný cyklus navyše.

Pracovný postup sekvenovania

Create Run



V softvérovom module Local Run Manager (Správca lokálnych chodov) vytvorte chod. Konkrétny modul nájdete v sprievodcovi pracovným postupom analýzy.



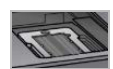
Prípravte novú kazetu s reagensiami: rozmrazte ju a skontrolujte. Prípravte nový prietokový článok: zahrejte ho na izbovú teplotu, vybaľte ho a skontrolujte.



Denaturujte a zriedte knižnice. Návod nájdete v príbalovom letáku s informáciami o príprave knižníc.



Zriedené knižnice vložte do kazety s reagensiami v zásobníku č. 10.



Na domovskej obrazovke NCS prístroja vyberte možnosť **Sequence** (Sekvenovať), svoje ID chodu a začnite vykonávať kroky nastavenia chodu. Vyberte možnosť **Run** (Chod).



Vložte prietokový článok.



Vyprázdnite a znova vložte zásobník na použité reagensie. Vložte kazetu s puľom a kazetu s reagensiami.



Skontrolujte výsledky kontroly pred spustením chodu. Vyberte možnosť **Start** (Spustiť). (Tento krok nie je potrebný, ak je systém nakonfigurovaný na automatické spustenie.)



Chod monitorujte v rozhraní operačného softvéru alebo na počítači v sieti pomocou softvéru Local Run Manager (Správca lokálnych chodov).

Po ukončení sekvenovania sa prístroj začne automaticky preplachovať.

Príprava kazety s reagensiami

Úspešné sekvenovanie je podmienené dôsledným dodržiavaním pokynov týkajúcich sa kazety s reagensiami.

- 1 Vyberte kazetu s reagensiami z miesta uskladnenia s teplotou od -25 °C do -15 °C .
- 2 Rozmrazenie reagensii vykonajte pomocou jednej z nasledujúcich metód. Kazetu neponárajte. Kazetu po rozmrazení najprv osušte a až potom prejdite na ďalší krok.

Teplota	Čas rozmrazenia	Medza stability
Vodný kúpeľ s teplotou 15 °C až 30 °C	60 minút	Neprekračujte 6 hod.
2 °C až 8 °C	7 hodín	Neprekračujte 7 dní

POZNÁMKA Ak sa v jednom vodnom kúpeli rozmrazuje viacero kaziet, nechajte ich rozmrazovať dlhšie.

- 3 Kazetu päťkrát prevráťte, aby ste zmiešali reagenty.
- 4 Kontrolou spodnej časti kazety sa presvedčte, či sú reagenty rozmrazené a či sa v nich nenachádzajú zrazeniny. Presvedčte sa, či sú pozície 29, 30, 31 a 32 rozmrazené, keďže sú najväčšie a ich rozmrazenie trvá najdlhšie.
- 5 Jemným poklepaním o stôl zmenšíte množstvo vzduchových bublínok. Najlepšie výsledky sa dosiahnu vtedy, keď sa prejde priamo na načítanie vzorky a nastavenie chodu.



VAROVANIE

Táto súprava reagentov obsahuje potenciálne nebezpečné chemikálie. K osobným zraneniam môže dôjsť v dôsledku vdýchnutia, požitia, kontaktu s pokožkou a kontaktu s očami. Noste ochranné prostriedky vrátane ochrany očí, rukavíc a laboratórneho pláštá, ktoré sú vhodné pre toto nebezpečenstvo vystavenia. S použitými reagentami manipulujte ako s chemickým odpadom a likvidujte ich v súlade s platnými regionálnymi, národnými a miestnymi zákonmi a predpismi. Ďalšie informácie o ochrane životného prostredia, zdravia a bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov na stránke support.illumina.com/sds.html.

Pripravte prietokový článok

- 1 Vyberte škatuľu s novým prietokovým článkom z miesta jeho uchovávaní pri teplote 2 °C až 8 °C.
- 2 Zo škatule odstráňte fóliový obal a nechajte ju postáť pri izbovej teplote 30 minút.

POZNÁMKA Ak je fóliový obal neporušený, môže prietokový článok stať pri izbovej teplote až 12 hodín. Vyhýbajte sa opakovanému chladeniu a zahrievaniu prietokového článku.

Príprava knižníc na sekvenovanie

Knižnice denaturujte a zriedte na objem nanášania 1,3 ml. Koncentrácia nanášania sa v skutočnosti môže líšiť v závislosti od prípravy knižnice a kvantifikačných metód. Zriedenie knižníc vzoriek závisí od zložitosti oligonukleotidových skupín (pool). Pokyny na prípravu knižníc vzoriek na sekvenovanie vrátane zriedovania a združovania (pooling) knižníc nájdete v návode na použitie v oddieli pojednávajúcom o súprave na prípravu knižnice, ktorá sa má použiť. Hustotu klastrov v prístroji NextSeq 550Dx je potrebné optimalizovať.

Denaturácia a riedenie knižníc

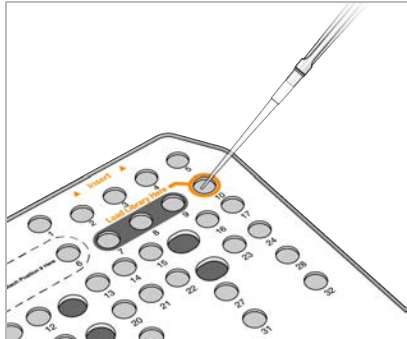
Knižnice denaturujte a zriedte na objem nanášania 1,3 ml a koncentráciu 1,8 pM. Koncentrácia nanášania sa v skutočnosti môže líšiť v závislosti od prípravy knižnice a kvantifikačných metód. Návod nájdete v príbalovom letáku s informáciami o príprave knižníc.

Vloženie knižníc do kazety s reagentami

- 1 Tkaninou bez vlákien vyčistite fóliové tesnenie pokrývajúce zásobník č.10 s označením **Load Library Here** (Sem vložte knižnicu).
- 2 Tesnenie prepichnete čistou špičkou 1 ml pipety.

- 3 Vložte 1,3 ml pripravených knižníc do zásobníka č. 10 s označením **Load Library Here** (Sem vložiť knižnicu). Pri rozptyľovaní knižníc sa nedotýkajte fóliového tesnenia.

Obrázok 10 Vloženie knižníc



Nastavenie sekvenovacieho chodu

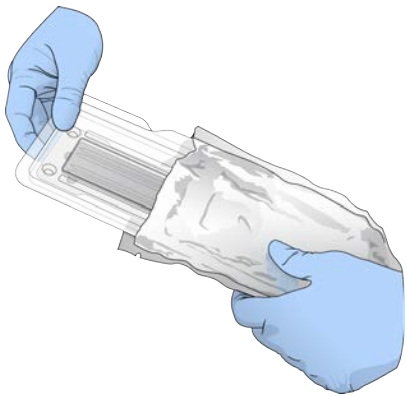
Prihlásenie do systému BaseSpace

- 1 Zadajte svoje používateľské meno a heslo v systéme BaseSpace.
- 2 Vyberte možnosť **Next** (Ďalej).

Vloženie prietokového článku

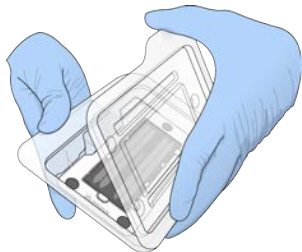
- 1 Vyberte použitý prietokový článok z predchádzajúceho chodu.
- 2 Vyberte prietokový článok z fóliového obalu.

Obrázok 11 Vybratie z fóliového obalu



- 3 Otvorte priehľadný plastový uzatvárací obal a vyberte prietokový článok.

Obrázok 12 Vybratie z uzatváracieho obalu

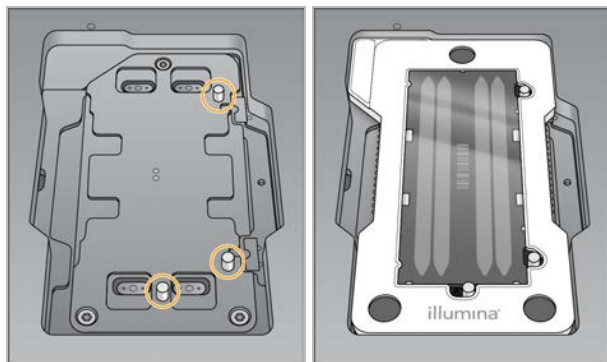


- 4 Sklený povrch prietokového článku vyčistíte alkoholovou utierkou bez vlákien. Sklo osušte laboratórnou tkaninou bez vlákien.

POZNÁMKA Presvedčte sa, či je sklený povrch prietokového článku čistý. V prípade potreby čistenie zopakujte.

- 5 Prietokový článok zalúčujte pomocou zarovňavacích kolíkov a umiestnite ho na plochu.

Obrázok 13 Vloženie prietokového článku



- 6 Vyberte možnosť **Load** (Zasunúť).
Dvierka sa automaticky zatvoria, na obrazovke sa zobrazí ID prietokového článku a skontrolujú sa snímače.

POZNÁMKA Pri zatváraní držte ruky mimo dosahu dvierok, aby ste si ich nepriškripli.

- 7 Vyberte položku **Next** (Ďalej).

Vyprázdnenie zásobníka na zber použitých reagensí

- 1 Otvorte dvierka priečinka na pufer pomocou západky pod ľavou dolnou časťou dvierok.
- 2 Vyberte zásobník na zber použitých reagensí a jeho obsah zlikvidujte v súlade s platnými normami.

Obrázok 14 Vybratie zásobníka na zber použitých reagencií



POZNÁMKA Pri vyberaní zásobníka podložte druhou rukou, aby bol stabilnejší.

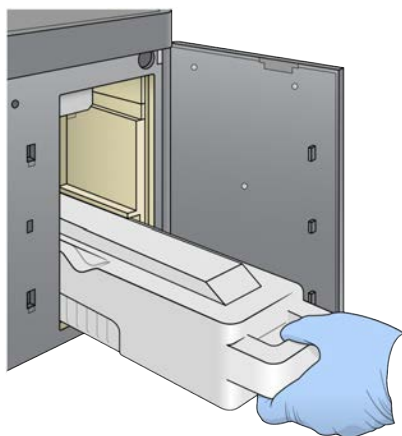


VAROVANIE

Táto súprava reagencií obsahuje potenciálne nebezpečné chemikálie. K osobným zraneniam môže dôjsť v dôsledku vdýchnutia, požitia, kontaktu s pokožkou a kontaktu s očami. Noste ochranné prostriedky vrátane ochrany očí, rukavíc a laboratórneho pláštá, ktoré sú vhodné pre toto nebezpečenstvo vystavenia. S použitými reagentami manipulujte ako s chemickým odpadom a likvidujte ich v súlade s platnými regionálnymi, národnými a miestnymi zákonmi a predpismi. Ďalšie informácie o ochrane životného prostredia, zdravia a bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov na stránke support.illumina.com/sds.html.

- 3 Do priečinka na pufer vložte prázdny zásobník na zber použitých reagencií a zatlačte ho až na doraz. Keď zásobník dosadne na svoje miesto, ozve sa počuteľné cvaknutie.

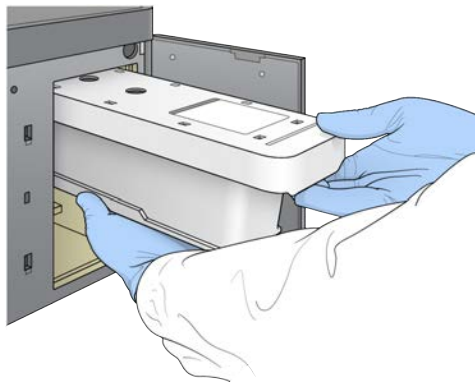
Obrázok 15 Vloženie zásobníka na zber použitých reagencií



Vloženie kazety s pufrom

- 1 Z horného priečinka vyberte použitú kazetu s pufrom.
Na nadvihnutie a vytiahnutie kazety s pufrom bude potrebné použiť určitú silu.
- 2 Do priečinka na pufer vložte novú kazetu s pufrom a zatlačte ju až na doraz.
Keď kazeta dosadne na svoje miesto, ozve sa počuteľné cvaknutie, na obrazovke sa zobrazí ID kazety s pufrom a skontroluje sa snímač.

Obrázok 16 Vloženie kazety s pufrom



- 3 Zatvorte dvierka priečinka na pufer a vyberte možnosť **Next (Ďalej)**.

Vloženie kazety s reagensiami

- 1 Otvorte dvierka priečinka na reagencie pomocou západky pod pravým dolným rohom dvierok.
- 2 Z priečinka na reagencie vyberte kazetu s reagensiami. Nepoužitý obsah zlikvidujte v súlade s príslušnými predpismi.



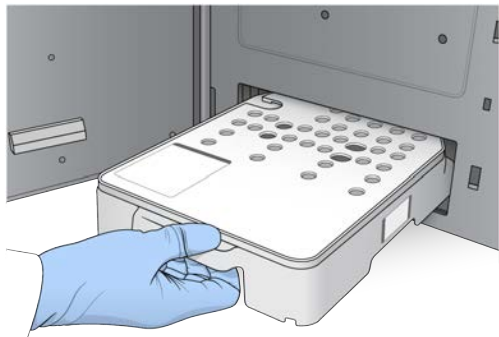
VAROVANIE

Táto súprava reagensí obsahuje potenciálne nebezpečné chemikálie. K osobným zraneniam môže dôjsť v dôsledku vdýchnutia, požitia, kontaktu s pokožkou a kontaktu s očami. Noste ochranné prostriedky vrátane ochrany očí, rukavíc a laboratórneho pláštia, ktoré sú vhodné pre toto nebezpečenstvo vystavenia. S použitými reagensiami manipulujte ako s chemickým odpadom a likvidujte ich v súlade s platnými regionálnymi, národnými a miestnymi zákonmi a predpismi. Ďalšie informácie o ochrane životného prostredia, zdravia a bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov na stránke support.illumina.com/sds.html.

POZNÁMKA Bezpečnú likvidáciu nepoužitých reagensí umožňuje vymeniteľný zásobník na pozícii 6. Ďalšie informácie nájdete v časti *Odstránenie použitého zásobníka z pozície č. 6 na strane 22*.

- 3 Do priečinka na reagencie vložte kazetu s reagensiami a zatlačte ju až na doraz. Zatvorte dvierka priečinka na reagencie.

Obrázok 17 Vloženie kazety s reagensiami

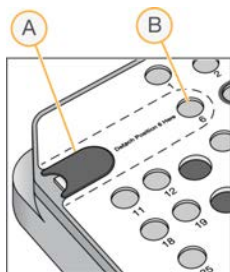


- 4 Vyberte možnosť **Load** (Zasunúť).
Softvér automaticky presunie kazetu na miesto (cca 30 sekúnd), na obrazovke sa zobrazí ID kazety s reagensiami a skontrolujú sa snímače.
- 5 Vyberte položku **Next** (Ďalej).

Odstránenie použitého zásobníka z pozície č. 6

- 1 Po vybratí **použitej** kazety s reagensiami z prístroja odstráňte gumový ochranný kryt, ktorý je nad otvorom vedľa pozície č. 6.

Obrázok 18 Vymeniteľná pozícia č. 6



- A Ochranný gumový kryt
- B Pozícia č. 6

- 2 Zatlačte na zarážku z priehľadného plastu a zatlačením doľava vysuňte zásobník.
- 3 Zásobník zlikvidujte v súlade s platnými normami.

Zadanie parametrov chodu

Kroky na obrazovke Run Setup (Nastavenie chodu) sa líšia v závislosti od systémovej konfigurácie:

- ▶ **BaseSpace alebo BaseSpace Onsite** – Na obrazovke Run Setup (Nastavenie chodu) sú uvedené chody, ktoré boli nastavené použitím karty BaseSpace Prep (Príprava BaseSpace). Ak sa konkrétny chod na obrazovke Run Setup (Nastavenie chodu) nezobrazuje, skontrolujte, či je chod v systéme BaseSpace označený na sekvenovanie.
- ▶ **Standalone (Samostatne)** – Obrazovka Run Setup (Nastavenie chodu) obsahuje polia na definovanie parametrov chodu.

Výber dostupného chodu (Konfigurácia BaseSpace)


- 1 Zo zoznamu dostupných chodov vyberte názov chodu.
Pomocou šípok nahor a nadol prechádzajte zoznamom, prípadne do poľa Search (Vyhľadávanie) zadajte názov chodu.
- 2 Vyberte možnosť **Next** (Ďalej).
- 3 Potvrďte parametre chodu.
 - ▶ **Run Name** (Názov chodu) – Názov chodu podľa priradenia v systéme BaseSpace.
 - ▶ **Library ID** (ID knižnice) – Názov hromadných knižníc podľa priradenia v systéme BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (Návod) – Názov návodu, ktorý **NextSeq High** alebo **NextSeq Mid** použili v závislosti od použitej kazety s reagentami.
 - ▶ **Read Type** (Typ čítania) – Single Read (Čítanie z jedného konca), alebo Paired End (Čítanie z oboch koncov)
 - ▶ **Read Length** (Dĺžka čítania) – Počet cyklov každého čítania.
 - ▶ **[Voliteľné]** Vlastné priméry, ak sa používajú.
 - ▶ **Run parameters** (Parametre chodu) – Zmeňte počet čítaní alebo počet cyklov na čítanie.
 - ▶ **Custom primers** (Vlastné priméry) – Zmeňte nastavenia pre vlastné priméry. Informácie o vlastných priméroch nájdete v časti *Spríevodca vlastnými primérmí NextSeq (dokument č. 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Vyčistiť spotrebný materiál pre tento chod) – Zmeňte nastavenie na automatické vyčistenie spotrebného materiálu po aktuálnom chode.
- 4 Vyberte možnosť **Next** (Ďalej).

Zadanie parametrov chodu (samostatná konfigurácia)

- 1 Zadajte názov chodu podľa vlastného výberu.
- 2 **[Voliteľné]** Zadajte ID knižnice podľa vlastného výberu.
- 3 Vyberte typ čítania, a to buď **Single Read** (Čítanie z jedného konca), alebo **Paired End** (Čítanie z oboch koncov).
- 4 Zadajte počet cyklov pre každé čítanie v sekvenovacom chode.
 - ▶ **Read 1** (Čítanie 1) – Zadajte hodnotu do maximálne 151 cyklov.
 - ▶ **Index 1** – Zadajte počet cyklov potrebných pre primér Index 1 (i7).
 - ▶ **Index 2** – Zadajte počet cyklov potrebných pre primér Index 2 (i5).
 - ▶ **Read 2** (Čítanie 2) – Zadajte hodnotu do maximálne 151 cyklov. Táto hodnota sa obvykle zhoduje s počtom cyklov pre Read 1 (Čítanie 1).





Riadiaci softvér overí vami zadané údaje pomocou týchto kritérií:

 - ▶ Celkový počet cyklov neprekračuje maximálny povolený počet cyklov.
 - ▶ Počet cyklov pre Read 1 (Čítanie 1) je vyšší ako 5 cyklov použitých na vytvorenie šablóny.
 - ▶ Počet cyklov Index Read neprekračuje počet cyklov Read 1 a Read 2.
- 5 **[Voliteľné]** Ak používate vlastné priméry, označte políčka pri použitých priméroch. Ďalšie informácie nájdete v dokumente *Spríevodca vlastnými primérmí NextSeq (dokument č. 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** (Čítanie 1) – Vlastný primér pre Read 1 (Čítanie 1).
 - ▶ **Index 1** – Vlastný primér pre Index 1.
 - ▶ **Index 2** – Vlastný primér pre Index 2.
 - ▶ **Read 2** (Čítanie 2) – Vlastný primér pre Read 2 (Čítanie 2).

- 6 **[Voliteľné]** Stlačením tlačidla **Advanced Settings**  (Pokročilé nastavenia) zmeňte parametre chodu.
- ▶ V rozbaľovacom zozname Recipe (Návod) vyberte návod. Uvedené sú iba kompatibilné návody.
 - ▶ **Output folder location** (Umiestnenie výstupného priečinka) – Zmeňte umiestnenie výstupného priečinka pre aktuálny chod. Vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do sieťového umiestnenia.
 - ▶ **Included file** (Zahrnutý súbor) – Vyberte súbory, ktoré chcete zahrnúť do výstupného priečinka, pretože by mohli byť užitočné v prípade, že bude potrebná ďalšia analýza. Ide napríklad o súbory manifestov a zoznamy vzoriek.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Vyčistiť spotrebný materiál pre tento chod) – Nastavenie zmeňte, ak chcete automaticky vyčistiť spotrebný materiál po aktuálnom chode.
 - ▶ **Use run monitoring for this run** (Použiť monitorovanie chodu pre tento chod) – Nastavenie zmeňte, ak chcete použiť monitorovanie chodu v systéme BaseSpace.
- 7 Vyberte možnosť **Next** (Ďalej).

Revízia kontrol pred spustením chodu

Softvér vykoná automatickú kontrolu systému pred spustením chodu. Počas kontroly sa na obrazovke zobrazia tieto indikátory:

- ▶ **Sivý**  **znak začiarknutia** – Kontrola ešte nebola vykonaná.
- ▶ **Ikona**  **priebehu** – Kontrola prebieha.
- ▶ **Zelený**  **znak začiarknutia** – Kontrola úspešná.
- ▶ **Červené X**  – Kontrola neúspešná. Každá položka, u ktorej kontrola bola neúspešná, si vyžaduje akciu pred ďalším pokračovaním. Pozrite si časť *Odstránenie chýb automatickej kontroly na strane 44*.

Prebiehajúcu automatickú kontrolu pred spustením chodu zastavíte stlačením tlačidla **Cancel** (Zrušiť). Kontrolu opätovne spustíte stlačením tlačidla **Retry** (Znova). Kontrola sa obnoví pri prvej nedokončenej alebo neúspešnej kontrole.

Výsledky každej jednotlivkej kontroly v rámci kategórie si zobrazíte výberom karty Category (Kategória).

Ak prístroj nie je nakonfigurovaný na automatické spustenie chodu, chod spustíte po ukončení automatickej kontroly pred spustením.

Spustenie chodu

Po dokončení kontroly pred spustením chodu vyberte možnosť **Start** (Spustiť). Spustí sa sekvenovací chod.

Ak chcete nakonfigurovať systém tak, aby sa chod automaticky spustil po úspešnej kontrole, pozrite si časť *Nastavenie možností nastavenia chodu na strane 13*.



UPOZORNENIE

Musíte zostať prihlásení do systému Windows. Ak sa počas sekvenovacieho chodu odhlásite zo systému Windows, chod sa zastaví.

POZNÁMKA Reagencie sa nemôžu ponechať nečinne v prístroji viac ako 24 hodín.

Monitorovanie priebehu chodu

- 1 Akonáhle sa metriky chodu zobrazia na obrazovke, monitorujte priebeh chodu, intenzity a kvalitatívne skóre.









POZNÁMKA Po výbere domovskej obrazovky už nie je možné vrátiť sa na obrazovku so zobrazením metrík chodu. Metrika chodu je však dostupná na BaseSpace, prípadne sa dá zobraziť na samostatnom počítači pomocou softvéru Sequencing Analysis Viewer (SAV).

Cykly s cieľom získania metrík chodu

Metriky chodu sa zobrazujú na rôznych miestach v rámci chodu.

- ▶ Keď prebiehajú kroky tvorby klastrov, metriky sa nezobrazujú.
- ▶ Prvých 5 cyklov je vyhradených na tvorbu šablón.
- ▶ Metriky chodu sa zobrazujú po 25. cykle. Súčasne sa zobrazuje hustota klastrov, klastre prechádzajúce filtrom, výťažnosť a kvalitatívne skóre.

Prenos údajov

Stav	Local Run Manager (Správca lokálnych chodov)	Výstupný priečnik
Pripojené		
Pripojené a prenášané údaje		
Odpojené		
Vypnuté		

Ak sa počas chodu preruší prenos údajov, údaje sa dočasne uložia v počítači prístroja. Po obnovení pripojenia sa prenos údajov automaticky obnoví. Ak sa prepojenie neobnoví pred ukončením chodu, manuálne preneste údaje z počítača prístroja ešte pred spustením ďalšieho chodu.

Služba Universal Copy Service

Súčasťou prístroja NextSeq 550Dx je aj služba Universal Copy Service. RTA2 vyžaduje, aby služba skopírovala súbory zo zdrojového umiestnenia do cieľového umiestnenia a spracovala žiadosti o kopírovanie v prijatom poradí. Ak sa vyskytne výnimka, vyžiada sa skopírovanie súboru podľa počtu súborov vo fronte.

Softvér Sequencing Analysis Viewer

Softvér Sequencing Analysis Viewer zobrazuje metriku sekvenovania vygenerovanú počas chodu. Metrika sa zobrazuje v podobe grafov, diagramov a tabuliek založených na údajoch vygenerovaných softvérom RTA a zapísaných do súborov InterOp. Metrika sa v priebehu chodu aktualizuje. Výberom možnosti **Refresh** (Obnoviť) si kedykoľvek počas chodu zobrazíte aktualizovanú metriku. Ďalšie informácie nájdete v časti *Používateľská príručka softvéru Sequencing Analysis Viewer (časť č. 15020619)*.

Softvér Sequencing Analysis Viewer je súčasťou softvéru nainštalovaného v počítači prístroja. Softvér Sequencing Analysis Viewer si môžete nainštalovať aj do iného počítača pripojeného na rovnakú sieť ako prístroj a sledovať metriku chodu na diaľku.

Automatické prepláchnutie po ukončení chodu

Po ukončení sekvenovania softvér iniciuje automatické prepláchnutie po ukončení chodu pomocou preplachovacieho roztoku, ktorý je k dispozícii v kazete s pufrom, a NaOCl, ktorý je v kazete s reagensiami.

Automatické prepláchnutie po ukončení chodu trvá približne 90 minút. Po ukončení prepláchnutia sa aktivuje tlačidlo Home (Domov). Výsledky sekvenovania zostanú počas preplachovania zobrazené na obrazovke.

Po prepláchnutí

Po prepláchnutí zostanú nasávacie trubičky v dolnej polohe, aby sa zabránilo vniknutiu vzduchu do systému. Kazety ponechajte na mieste až do nasledujúceho chodu.

Kapitola 4 Skenovanie

Úvod	27
Pracovný postup skenovania	28
Stiahnutie priečinka DMAP	28
Vloženie čipu BeadChip do adaptéra	29
Nastavenie skenovania	30
Monitorovanie priebehu skenovania	32

Úvod

Na vykonanie skenovania na prístroji NextSeq 550Dx budete potrebovať tieto komponenty chodu:

- ▶ hybridizovaný a napustený čip BeadChip
- ▶ adaptér čipu BeadChip na opakované použitie
- ▶ súbory Decode Map (DMAP) pre používaný čip BeadChip
- ▶ súbor manifestu pre typ používaného čipu BeadChip
- ▶ súbor klastra pre typ používaného čipu BeadChip

Výstupné súbory sa generujú počas skenovania a následne sa zaraďujú do frontu na prenos do určeného výstupného priečinka.

Vykonajte analýzu pomocou softvéru BlueFuse Multi, ktorý vyžaduje, aby údaje skenovania boli dostupné vo formáte súboru primárnej analýzy genotypu (GTC). Prístroj NextSeq 550Dx štandardne generuje normalizované údaje a súvisiace primárne analýzy genotypu vo formáte súboru GTC. Voliteľne možno prístroj nakonfigurovať na generovanie ďalších súborov údajov intenzity (IDAT). Ďalšie informácie nájdete v časti *Konfigurácia skenovania čipu BeadChip* na strane 53.

Decode File Client

Priečink DMAP obsahuje informácie, ktoré identifikujú umiestnenie guľôčok na čipe BeadChip a zároveň kvantifikujú signál súvisiaci s každou guľôčkou. Priečink DMAP je jedinečný pre každý čiarový kód čipu BeadChip.

Nástroj Decode File Client vám umožní sťahovanie priečinkov DMAP priamo zo serverov spoločnosti Illumina pomocou štandardného protokolu HTTP.

Prístup k nástroju Decode File Client získate na [stránke podpory nástroja Decode File Client](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) na webovej lokalite spoločnosti Illumina (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Nástroj Decode File Client nainštalujte do počítača s prístupom k sieťovému umiestneniu priečinka DMAP.

Ďalšie informácie nájdete v časti *Stiahnutie priečinka DMAP* na strane 28.

Súbory manifestov a súbory klastrov

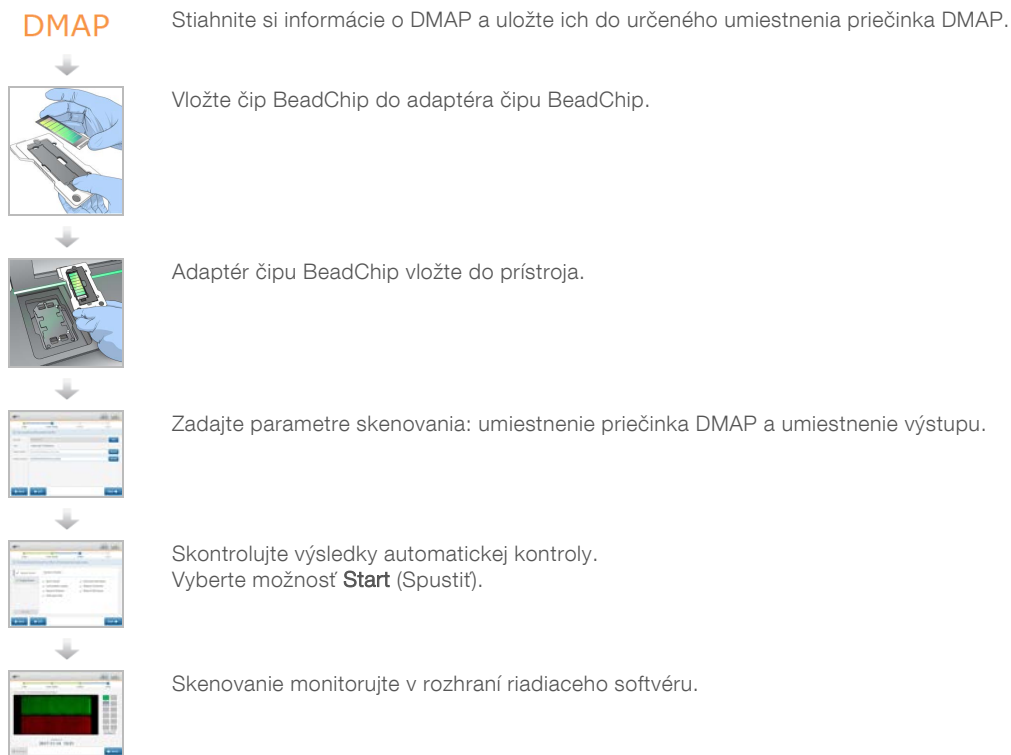
Pri každom čipe BeadChip softvér vyžaduje prístup k súboru manifestu a súboru klastra. Každý súbor manifestu a klastra je pre daný typ čipu BeadChip jedinečný. Musia sa používať súbory klastrov, ktoré majú v názve text NS550. Tieto súbory sú kompatibilné so systémom NextSeq 550Dx.

- ▶ **Súbor manifestu** – Súbory manifestov opisujú SNP alebo obsah sondy na čipe BeadChip. Súbory manifestov používajú formát súboru *.bpm.
- ▶ **Súbory klastrov** – Súbory klastrov opisujú pozície klastrov pre čipy na genotypizáciu Illumina. Používajú sa pri analýze údajov na stanovenie genotypov. Súbory klastrov používajú formát súboru *.egt.

Umiestnenie súborov sa zadáva na obrazovke BeadChip Scan Configuration (Konfigurácia skenovania čipu BeadChip). Na domovskej obrazovke softvéru NCS vyberte možnosť **Manage Instrument** (Spravovať prístroj), **System Configuration** (Konfigurácia systému) a potom **BeadChip Scan Configuration** (Konfigurácia skenovania čipu BeadChip).

Po nainštalovaní prístroja NextSeq 550Dx zástupca spoločnosti Illumina tieto súbory stiahne a do riadiaceho softvéru zadá danú cestu. Tieto súbory nie je potrebné meniť s výnimkou prípadu straty alebo dostupnosti novej verzie. Ďalšie informácie nájdete v časti *Nahradenie súborov manifestov alebo súborov klastrov na strane 50*.

Pracovný postup skenovania



Stiahnutie priečinka DMAP

K priečinku DMAP môžete získať prístup pomocou nástroja Decode File Client použitím účtu alebo čipu BeadChip (predvolené zobrazenie).

Prístup k priečinku DMAP podľa účtu

- 1 Na hlavnej karte nástroja Decode File Client vyberte možnosť sťahovania:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ All BeadChips not yet downloaded (Všetky ešte nesciahnuté čipy BeadChip)
 - ▶ All BeadChips (Všetky čipy BeadChip)
 - ▶ Čipy BeadChip podľa nákupnej objednávky
 - ▶ Čipy BeadChip podľa čiarového kódu
- 2 Zadajte požadované informácie.

- 3 Vyhľadajte priečinok DMAP, ktorý chcete stiahnuť.
- 4 Uistite sa, že v cieľovom mieste sťahovania máte dostatok voľného miesta.
- 5 Spustite sťahovanie. Na karte Download Status and Log (Protokol a stav sťahovania) si pozrite stav sťahovania.
- 6 Priečinok DMAP uložte do jeho určeného umiestnenia.

Prístup k priečinku DMAP podľa čipu BeadChip

- 1 Čipy BeadChip identifikujte pomocou 2 z týchto možností:
 - ▶ Čiarový kód čipu BeadChip
 - ▶ ID poľa čipov BeadChip
 - ▶ Číslo nákupnej objednávky
 - ▶ Číslo predajnej objednávky
- 2 Vyhľadajte priečinok DMAP, ktorý chcete stiahnuť.
- 3 Uistite sa, že v cieľovom mieste sťahovania máte dostatok voľného miesta.
- 4 Spustite sťahovanie. Na karte Download Status and Log (Protokol a stav sťahovania) si pozrite stav sťahovania.
- 5 Priečinok DMAP uložte do jeho určeného umiestnenia.

Vloženie čipu BeadChip do adaptéra

- 1 Zatlačte na príchytke adaptéra. Príchytka sa po miernom naklonení dozadu otvorí.
- 2 Uchopte čip BeadChip za okraje. Držte ho tak, aby bol čiarový kód v blízkosti príchytky, a potom ho umiestnite na zníženú plochu adaptéra.

Obrázok 19 Vloženie čipu BeadChip do adaptéra



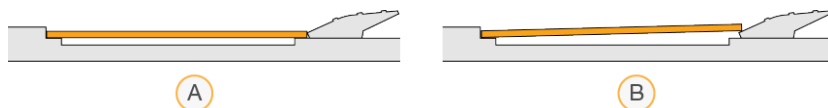
- 3 Pomocou otvorov na oboch stranách čipu BeadChip skontrolujte, či je čip usadený na zníženej ploche adaptéra.

Obrázok 20 Usadenie a upevnenie čipu BeadChip



- 4 Príchytku jemne uvoľnite a čip BeadChip upevnite.
- 5 Čip BeadChip skontrolujte z boku, či je rovno usadený na adaptéri. V prípade potreby polohu čipu BeadChip upravte.

Obrázok 21 Kontrola polohy čipu BeadChip



- A Správna poloha – Čip BeadChip leží na adaptéri po uvoľnení príchytky rovno.
B Nesprávna poloha – Čip BeadChip neleží na adaptéri po uvoľnení príchytky rovno.

Nastavenie skenovania

- 1 Na domovskej obrazovke vyberte možnosť **Experiment** a potom **Scan** (Skenovať). Otvoria sa dvierka snímacieho priečinka, vysunie sa spotrebný materiál z predchádzajúceho chodu (ak existuje) a otvorí sa rad obrazoviek nastavenia chodu. Krátke oneskorenie je normálne.

Odstránenie spotrebného materiálu sekvenovania

Ak je pri nastavovaní skenovania prítomný použitý spotrebný materiál sekvenovania, softvér vás pred vykonaním ďalšieho kroku vyzve, aby ste vybrali kazetu s reagensiami a kazetu s pufrom.

- 1 Po výzve odstráňte použitý spotrebný materiál sekvenovania pochádzajúci z predošlého sekvenovacieho chodu.
 - a Z priečinka na reagensie vyberte kazetu s reagensiami. Nepoužitý obsah zlikvidujte v súlade s príslušnými predpismi.
 - b Z priečinka na pufer vyberte použitú kazetu s pufrom.



VAROVANIE

Táto súprava reagencií obsahuje potenciálne nebezpečné chemikálie. K osobným zraneniam môže dôjsť v dôsledku vdychnutia, požitia, kontaktu s pokožkou a kontaktu s očami. Noste ochranné prostriedky vrátane ochrany očí, rukavíc a laboratórneho plášťa, ktoré sú vhodné pre toto nebezpečenstvo vystavenia. S použitými reagensiami manipulujte ako s chemickým odpadom a likvidujte ich v súlade s platnými regionálnymi, národnými a miestnymi zákonmi a predpismi. Ďalšie informácie o ochrane životného prostredia, zdravia a bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov na stránke support.illumina.com/sds.html.

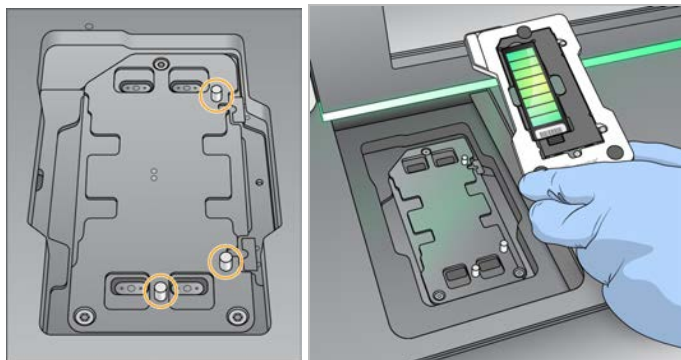
- 2 Zo snímacieho priečinka vyberte prietokový článok.

- 3 Zatvorte dvierka priečinka s reagentami a priečinka s pufrom.

Vloženie adaptéra čipu BeadChip

- 1 Na umiestnenie adaptéra čipu BeadChip na plochu použite zarovnávacie kolíky.

Obrázok 22 Vloženie adaptéra čipu BeadChip





- 2 Vyberte možnosť **Load** (Zasunúť).
Dvierka sa automaticky zatvoria, na obrazovke sa zobrazí ID čipu BeadChip a skontrolujú sa snímače. Krátke oneskorenie je normálne. Ak čiarový kód čipu BeadChip nie je možné prečítať, zobrazí sa dialógové okno, kde budete môcť čiarový kód zadať ručne. Pozrite si časť *Softvér nedokáže prečítať čiarový kód čipu BeadChip na strane 48*.
- 3 Vyberte možnosť **Next** (Ďalej).

Nastavenie skenovania

- 1 Na obrazovke Scan Setup (Nastavenie skenovania) potvrdíte tieto informácie:
 - ▶ **Barcode** (Čiarový kód) – Softvér po vložení čipu BeadChip načíta jeho čiarový kód. Ak bol čiarový kód zadaný ručne, ďalšie zmeny umožní zobrazené tlačidlo Edit (Upraviť).
 - ▶ **Type** (Typ) – Pole typu čipu BeadChip sa vyplní automaticky na základe čiarového kódu čipu BeadChip.
 - ▶ **DMAP Location** (Umiestnenie DMAP) – Umiestnenie priečinka DMAP sa zadáva na obrazovke BeadChip Scan Configuration (Konfigurácia skenovania čipu BeadChip). Ak chcete zmeniť iba umiestnenie aktuálneho skenu, vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do správneho umiestnenia.
 - ▶ **Output Location** (Výstupné umiestnenie) – Umiestnenie priečinka DMAP sa zadáva na obrazovke BeadChip Scan Configuration (Konfigurácia skenovania čipu BeadChip). Ak chcete zmeniť iba umiestnenie aktuálneho skenu, vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do preferovaného umiestnenia.
- 2 Vyberte položku **Next** (Ďalej).

Revízia kontrol pred spustením chodu

Softvér vykoná automatickú kontrolu systému pred spustením chodu. Počas kontroly sa na obrazovke zobrazia tieto indikátory:

- ▶ **Sivý**  **znak začiarknutia** – Kontrola ešte nebola vykonaná.
- ▶ **Ikona**  **priebehu** – Kontrola prebieha.

- ▶ **Zelený ✓ znak začiarknutia** – Kontrola úspešná.
- ▶ **Červené X ✗** – Kontrola neúspešná. Každá položka, u ktorej kontrola bola neúspešná, si vyžaduje akciu pred ďalším pokračovaním. Pozrite si časť *Odstránenie chýb automatickej kontroly na strane 44*.

Prebiehajúcu automatickú kontrolu pred spustením chodu zastavíte stlačením tlačidla **Cancel** (Zrušiť). Kontrolu opätovne spustíte stlačením tlačidla **Retry** (Znova). Kontrola sa obnoví pri prvej nedokončenej alebo neúspešnej kontrole.

Výsledky každej jednotlivej kontroly v rámci kategórie si zobrazíte výberom karty Category (Kategória).

Ak prístroj nie je nakonfigurovaný na automatické spustenie chodu, chod spustíte po ukončení automatickej kontroly pred spustením.

Spustenie skenovania

Po dokončení automatizovanej kontroly vyberte možnosť **Start** (Spustiť). Spustí sa skenovanie.

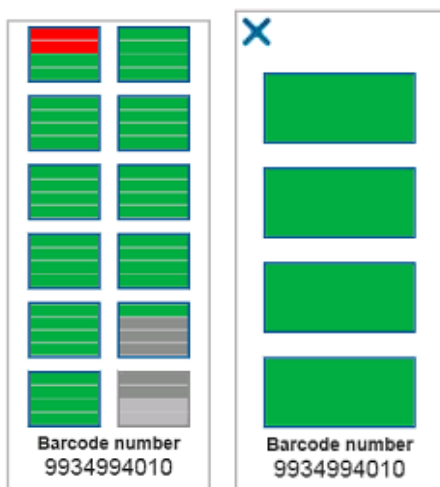
Ak chcete nakonfigurovať systém tak, aby sa skenovanie spustilo automaticky po úspešnej kontrole, pozrite si časť *Nastavenie možností nastavenia chodu na strane 13*.

Monitorovanie priebehu skenovania

- 1 Na monitorovanie priebehu skenovania použite snímku čipu BeadChip. Každá farba snímky signalizuje stav skenovania.
 - ▶ **Svetlosivá** – nenaskenované.
 - ▶ **Tmavosivá** – naskenované, no nezaregistrované.
 - ▶ **Zelená** – úspešne naskenované a zaregistrované.
 - ▶ **Červená** – skenovanie a registrácia neboli úspešné.

Ak dôjde k zlyhaniu registrácie, môžete opätovne skenovať vzorky obsahujúce chybné časti. Pozrite si časť *Zlyhanie skenovania čipu BeadChip na strane 49*.
- 2 Výberom snímky čipu BeadChip prepínajte medzi úplným a podrobným zobrazením vybranej vzorky.
 - ▶ Úplné zobrazenie zobrazí vzorky na čipe BeadChip a časti v rámci každej vzorky.
 - ▶ Podrobné zobrazenie zobrazí každú časť v rámci vybranej vzorky.

Obrázok 23 Snímka čipu BeadChip: Úplné zobrazenie a podrobné zobrazenie



POZNÁMKA Ukončenie skenovania je konečné. Ak skenovanie ukončíte ešte pred dokončením, údaje skenovania sa *neuložia*.

Prenos údajov

Po skončení skenovania sa údaje zaradia do frontu na prenos do výstupného priečinka skenovania. Údaje sa dočasne zapisujú do počítača prístroja. Dočasný priečink sa z počítača prístroja vymaže automaticky po spustení následného skenovania.

Čas potrebný na prenos údajov závisí od vášho sieťového pripojenia. Pred spustením následného skenovania skontrolujte, či boli údaje zapísané do výstupného priečinka. Skontrolovať to môžete tým, že si overíte, či sa súbory GTC nachádzajú v priečinku čiarového kódu. Viac informácií nájdete v časti *Štruktúra výstupného priečinka skenovania na strane 63*.

Ak dôjde k prerušeniu pripojenia, prenos údajov bude automaticky pokračovať po obnovení pripojenia. Každý súbor má po zaradení do frontu na prenos do výstupného priečinka nastavený časovač 1 hodinu. Po vypršaní tohto času alebo v prípade reštartovania prístroja ešte pred dokončením prenosu sa údaje do výstupného priečinka nezapíšu.

Kapitola 5 Údržba

Úvod	35
Vykonanie manuálneho prepláchnutia	35
Výmena vzduchového filtra	38
Aktualizácie softvéru	39
Možnosti reštartovania a vypnutia	41

Úvod

Postupy údržby zahŕňajú manuálne umývanie prístroja a výmenu vzduchového filtra. Uvádzajú sa aj možnosti vypnutia a opätovného zavedenia prístroja.

- ▶ **Preplachovanie prístroja** – Automatické prepláchnutie po ukončení chodu po každom sekvenovacom chode pomáha udržiavať výkonnosť prístroja. Za určitých okolností je však potrebné pravidelné manuálne preplachovanie. Pozrite si časť *Vykonanie manuálneho prepláchnutia na strane 35*.
- ▶ **Výmena vzduchového filtra** – Pravidelnou výmenou vzduchového filtra sa zabezpečí správny prietok vzduchu prístrojom.

Preventívna údržba

Spoločnosť Illumina odporúča naplánovať servis v rámci preventívnej údržby každý rok. Ak nemáte uzatvorenú servisnú zmluvu, obráťte sa na miestneho manažéra pre klientov alebo na technickú podporu spoločnosti Illumina, aby ste sa dohodli na platenom servise v rámci preventívnej údržby.

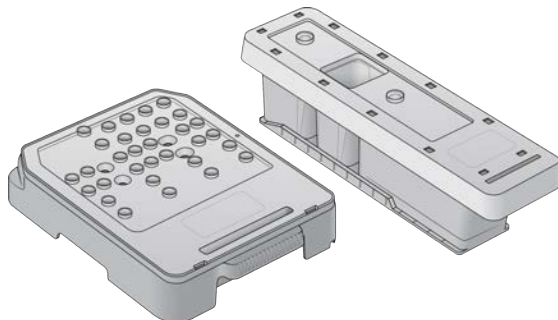
Vykonanie manuálneho prepláchnutia

Manuálne prepláchnutia sa spúšťajú na domovskej obrazovke. Prepláchnutie možno vykonať pomocou možností Quick Wash (Rýchle prepláchnutie) a Manual Post-Run Wash (Manuálne prepláchnutie po ukončení chodu).

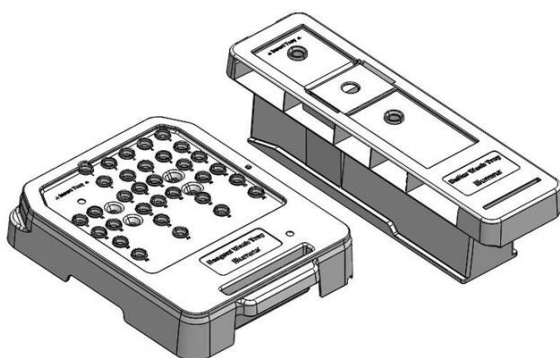
Typy prepláchnutia	Popis
Rýchle prepláchnutie Trvanie: 20 min.	System sa prepláchnie pomocou preplachovacieho roztoku laboratórnej vody a Tween 20 (kazeta na prepláchnutie pufra) dodávaného používateľom. <ul style="list-style-type: none">• Počas obdobia, keď je prístroj nečinný a sú v ňom zasunuté kazety s pufrom a reagensiami, je prepláchnutie potrebné vykonať každých 14 dní.• Počas obdobia, keď je prístroj v suchom stave (kazeta s pufrom a kazeta s reagensiami sú odstránené), je prepláchnutie potrebné vykonať každých 7 dní.
Manuálne prepláchnutie po ukončení chodu Trvanie: 90 min.	System sa prepláchnie preplachovacím roztokom laboratórnej vody a Tween 20 (kazeta na prepláchnutie pufra) dodávaného používateľom a 0,12 % chlórnanom sodným (kazeta na prepláchnutie reagensii). Vyžaduje sa v prípade, že sa nevykonalo automatické prepláchnutie po ukončení chodu.

Na manuálne prepláchnutie je potrebná kazeta na prepláchnutie reagensii a kazeta na prepláchnutie pufra, ktoré sú súčasťou dodávky prístroja, a použitý prietokový článok. Použitý prietokový článok sa môže použiť na prepláchnutie prístroja až 20-krát.

Obrázok 24 Kazeta na prepláchnutie reagensí a kazeta na prepláchnutie pufru v pôvodnom štýle.



Obrázok 25 Kazeta na prepláchnutie reagensí a kazeta na prepláchnutie pufru v novom štýle.



Príprava na manuálne prepláchnutie po ukončení chodu

Zvoľte si buď prípravu na manuálne prepláchnutie po ukončení chodu, alebo prípravu na rýchle prepláchnutie (ďalšia časť). Ak máte v úmysle vykonať manuálne prepláchnutie po ukončení chodu, preskočte časť o rýchlych prepláchnutiach a pokračujte časťou *Vloženie použitého prietokového článku a preplachovacích kaziet na strane 37*.

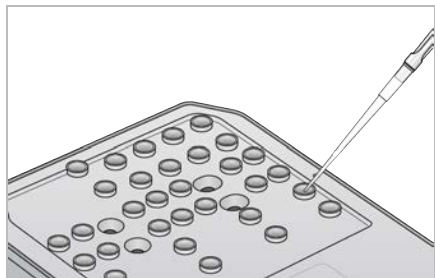
Spotrebný materiál dodávaný používateľom	Objem a popis
NaOCl	1 ml, zriedený na 0,12 % Naplní sa do kazety na prepláchnutie reagensí (pozícia č. 28)
100 % Tween 20 Laboratórna voda	Používa sa na prípravu 125 ml 0,05 % preplachovacieho roztoku Tween 20 Naplní sa do kazety na prepláchnutie pufru (stredný zásobník)

POZNÁMKA Vždy používajte čerstvý roztok NaOCl pripravený počas posledných **24 hodín**. Ak pripravíte objem presahujúci 1 ml, zvyšný roztok uskladnite pri teplote od 2 °C do 8 °C a spotrebujte ho do 24 hodín. V opačnom prípade zvyšný roztok NaOCl zlikvidujte.

- 1 ml 0,12 % NaOCl získate zmiešaním týchto objemov v mikrocentrifugačnej skúmavke:
 - ▶ 5 % NaOCl (24 µl)
 - ▶ Laboratórna voda (976 µl)
- 2 Skúmavku prevráťte a premiešajte.

- Do kazety na prepláchnutie reagensií pridajte 1 ml 0,12 % NaOCl. Správny zásobník zodpovedá pozícii č. 28 na vopred naplnenej kazete.

Obrázok 26 Naplnenie NaOCl



- Na vytvorenie 0,05 % preplachovacieho roztoku Tween 20 zmiešajte tieto objemy:
 Kazeta na prepláchnutie pufru v pôvodnom štýle
 - ▶ 100 % Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Laboratórna voda (125 ml)
 - ▶ Do stredného zásobníka kazety na prepláchnutie pufru pridajte 125 ml preplachovacieho roztoku.
 Kazeta na prepláchnutie pufru v novom štýle
 - ▶ 100 % Tween 20 (75 µl)
 - ▶ Laboratórna voda (150 ml)
 - ▶ Do stredného zásobníka kazety na prepláchnutie pufru pridajte 150 ml preplachovacieho roztoku.
- Vyberte možnosť **Perform Wash** (Vykonať prepláchnutie) a potom **Manual Post-Run Wash** (Manuálne prepláchnutie po ukončení chodu).

Príprava na rýchle prepláchnutie

Prípravu na rýchle prepláchnutie môžete vykonať podľa popisu nižšie namiesto popisu uvedeného v časti *Príprava na manuálne prepláchnutie po ukončení chodu na strane 36*.

Spotrebný materiál dodávaný používateľom	Objem a popis
100 % Tween 20 Laboratórna voda	Použije sa na prípravu 40 ml 0,05 % preplachovacieho roztoku Tween 20 Naplní sa do kazety na prepláchnutie pufru (stredný zásobník)

- Na vytvorenie 0,05 % preplachovacieho roztoku Tween 20 zmiešajte tieto objemy:
 - ▶ 100 % Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Laboratórna voda (40 ml)
- Do stredného zásobníka kazety na prepláchnutie pufru pridajte 40 ml preplachovacieho roztoku.
- Vyberte možnosť **Perform Wash** (Vykonať prepláchnutie) a potom **Quick Wash** (Rýchle prepláchnutie).

Vloženie použitého prietokového článku a preplachovacích kaziet

- Ak sa použitý prietokový článok v prístroji nenachádza, vložte ho do prístroja. Vyberte možnosť **Load** (Zasunúť) a potom **Next** (Ďalej).

- 2 Vyberte zásobník na zber použitých reagensí a jeho obsah zlikvidujte v súlade s platnými normami.



VAROVANIE

Táto súprava reagensí obsahuje potenciálne nebezpečné chemikálie. K osobným zraneniam môže dôjsť v dôsledku vdýchnutia, požitia, kontaktu s pokožkou a kontaktu s očami. Noste ochranné prostriedky vrátane ochrany očí, rukavíc a laboratórneho pláštia, ktoré sú vhodné pre toto nebezpečenstvo vystavenia. S použitými reagensiami manipulujte ako s chemickým odpadom a likvidujte ich v súlade s platnými regionálnymi, národnými a miestnymi zákonmi a predpismi. Ďalšie informácie o ochrane životného prostredia, zdravia a bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov na stránke support.illumina.com/sds.html.

- 3 Do priečinka na pufer vložte prázdny zásobník na zber použitých reagensí a zatlačte ho až na doraz.
- 4 Ak sa v prístroji nachádza použitá kazeta s pufrom z prechádzajúceho chodu, odstráňte ju.
- 5 Zasuňte kazetu na prepláchnutie pufru obsahujúcu preplachovací roztok.
- 6 Ak sa v prístroji nachádza použitá kazeta s reagensiami z prechádzajúceho chodu, odstráňte ju.
- 7 Zasuňte kazetu na prepláchnutie reagensí.
- 8 Vyberte položku **Next** (Ďalej). Automaticky sa začne kontrola pred spustením preplachovania.

Spustenie preplachovania

- 1 Vyberte možnosť **Start** (Spustiť).
- 2 Po ukončení preplachovania vyberte možnosť **Home** (Domov).

Po prepláchnutí

Po prepláchnutí zostanú nasávacie trubičky v dolnej polohe, aby sa zabránilo vniknutiu vzduchu do systému. Kazety ponechajte na mieste až do nasledujúceho chodu.

Výmena vzduchového filtra

Nové systémy sa dodávajú s tromi náhradnými vzduchovými filtermi. Tie by sa mali uskladniť a použiť, keď prístroj vyšle výzvu na výmenu filtra.

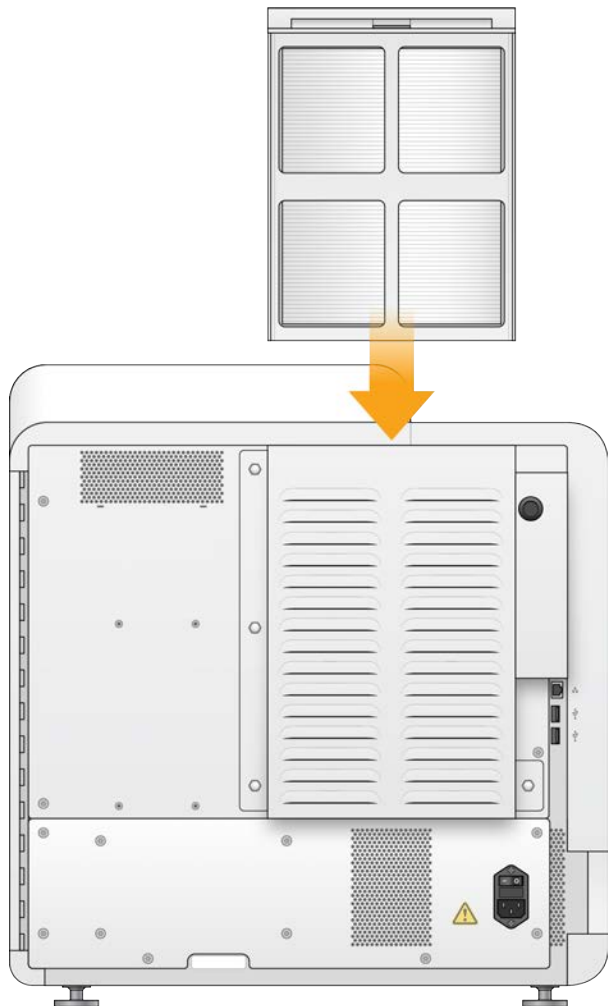
Vzduchový filter zabezpečuje prúdenie vzduchu prístrojom. Softvér zobrazí upozornenie na výmenu vzduchového filtra každých 90 dní. Po zobrazení výzvy vyberte možnosť **Remind in 1 day** (Pripomenúť o 1 deň), prípadne vykonajte nasledujúci postup a vyberte možnosť **Filter Changed** (Filter vymenený). Po výbere možnosti **Filter Changed** (Filter vymenený) dôjde k vynulovaniu odpočítavania 90 dní.

- 1 Vybaľte nový vzduchový filter a na rám filtra zapíšte dátum jeho inštalácie.
- 2 Na zadnej časti prístroja zatlačte na hornú časť držiaka filtra a tým ho uvoľnite.
- 3 Uchopte hornú časť držiaka filtra a úplne ho vyberte z prístroja.
- 4 Vyberte starý vzduchový filter a zlikvidujte ho.
- 5 Do držiaka vložte nový vzduchový filter.

POZNÁMKA V prípade opačného založenia nebude vzduchový filter správne fungovať. Dbajte na to, aby ste vzduchový filter do držiaka vložili tak, aby bola viditeľná zelená šípka „nahor“ a súčasne nebol viditeľný varovný štítok. Šípka má ukazovať smerom k rúčke držiaka filtra.

- 6 Držiak filtra zasunúte do prístroja. Zatlačte na vrchnú časť držiaka filtra, kým nezacvakne na miesto.

Obrázok 27 Vloženie vzduchového filtra




Aktualizácie softvéru

Aktualizácie softvéru tvoria spoločne softvérovú zostavu, ktorá sa označuje ako systémový balík a obsahuje tento softvér:

- ▶ Riadiaci softvér NextSeq (NCS)
- ▶ Návody NextSeq
- ▶ RTA2
- ▶ Servisný softvér NextSeq (NSS)
- ▶ Softvér Sequencing Analysis Viewer (SAV)
- ▶ BaseSpace Brokerr

Softvérové aktualizácie môžete nainštalovať automaticky použitím internetového pripojenia, prípadne manuálne zo sieťového alebo USB umiestnenia.

- ▶ **Automatické aktualizácie** – Na prístroji pripojenom do siete s prístupom na internet sa na tlačidle **Manage Instrument** (Spravovať prístroj) na domovskej obrazovke objaví ikona , čo značí, že je k dispozícii aktualizácia.
- ▶ **Manuálne aktualizácie** – Inštalačný program systémového balíka si stiahnite zo [stránky podpory prístroja NextSeq 550Dx](#) na webovej lokalite spoločnosti Illumina.

Automatická aktualizácia softvéru

- 1 Vyberte možnosť **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
- 2 Vyberte možnosť **Software Update** (Aktualizácia softvéru).
- 3 Vyberte možnosť **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Inštalovať aktualizáciu, ktorá už je stiahnutá zo systému BaseSpace).
- 4 Výberom možnosti **Update** (Aktualizovať) spustíte aktualizáciu. Otvorí sa dialógové okno, kde potvrdíte príkaz.
- 5 Postupujte podľa výziev v sprievodcovi inštaláciou:
 - a Prijmite licenčnú zmluvu.
 - b Prečítajte si informácie o vydaní.
 - c Prečítajte si zoznam softvéru, ktorý je súčasťou aktualizácie.

Po dokončení aktualizácie sa riadiaci softvér automaticky reštartuje.

POZNÁMKA Ak je zahrnutá aktualizácia firmvéru, po jej vykonaní je nevyhnutné reštartovať systém.

Manuálna aktualizácia softvéru

- 1 Z webovej lokality spoločnosti Illumina si stiahnite inštalačný program System Suite (Systémový balík) a uložte ho do sieťového umiestnenia. Prípadne skopírujte inštalačný súbor softvéru na prenosnú USB jednotku.
- 2 Vyberte možnosť **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
- 3 Vyberte možnosť **Software Update** (Aktualizácia softvéru).
- 4 Vyberte možnosť **Manually install the update from the following location** (Manuálne inštalovať aktualizáciu z nasledujúceho umiestnenia).
- 5 Vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do umiestnenia inštalačného súboru softvéru. Potom vyberte možnosť **Update** (Aktualizovať).
- 6 Postupujte podľa výziev v sprievodcovi inštaláciou:
 - a Prijmite licenčnú zmluvu.
 - b Prečítajte si informácie o vydaní.
 - c Prečítajte si zoznam softvéru, ktorý je súčasťou aktualizácie.

Po dokončení aktualizácie sa riadiaci softvér automaticky reštartuje.

POZNÁMKA Ak je zahrnutá aktualizácia firmvéru, po jej vykonaní je nevyhnutné reštartovať systém.

Možnosti reštartovania a vypnutia

Prístup k týmto funkciám získate stlačením tlačidla Reboot/Shutdown (Opätovne spustiť/Vypnúť):

- ▶ Reboot to RUO (Opätovne spustiť do RUO) – Prístroj sa spustí vo výskumnom režime.
- ▶ Restart (Reštart) – Prístroj sa spustí v diagnostickom režime.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Reštart do Dx z RUO) – Prístroj sa spustí v diagnostickom režime.
- ▶ Shutdown (Vypnutie) – Prístroj sa po opätovnom zapnutí spustí v diagnostickom režime.
- ▶ Exit to Windows (Ukončiť a vrátiť sa do systému Windows) – V závislosti od povolení môžete zatvoriť NCS a zobraziť si systém Windows.

Reštart do diagnostického režimu

Použitím príkazu Restart (Reštartovať) bezpečne vypnete prístroj a opätovne ho zavediete do diagnostického režimu. Diagnostický režim je predvoleným režimom pri reštartovaní.

- 1 Vyberte príkaz **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
- 2 Vyberte príkaz **Reboot/Shutdown** (Opätovne zaviesť/Vypnúť).
- 3 Vyberte príkaz **Restart** (Reštartovať).

Vypnutie prístroja

- 1 Vyberte príkaz **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
- 2 Vyberte príkaz **Reboot/Shutdown** (Opätovne spustiť/Vypnúť).
- 3 Vyberte príkaz **Shutdown** (Vypnúť).
Pomocou príkazu Shutdown (Vypnúť) sa bezpečne vypne softvér a napájanie prístroja. Pred opätovným zapnutím prístroja počkajte aspoň 60 sekúnd.

POZNÁMKA Štandardne sa prístroj po zapnutí opätovne spustí v diagnostickom režime.



UPOZORNENIE

Prístroj *nepremiestňujte*. Pri nesprávnom presúvaní prístroja sa môže narušiť optické zarovnanie a môže sa zhoršiť integrita údajov. Ak musíte prístroj premiestniť, obráťte sa na svojho zástupcu spoločnosti Illumina.

Ukončenie a návrat do systému Windows

Príkaz Exit to Windows (Ukončiť a vrátiť sa do systému Windows) umožní prejsť do operačného systému prístroja a akéhokoľvek priečinka v počítači daného prístroja. Týmto príkazom sa bezpečne vypne softvér a vrátite sa do systému Windows. Do systému Windows môže prejsť len používateľ s povereniami správcu.

- 1 Vyberte príkaz **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
- 2 Vyberte príkaz **Reboot/Shutdown** (Opätovne zaviesť/Vypnúť).
- 3 Vyberte príkaz **Exit to Windows** (Ukončiť a vrátiť sa do systému Windows).

Dodatok A Riešenie problémov

Úvod	43
Súbory riešenia problémov	43
Odstránenie chýb automatickej kontroly	44
Zásobník na zber použitých reagencií je plný	46
Pracovný postup rehybridizácie	46
Chyby čipu BeadChip a skenovania	48
Vlastné návody a priečinky návodov	50
RAID Error Message (Chybové hlásenie RAID (redundantné pole nezávislých diskov))	50
Konfigurácia nastavení chodu	51

Úvod

V prípade problémov týkajúcich sa kvality alebo výkonnosti chodu sa obráťte na technickú podporu spoločnosti Illumina. Pozrite si časť *Technická pomoc na strane 69*.

Súbory riešenia problémov

Zástupca technickej podpory spoločnosti Illumina môže na účely riešenia problémov požadovať kópie súborov špecifických pre chod a skenovanie. Obvykle sa na riešenie problémov používajú nasledujúce súbory.

Súbory riešenia problémov pre sekvenovacie chody

Kľúčový súbor	Priečinok	Popis
Súbor s informáciami o chode (RunInfo.xml)	Koreňový priečinok	Obsahuje tieto informácie: <ul style="list-style-type: none">Názov choduPočet cyklov v chodePočet cyklov v každom čítaníČi je čítanie indexovaným čítanímPočet riadkov a dlaždíc na prietokovom článku
Súbor parametrov chodu (RunParameters.xml)	Koreňový priečinok	Obsahuje informácie o parametroch chodu a jeho komponentoch. Informácie zahŕňajú RFID, sériové číslo, číslo dielu a dátum spotreby.
Konfiguračný súbor RTA (RTAConfiguration.xml)	Koreňový priečinok	Obsahuje nastavenia konfigurácie RTA pre chod. Súbor RTAConfiguration.xml sa vytvára na začiatku chodu.
Súbory InterOp (*.bin)	InterOp	Binárne súbory hlásení. Súbory InterOp sa aktualizujú počas chodu.
Súbory protokolov	Protokoly	V súboroch protokolov je uvedený každý krok, ktorý prístroj vykonal pri každom cykle, a zoznam verzií softvéru a firmvéru použitých pri chode. V súbore s názvom [InstrumentName]_CurrentHardware.csv sa nachádza zoznam sériových čísel komponentov prístroja.
Súbory protokolov chýb (*ErrorLog*.txt)	Súbory protokolov RTA	Protokol chýb RTA. Súbory protokolov chýb sa aktualizujú vždy, keď sa vyskytne chyba.
Súbory globálnych protokolov (*GlobalLog*.tsv)	Súbory protokolov RTA	Protokol všetkých udalostí RTA. Súbory globálnych protokolov sa aktualizujú počas chodu.
Súbory protokolu pruhov (*LaneLog*.txt)	Súbory protokolov RTA	Do protokolov sa zaznamenávajú udalosti spracovania RTA. Súbory protokolov pruhov sa aktualizujú počas chodu.

Chyby RTA

Pred riešením problémov týkajúcich sa chýb RTA najprv skontrolujte protokol chýb RTA, ktorý je uložený v priečinku RTALogs. V tomto súbore nie sú uvedené úspešné chody. Pri nahlasovaní problémov službe technickej podpory spoločnosti Illumina použite protokol chýb.

Súbory riešenia problémov s čipovými skenmi

Kľúčový súbor	Priečinok	Popis
Súbor parametrov skenovania (ScanParameters.xml)	Koreňový priečinok	Obsahuje informácie o parametroch skenovania. Informácie obsahujú dátum skenovania, čiarový kód čipu BeadChip, umiestnenie súboru klastra a umiestnenie súboru manifestu.
Súbory protokolov	Protokoly	Súbory protokolov opisujú každý krok, ktorý prístroj vykonal počas skenovania.
Súbory metrik	[Čiarový kód]	Metriky sú uvedené ako metriky vzoriek a metriky častí. [čiarový kód]_sample_metrics.csv – Pre každú vzorku a kanál (červený a zelený) uvádza Percent Off Image, Percent Outliers, P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev a Min Registration Score. [čiarový kód]_section_metrics.csv – Pre každú časť a dlaždicu uvádza Laser Z-position, Through Focus Z-position, Red FWHM, Green FWHM, Red Avg Pixel Intensity, Green Avg Pixel Intensity, Red Registration Score a Green Registration Score.
Súbor preskenovania	[Čiarový kód]	[čiarový kód]_rescan.flowcell – Uvádza umiestnenie dlaždíc upravené na preskenovanie, čo zahŕňa zvýšené prekryvanie jednotlivých dlaždíc.

Odstránenie chýb automatickej kontroly

Ak sa počas automatickej kontroly vyskytnú chyby, na ich odstránenie použite nasledujúce odporúčané kroky.

Kontroly sekvenovacích chodov

V prípade zlyhania kontroly pred spustením chodu sa kazeta s reagensmi RFID (kazeta využívajúca rádiovú frekvenciu na identifikáciu) neuzamkne a môže sa použiť na nasledujúci chod. Prietokový článok, kazeta s reagensmi a identifikácia RFID kazety s pufrom, ktoré môžu byť potrebné na vyriešenie chyby, sa však uzamknú počas inicializácie riadiaceho softvéru. Používateľ preto musí pred reštartom systému vybrať z prístroja prietokový článok, kazetu s reagensmi a kazetu s pufrom. Okrem toho sa identifikácia RFID spotrebného materiálu uzamknú po prepichnutí fóliových tesnení. Po načítaní RFID prietokového článku softvérom sa spustí 7-hodinový časovač, až potom sa prietokový článok považuje za uzamknutý a nepoužiteľný.

Kontroly systému	Odporúčaná akcia
Doors Closed (Dvierka zatvorené)	Presvedčte sa, či sú dvierka priečinka zatvorené.
Consumables Loaded (Spotrebný materiál vložený)	Snímače spotrebného materiálu neregistrujú materiál. Presvedčte sa, či je každý spotrebný materiál správne zasunutý. Na obrazovkách nastavenia chodu vyberte možnosť Back (Späť), vráťte sa ku kroku zasunutia a zopakujte nastavenie chodu.
Required Software (Požadovaný softvér)	Chýbajú kritické komponenty softvéru. Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.

Kontroly systému	Odporúčaná akcia
Instrument Disk Space (Miesto na disku prístroja)	Pevný disk prístroja nemá dostatok miesta na vykonanie chodu. Je možné, že sa nepreniesli údaje z predchádzajúceho chodu. Vymažte údaje o chode z pevného disku prístroja.
Network Connection (Sieťové pripojenie)	Sieťové pripojenie sa prerušilo. Skontrolujte stav siete a fyzické sieťové pripojenie.
Network Disk Space (Miesto na sieťovom disku)	Sieťový server je zaplnený.

Teplota	Odporúčaná akcia
Temperature (Teplota)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Temperature Sensors (Snímače teploty)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Fans (Ventilátory)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.

Systém snímania	Odporúčaná akcia
Imaging Limits (Medze snímania)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Z Steps-and-Settle (Z kroky a vyriešenie)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Bit Error Rate (Bitová chybovosť)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Flow Cell Registration (Registrácia prietokového článku)	Je možné, že prietokový článok nie je správne usadený. <ul style="list-style-type: none"> Na obrazovkách nastavenia chodu vyberte možnosť Back (Späť) a vráťte sa ku kroku nastavenia prietokového článku. Otvoria sa dverka snímacieho priečinka. Vysuňte a znova zasuňte prietokový článok, aby ste sa uistili, že je správne usadený.

Prívod reagensí	Odporúčaná akcia
Valve Response (Reakcia ventilu)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Pump (Čerpadlo)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Buffer Mechanism (Mechanizmus pufra)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Spent Reagents Empty (Vyprázdnenie použitých reagensí)	Vyprázdnite zásobník na zber použitých reagensí a prázdny zásobník opäť zasuňte.

Kontroly čipových skenov

Kontroly systému	Odporúčaná akcia
Doors Closed (Dvierka zatvorené)	Presvedčte sa, či sú dvierka priečinka zatvorené.
Consumables Loaded (Spotrebný materiál vložený)	Snímače spotrebného materiálu neregistrujú materiál. Presvedčte sa, či je každý spotrebný materiál správne zasunutý. Na obrazovkách nastavenia chodu vyberte možnosť Back (Späť), vráťte sa ku kroku zasunutia a zopakujte nastavenie chodu.

Kontroly systému	Odporúčaná akcia
Required Software (Požadovaný softvér)	Chýbajú kritické komponenty softvéru. Vykonať manuálnu aktualizáciu softvéru a obnovte všetky komponenty softvéru.
Verify Input Files (Overenie vstupných súborov)	Presvedčte sa, či je cesta k súboru klastra a súboru manifestu správna a či sú prítomné súbory.
Instrument Disk Space (Miesto na disku prístroja)	Pevný disk prístroja nemá dostatok miesta na vykonanie chodu. Je možné, že sa nepreniesli údaje z predchádzajúceho chodu. Vymažte údaje o chode z pevného disku prístroja.
Network Connection (Sieťové pripojenie)	Sieťové pripojenie sa prerušilo. Skontrolujte stav siete a fyzické sieťové pripojenie.
Network Disk Space (Miesto na sieťovom disku)	Buď je konto BaseSpace plné, alebo je plný sieťový server.

Systém snímania	Odporúčaná akcia
Imaging Limits (Medze snímania)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Z Steps-and-Settle (Z kroky a vyriešenie)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Bit Error Rate (Bitová chybovosť)	Obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Illumina.
Auto-Center (Automatické vycentrovanie)	Vysuňte adaptér čipu BeadChip. Presvedčte sa, či čip BeadChip v adaptéri sedí a potom adaptér znovu zasuňte.

Zásobník na zber použitých reagensí je plný

Chod vždy začínajte s prázdny zásobníkom na zber použitých reagensí.

Ak začnete chod bez vyprázdnenia zásobníka na zber použitých reagensí, snímače systému dajú softvéru pokyn, aby pozastavil chod v prípade, že je zásobník plný. Snímače systému nemôžu pozastaviť chod počas klastrovania, resyntézy na oboch koncoch alebo automatického preplachovania po ukončení chodu.

Keď sa chod pozastaví, otvorí sa dialógové okno s možnosťami zdvihnúť nasávacie trubičky a vyprázdniť plný zásobník.

Vyprázdnenie zásobníka na zber použitých reagensí

- 1 Vyberte možnosť **Raise Sippers** (Zdvihnúť nasávacie trubičky).
- 2 Vyberte zásobník na zber použitých reagensí a jeho obsah náležite zlikvidujte.
- 3 Prázdny zásobník vráťte do priečinka na pufer.
- 4 Vyberte možnosť **Continue** (Pokračovať). Chod sa automaticky obnoví.

Pracovný postup rehybridizácie

Rehybridizačný chod môže byť nevyhnutný v prípade, ak došlo k vygenerovaniu údajov počas prvých niekoľkých cyklov, ktoré vykazujú intenzity pod 2500. Niektoré knižnice s nízkou diverzitou môžu vykazovať intenzity pod 1000. Ide o očakávaný jav, ktorý rehybridizácia nevyrieši.

POZNÁMKA Príkaz End Run (Ukončiť chod) je konečný. V chode nemožno pokračovať, spotrebný materiál chodu nemožno znova použiť a údaje sekvenovania z daného chodu sa neuložia.

Po ukončení chodu softvér vykoná nasledujúce kroky a až potom chod ukončí:

- ▶ Umiestni prietokový článok do bezpečného stavu.
- ▶ Odomkne RFID prietokového článku na neskorší chod.
- ▶ Priradí dátum spotreby rehybridizácie prietokovému článku.
- ▶ Pri dokončených cykloch zapíše protokoly chodu. Oneskorenie je normálne.
- ▶ Obíde automatické prepláchnutie po ukončení chodu.

Po spustení chodu rehybridizácie softvér vykoná nasledujúce kroky potrebné na spustenie chodu:

- ▶ Vytvorí priečinok chodu založený na jedinečnom názve chodu.
- ▶ Skontroluje, či neuplynul dátum spotreby rehybridizácie prietokového článku.
- ▶ Zabezpečí prípravu reagensov. Oneskorenie je normálne.
- ▶ Preskočí krok klastrovania.
- ▶ Odstráni predošlý primér čítania 1.
- ▶ Vykoná hybridizáciu čerstvého priméru čítania 1.
- ▶ Pokračuje na čítanie 1 a zostávajúce prvky chodu založené na špecifikovaných parametroch chodu.

Body ukončenia chodu na rehybridizáciu

Neskoršia rehybridizácia je možná len v prípade, že chod ukončíte v týchto bodoch:

- ▶ **Po 5. cykle** – Po zaregistrovaní šablóny sa zobrazia intenzity, ktoré si vyžadujú prvých 5 cyklov sekvenovania. Aj keď je bezpečné ukončiť chod po 1. cykle, odporúča sa ukončiť ho po 5 cykloch. Chod neukončujte počas vytvárania klastra.
- ▶ **Čítanie 1 alebo Čítanie indexu 1** – Chod ukončíte *pred* spustením resyntézy na oboch koncoch. Po spustení resyntézy na oboch koncoch nemožno prietokový článok uložiť na neskoršiu rehybridizáciu.

Požadovaný spotrebný materiál

Rehybridizačný chod si vyžaduje novú kazetu s reagensami NextSeq 550Dx a kazetu s pufrom bez ohľadu na to, kedy došlo k zastaveniu chodu.

Ukončenie aktuálneho chodu

- 1 Vyberte možnosť **End Run** (Ukončiť chod). Keď sa zobrazí výzva na potvrdenie príkazu, vyberte možnosť **Yes** (Áno).
- 2 Po zobrazení výzvy na uloženie prietokového článku vyberte možnosť **Yes** (Áno). Poznačte si dátum spotreby rehybridizácie.
- 3 Vyberte uložený prietokový článok a uložte ho pri teplote od 2 °C do 8 °C, kým nebudete pripravení nastaviť rehybridizačný chod.

POZNÁMKA Prietokový článok môžete skladovať až 7 dní pri teplote od 2 °C do 8 °C v plastovom zaklápacom puzdre **bez** balenia zachytávača vlhkosti. Na dosiahnutie najlepších výsledkov vykonajte rehybridizáciu uloženého prietokového článku do 3 dní.

Vykonanie manuálneho prepláchnutia

- 1 Na domovskej obrazovke vyberte možnosť **Perform Wash** (Vykonať prepláchnutie).
- 2 Na obrazovke Wash Selection (Výber prepláchnutia) vyberte možnosť **Manual Post-Run Wash** (Manuálne prepláchnutie po ukončení chodu). Pozrite si časť *Vykonanie manuálneho prepláchnutia na strane 35*.

POZNÁMKA Ak ste neodstránili kazetu s reagentami a kazetu s pufrom zo zastaveného chodu, môžete ich použiť na manuálne prepláchnutie. V opačnom prípade vykonajte manuálne prepláchnutie s kazetou na prepláchnutie reagentí a kazetou na prepláchnutie pufra.

Nastavenie nového chodu na karte BaseSpace Prep (Príprava BaseSpace)

- 1 Ak je prístroj nakonfigurovaný pre BaseSpace alebo BaseSpace Onsite, nastavte nový chod na karte Prep (Príprava) použitím rovnakých parametrov, ktoré ste použili pri pôvodnom chode.

TIP Kliknite na kartu Pools (Fondy), vyberte príslušné Pool ID (ID fondu), z ktorého chcete zachovať predošlé nastavenia chodu. Následne priradte novému chodu jedinečný názov.

Nastavenie chodu na prístroji

- 1 Pripravte novú kazetu s reagentami.
- 2 Ak bol uložený prietokový článok skladovaný, nechajte ho ohriať sa na izbovú teplotu (15 až 30 minút).
- 3 Uložený prietokový článok vyčistite a zasuňte ho do prístroja.
- 4 Vyberte zásobník na zber použitých reagentí a jeho obsah náležite zlikvidujte. Potom znova vložte prázdny zásobník.
- 5 Vložte novú kazetu s pufrom a kazetu s reagentami.
- 6 Na obrazovke Run Setup (Nastavenie chodu) vyberte jednu z týchto možností:
 - ▶ **BaseSpace alebo BaseSpace Onsite** – Vyberte chod a potvrdte parametre chodu.
 - ▶ **Standalone** (Samostatne) – Zadať názov chodu a uveďte rovnaké parametre ako pri pôvodnom chode.
- 7 Vyberte možnosť **Next** (Ďalej) a prejdite na kontrolu pred spustením chodu a spustite chod.

Chyby čipu BeadChip a skenovania

Softvér nedokáže prečítať čiarový kód čipu BeadChip

Po zobrazení dialógového okna chyby čiarového kódu si vyberte jednu z týchto možností:

- ▶ Vyberte možnosť **Rescan** (Preskenovať). Softvér sa pokúsi znovu prečítať čiarový kód.

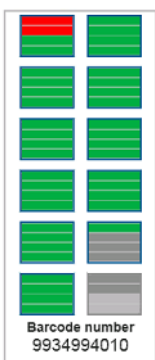
- ▶ Vyberte textové pole a zadajte číselný čiarový kód podľa znázornenia na obrázku. V závislosti od čipu BeadChip môžu mať čísla čiarových kódov až 12 číslic. Vyberte možnosť **Save** (Uložiť). Obrázok čiarového kódu sa uloží do výstupného priečinka.
- ▶ Vyberte možnosť **Cancel** (Zrušiť). Otvoria sa dvierka snímkovacieho priečinka a adaptér čipu BeadChip sa vysunie.

Zlyhanie skenovania čipu BeadChip

Snímky sa po naskenovaní zaregistrujú. Registrácia slúži na identifikáciu guľôčok podľa korelujúcich umiestnení na naskenovanej snímke s informáciami poskytnutými na mape guľôčok, prípadne v priečinku DMAP.

Časti, pri ktorých registrácia zlyhá, budú na snímke čipu BeadChip zobrazené načerveno.

Obrázok 28 Čip BeadChip zobrazujúci časti, ktoré zlyhali



Po dokončení skenovania a zápise údajov skenovania do výstupného priečinka sa aktivuje tlačidlo Rescan (Preskenovať).

Po výbere možnosti Rescan (Preskenovať) softvér vykoná tieto kroky:

- ▶ Preskenuje vzorky obsahujúce časti, ktoré zlyhali, pričom využije zvýšené prekrytie jednotlivých dlaždíc.
- ▶ Vytvorí výstupné súbory v pôvodnom výstupnom priečinku.
- ▶ V prípade častí, ktoré zlyhali, prepíše predošlé výstupné súbory.
- ▶ Pri každom preskenovaní zvýši počítadlo skenovania o 1. Vykoná to však na pozadí. Softvér nepremenuje výstupný priečinok.

Preskenovanie alebo spustenie nového skenovania

- 1 Vyberte možnosť **Rescan** (Preskenovať) a naskenujte vzorky obsahujúce časti, ktoré zlyhali.
- 2 Ak bude skenovanie aj naďalej neúspešné, ukončite ho.
- 3 Čip BeadChip a adaptér vyberte a skontrolujte, či sa na čipe BeadChip nenachádza prach alebo nečistoty. Nečistoty odstráňte stlačeným vzduchom alebo iným podobným spôsobom.
- 4 Znova zasunúť čip BeadChip a spustíte nové skenovanie.
Po spustení nového skenovania softvér vykoná tieto kroky:
 - ▶ Naskenuje celý čip BeadChip.
 - ▶ Vytvorí výstupné súbory v novom výstupnom priečinku.
 - ▶ Zvýši na základe počtu skenovaní posledného preskenovania počítadlo skenovania o 1.

Nahradenie súborov manifestov alebo súborov klastrov

- 1 Prejdite na stránku podpory Illumina (support.illumina.com) pre použitý čip BeadChip a kliknite na kartu **Downloads** (Sťahovanie).
- 2 Stiahnite súbory, ktoré sa majú nahradiť alebo aktualizovať, a skopírujte ich do vami preferovaného sieťového umiestnenia.







POZNÁMKA Uistite sa, že ste vybrali súbory manifestov a súbory klastrov, ktoré sú kompatibilné so systémom prístroja NextSeq 550Dx. Kompatibilné súbory majú v názve text **NS550**.

- 3 Len v prípade, že sa umiestnenie zmenilo, aktualizujte ho na obrazovke BeadChip Scan Configuration (Konfigurácia skenovania čipu BeadChip) takto:
 - a Na domovskej obrazovke NCS vyberte možnosť **Manage Instrument** (Spravovať prístroj).
 - b Vyberte možnosť **System Configuration** (Konfigurácia systému).
 - c Vyberte možnosť **BeadChip Scan Configuration** (Konfigurácia skenovania čipu BeadChip).
- 4 Vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do umiestnenia nahradených alebo aktualizovaných súborov.

Vlastné návody a priečinky návodov

Neupravujte pôvodné návody. Vždy si vytvorte kópiu pôvodného návodu s novým názvom. Ak sa pôvodný návod upraví, nástroj na aktualizáciu softvéru ho v prípade neskorších aktualizácií nerozpozná a nenainštalujú sa novšie verzie.

Vlastné návody ukladajte do príslušného priečinka návodov. Priečinky návodov sú usporiadané takto.

-  **Custom** (Vlastné)
 -  **High** (Vysoký výkon) – Vlastné návody použité s vysokovýkonnou súpravou.
 -  **Mid** (Stredný výkon) – Vlastné návody použité so stredne výkonnou súpravou.
-  **High** (Vysoký výkon) – Pôvodné návody použité s vysokovýkonnou súpravou.
-  **Mid** (Stredný výkon) – Pôvodné návody použité so stredne výkonnou súpravou.
-  **Wash** (Prepláchnutie) – Obsahuje návod na ručné prepláchnutie.

RAID Error Message (Chybové hlásenie RAID (redundantné pole nezávislých diskov))

Počítač NextSeq 550Dx je vybavený štyrmi pevnými diskami. Dva sú určené na diagnostický režim a dva na výskumný režim. Ak dôjde k poruche pevného disku, systém vygeneruje chybové hlásenie RAID a navrhne vám obrátiť sa na technickú podporu spoločnosti Illumina. Obyčajne je potrebná výmena pevného disku.

Môžete pokračovať vo vykonávaní krokov nastavenia chodu a v normálnej prevádzke. Účelom tohto hlásenia je naplánovanie servisu prístroja v predstihu s cieľom predchádzať prerušeniam normálnej prevádzky prístroja. Varovanie RAID môže potvrdiť len správca. Ak by sa prístroj používal len s jedným pevným diskom, mohlo by dôjsť k strate údajov.

Konfigurácia nastavení chodu

System sa konfiguruje počas inštalácie. Ak je však potrebné vykonať zmenu alebo sa systém musí znovu nakonfigurovať, použite možnosti konfigurácie systému. Povolenie na prístup k možnostiam konfigurácie systému má len konto správcu systému Windows.

- ▶ **Network Configuration** (Konfigurácia siete) – Poskytuje možnosti nastavenia IP adresy, adresy DNS servera (Domain Name Server), názvu počítača a názvu domény.

Nastavenie konfigurácie siete

- 1 Na obrazovke Manage Instrument (Spravovať prístroj) vyberte možnosť **System Configuration** (Prispôbenie systému).
- 2 Na získanie IP adresy pomocou servera DHCP vyberte možnosť **Obtain an IP address automatically** (Automaticky získať IP adresu).

POZNÁMKA Protokol DHCP (Dynamic Host Configuration Protocol) je štandardný sieťový protokol používaný v IP sieťach na dynamickú distribúciu parametrov konfigurácie siete.

Prípadne vyberte možnosť **Use the following IP address** (Použiť túto IP adresu) a manuálne pripojte prístroj k inému serveru podľa nasledujúceho postupu. Adresy špecifické pre vaše zariadenie vám poskytne správca siete.

- ▶ Zadajte IP adresu. IP adresa je rad 4 čísel oddelených bodkou, napríklad 168.62.20.37.
 - ▶ Zadajte masku podsiete, ktorá je pododdielom IP siete.
 - ▶ Zadajte predvolenú bránu, ktorou je smerovač v sieti, ktorý sa pripája k internetu.
- 3 Vyberte možnosť **Obtain a DNS server address automatically** (Automaticky získať adresu DNS servera) a pripojte prístroj k serveru názvov domén spojenému s IP adresou. Prípadne vyberte možnosť **Use the following DNS server addresses** (Použiť tieto adresy DNS servera) a manuálne pripojte prístroj k DNS serveru podľa nasledujúceho postupu.
 - ▶ Zadajte preferovanú adresu DNS. Adresa DNS je názov servera používaného na preklad názvov domén na IP adresy.
 - ▶ Zadajte alternatívnu adresu DNS. Táto alternatíva sa používa v prípade, že preferovaný DNS server nedokáže preložiť konkrétny názov domény na IP adresu.
 - 4 Výberom možnosti **Save** (Uložiť) prejdite na obrazovku počítača.

POZNÁMKA Názov počítača prístroja sa počítaču priraduje pri jeho výrobe. Akákoľvek zmena názvu počítača môže mať vplyv na pripojiteľnosť, preto je na jej vykonanie potrebný správca siete.

- 5 Pripojte počítač prístroja k doméne alebo pracovnej skupine. Použite nasledujúci postup.
 - ▶ **V prípade prístrojov pripojených k internetu** – Vyberte položku **Member of Domain** (Člen domény) a následne zadajte názov domény spojený s internetovým pripojením vo vašom zariadení. Zmeny domény si vyžadujú používateľské meno a heslo správcu.
 - ▶ **V prípade prístrojov, ktoré nie sú pripojené k internetu** – Vyberte položku **Member of Work Group** (Člen pracovnej skupiny) a následne zadajte názov pracovnej skupiny. Názov pracovnej skupiny je jedinečný pre vaše zariadenie.
- 6 Vyberte možnosť **Save** (Uložiť).

Nastavenie konfigurácie analýzy

- 1 Na obrazovke Manage Instrument (Spravovať prístroj) vyberte možnosť **System Customization** (Prispôsobenie systému).
- 2 Vyberte možnosť **Analysis Configuration** (Konfigurácia analýzy).
- 3 Vyberte jednu z nasledujúcich možností a určite umiestnenie, kde sa budú prenášať údaje na následnú analýzu.
 - ▶ Vyberte možnosť **BaseSpace** a odošlite údaje sekvenovania do systému BaseSpace spoločnosti Illumina. **[Voliteľné]** Označte políčko **Output Folder** (Výstupný priečinok), vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do sekundárneho sieťového umiestnenia, kam chcete okrem systému BaseSpace uložiť súbory BCL.
 - ▶ Vyberte možnosť **BaseSpace Onsite**. Do poľa Server Name (Názov servera) zadajte celú cestu k svojmu serveru BaseSpace Onsite. **[Voliteľné]** Označte políčko **Output Folder** (Výstupný priečinok), vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do sekundárneho sieťového umiestnenia, kde chcete okrem servera BaseSpace Onsite ukladať súbory BCL.
 - ▶ Výberom možnosti **Standalone instrument** (Samostatný prístroj) uložíte údaje výhradne do sieťového umiestnenia. Vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do preferovaného sieťového umiestnenia. Riadiaci softvér automaticky vygeneruje názov výstupného priečinka.
 - ▶ **[Voliteľné]** Vyberte možnosť **Use Run Monitoring** (Použiť monitorovanie chodu) a monitorujte chod pomocou vizualizačných nástrojov v systéme BaseSpace. Vyžaduje sa prihlásenie do systému BaseSpace a internetové pripojenie.
- 4 Ak ste zvolili možnosť BaseSpace alebo BaseSpace Onsite, nastavte parametre BaseSpace podľa tohto postupu.
 - ▶ Zadajte **User Name** (Používateľské meno) a **Password** (Heslo) systému BaseSpace, čím zaregistrujete prístroj v systéme BaseSpace.
 - ▶ Vyberte možnosť **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Použiť predvolené prihlásenie a obísť obrazovku prihlasovania BaseSpace) a zadajte registrované používateľské meno a heslo ako predvolené prihlásenie. Toto nastavenie slúži na obídenie obrazovky BaseSpace počas nastavenia chodu.
- 5 Vyberte možnosť **Send Instrument Health Data to Illumina** (Odosieľať informácie o stave prístroja spoločnosti Illumina), čím aktivujete monitorovaciu službu Illumina Proactive. Názov tohto nastavenia v softvérovom rozhraní sa môže líšiť od názvu v tejto príručke, a to v závislosti od používanej verzie NCS.

Ak je toto nastavenie zapnuté, údaje o výkone prístroja sa odosielajú spoločnosti Illumina. Tieto údaje pomáhajú spoločnosti Illumina pri zjednodušení riešenia problémov a zisťovaní prípadných porúch a umožňujú proaktívnu údržbu a maximalizujú bezporuchovú prevádzku prístroja. Ďalšie informácie o výhodách tejto služby nájdete v dokumente *Informácie o proaktívnej technickej podpore spoločnosti Illumina* (dokument č. 1000000052503).

Charakteristiky služby:

 - ▶ Neodosielajú sa údaje sekvenovania
 - ▶ Je potrebné pripojenie prístroja k sieti prostredníctvom internetového prístupu
 - ▶ Služba je predvolene vypnutá. Ak chcete túto službu zapnúť, aktivujte nastavenie **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Odosieľať údaje o výkone prístroja spoločnosti Illumina).
- 6 Vyberte možnosť **Save** (Uložiť).

Konfigurácia skenovania čipu BeadChip

- 1 Na obrazovke Manage Instrument (Spravovať prístroj) vyberte možnosť **System Customization** (Prispôsobenie systému).
- 2 Vyberte možnosť **BeadChip Scan Configuration** (Konfigurácia skenovania čipu BeadChip).
- 3 Na zadanie predvoleného umiestnenia priečinka DMAP vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do preferovaného umiestnenia priečinka v sieti vášho zariadenia.

POZNÁMKA Pred každým skenovaním si do tohto umiestnenia stiahnite kópiu obsahu DMAP. Obsah DMAP je nevyhnutný pre každý čip BeadChip a je jedinečný pre každý čiarový kód čipu BeadChip.

- 4 Na zadanie predvoleného umiestnenia výstupu vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) a prejdite do preferovaného umiestnenia priečinka v sieti vášho zariadenia.
- 5 Vyberte formát obrazového súboru pre uložené snímky. Predvolený typ snímok je **JPG**.
- 6 Vyberte formát výstupného súboru údajov skenovania. Predvoleným typom výstupného súboru je **len GTC**.
- 7 Vyberte možnosť **Save** (Uložiť).
- 8 Na obrazovke Scan Map (Priradenie skenu) zadajte celú cestu k súboru manifestu a súboru klastra každého typu čipu BeadChip. Vyberte možnosť **Browse** (Prehľadávať) pre každý typ súboru a prejdite do umiestnenia priečinka, ktorý tieto súbory obsahuje.
- 9 **[Voliteľné]** Vyberte možnosť **Hide Obsolete BeadChips** (Skrýť zastarané čipy BeadChip) a odstráňte zastarané čipy BeadChip zo zobrazenia.
- 10 Vyberte možnosť **Save** (Uložiť).

Dodatok B Real-Time Analysis (Analýza v reálnom čase)

Prehľad aplikácie Real-Time Analysis (Analýza v reálnom čase)	55
Pracovný postup analýzy v reálnom čase	56

Prehľad aplikácie Real-Time Analysis (Analýza v reálnom čase)

Prístroj NextSeq 550Dx používa vstavaný softvér Real-Time Analysis (RTA) (Analýza v reálnom čase) s názvom RTA2. Softvér RTA2 beží v počítači prístroja a extrahuje intenzity zo snímok, vykonáva primárnu analýzu báz a následne k výsledkom primárnej analýzy báz priraduje kvalitatívne skóre. Aplikácia RTA2 a operačný softvér komunikujú prostredníctvom webového rozhrania HTTP a zdieľaných pamäťových súborov. Ak sa aplikácia RTA2 ukončí, spracovanie sa neobnoví a údaje o chode sa neuložia.

Vstupy aplikácie RTA2

Aplikácia RTA2 na spracovanie vyžaduje tieto vstupy:

- ▶ Snímky dlaždíc nachádzajúce sa v pamäti miestneho systému.
- ▶ Súbor `RunInfo.xml`, ktorý sa automaticky vygeneruje na začiatku chodu a poskytuje názov chodu, počet cyklov, informáciu o tom, či je čítanie indexované, a počet dlaždíc na prietokovom článku.
- ▶ Súbor `RTA.exe.config`, ktorý je konfiguračným súborom softvéru vo formáte XML.

Do aplikácie RTA2 prichádzajú príkazy z riadiaceho softvéru, ktoré obsahujú informácie o umiestnení súboru `RunInfo.xml` a o tom, či je určený voliteľný výstupný priečinok.

Výstupné súbory aplikácie RTA2

Snímky z každého kanála sa do pamäte presúvajú ako dlaždice. Dlaždice sú malé oblasti snímania na prietokovom článku, ktoré kamera rozpoznáva ako zorné pole. Z týchto snímok softvér vytvorí výstup v podobe skupiny súborov s primárne analyzovanými bázami s posúdením kvality a súborov filtrov. Výstupné súbory sú podporované všetkými ostatnými súbormi.

Typ súboru	Popis
Súbory primárnej analýzy báz	Každá analyzovaná dlaždica je zahrnutá v agregovanom súbore primárnej analýzy báz (*.bcl.bgzf) pre každý pruh a každý cyklus. Agregovaný súbor primárnej analýzy báz obsahuje výsledky primárnej analýzy báz a súvisiace kvalitatívne skóre pre každý klaster v tomto pruhu.
Súbory filtrov	Každá dlaždica vytvára informácie o filtroch, ktoré sa agregujú do 1 súboru filtra (*.filter) pre každý pruh. Súbor filtra špecifikuje, či klaster prechádza filtrami.
Súbory umiestnení klastrov	Súbory umiestnenia klastra (*.locs) obsahujú súradnice X a Y pre každý klaster v dlaždici. Súbor umiestnenia klastra sa generuje pre každý pruh počas vytvárania šablóny.
Indexové súbory primárnej analýzy báz	Indexový súbor primárnej analýzy báz sa vytvára pre každý pruh a uchováva informácie o pôvodnej dlaždici. Indexový súbor obsahuje dvojicu hodnôt každej dlaždice, a to číslo dlaždice a počet klastrov tejto dlaždice.

RTA2 poskytuje metriky kvality chodu v reálnom čase v podobe súborov InterOp. Súbory InterOp sú binárne výstupy obsahujúce dlaždicu, cyklus a metriky v reálnom čase.

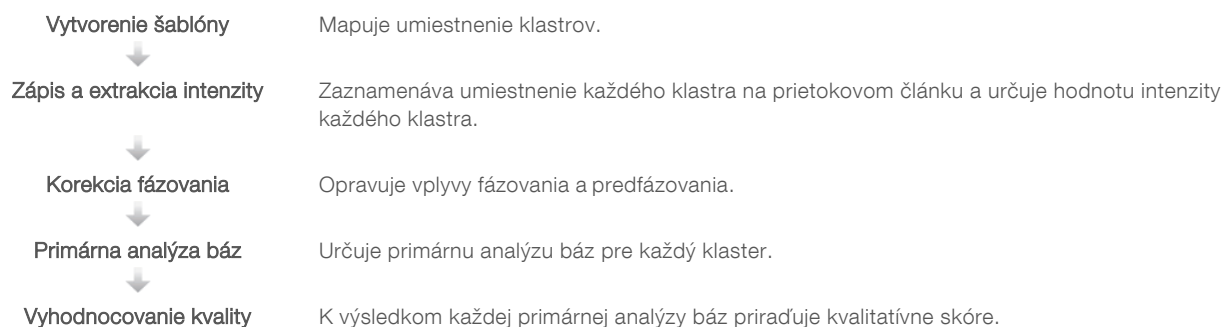
Riešenie chýb

Aplikácia RTA2 vytvorí súbory denníka a zapíše ich do priečinka RTALogs. Chyby sa zaznamenajú do súboru chýb vo formáte *.tsv.

Nasledujúce súbory denníkov a chýb sa prenású do konečného výstupného miesta na konci spracovania:

- ▶ v súbore *GlobalLog*.tsv sa nachádza súhrn dôležitých udalostí chodu,
- ▶ v súbore *LaneNLog*.tsv sú uvedené udalosti spracovania každého pruhu,
- ▶ v súbore *Error*.tsv sa nachádza zoznam chýb, ku ktorým došlo počas chodu,
- ▶ v súbore *WarningLog*.tsv sa nachádza zoznam varovaní, ku ktorým došlo počas chodu.

Pracovný postup analýzy v reálnom čase



Vytvorenie šablóny

Prvým krokom pracovného postupu softvéru RTA je vytvorenie šablóny, ktorá pomocou súradníc X a Y definuje pozíciu jednotlivých klastrov na dlaždici.

Na vytvorenie šablóny sú potrebné obrazové údaje z prvých 5 cyklov chodu. Po zobrazení posledného cyklu šablóny pre dlaždicu sa vytvorí šablóna.

POZNÁMKA Klaster je možné počas tvorby šablón detegovať len v prípade, že je v prvých 5 cykloch aspoň 1 báza iná ako G. V prípade akýchkoľvek indexovaných sekvencií softvér RTA2 vyžaduje, aby bola v prvých 2 cykloch aspoň 1 báza iná ako G.

Šablóna slúži ako referencia pre nasledujúci krok registrácie a extrakcie intenzity. Pozície klastrov pre celý prietokový článok sa zapíšu do súborov umiestnenia klastrov (*.locs) tak, že každý pruh sa zapíše do 1 súboru.

Zápis a extrakcia intenzity

Zápis a extrakcia intenzity sa začnú po vytvorení šablóny.

- ▶ Zápisom sa snímky vytvorené počas každého nasledujúceho cyklu zobrazovania zarovnávajú so šablónou.
- ▶ Pri extrakcii intenzity sa určí hodnota intenzity jednotlivých klastrov v šablóne pre danú snímku.

Ak zlyhá zápis akejkoľvek snímky v cykle, v tomto cykle sa nevytvoria žiadne primárne analýzy báz pre túto dlaždicu.

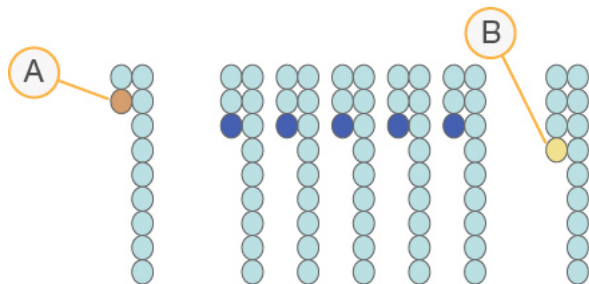
Korekcia fázovania

Počas reakcie sekvenovania sa každé vlákno DNA v klasteri predĺži pri každom cykle o 1 bázu. K fázovaniu a predfázovaniu dochádza, keď sa vlákno dostane mimo fázy aktuálneho cyklu inkorporácie.

- ▶ K fázovaniu dochádza, keď báza zostane vzadu.

- K predfázovaniu dochádza, keď sa báza dostane dopredu.

Obrázok 29 Fázovanie a predfázovanie



- A Čítanie s fázovanou bázou.
- B Čítanie s predfázovanou bázou.

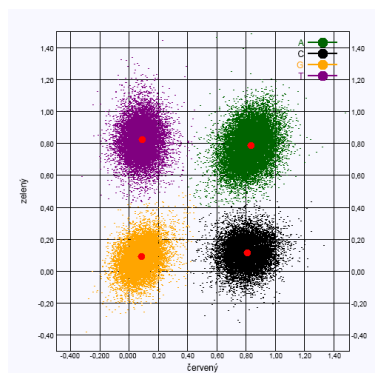
V aplikácii RTA2 sa napravia účinky fázovania a predfázovania, čím sa zvýši kvalita údajov v rámci každého cyklu počas chodu.

Primárna analýza báz

Pri primárnej analýze báz sa určuje báza (A, C, G alebo T) pre každý klastor danej oblasti v konkrétnom cykle. Prístroj NextSeq 550Dx využíva 2-kanálové sekvenovanie, ktoré si vyžaduje na zakódovanie údajov báz 4 molekúl DNA len 2 snímky, 1 z červeného kanála a 1 zo zeleného kanála.

Intenzity extrahované zo snímky sa porovnávajú s druhou snímkou. Výsledkom sú 4 odlišné populácie, pričom každá zodpovedá jednému nukleotidu. Pri primárnej analýze báz sa určuje, do ktorej populácie patria jednotlivé klastre.

Obrázok 30 Vizualizácia intenzít klastrov



Tabuľka 1 Primárna analýza báz v dvojkanálovom sekvenovaní

Báza	Červený kanál	Zelený kanál	Výsledok
A	1 (zapnuté)	1 (zapnuté)	Klastre, ktoré vykazujú svetelnú intenzitu v červenom aj zelenom kanáli.
C	1 (zapnuté)	0 (vypnuté)	Klastre, ktoré vykazujú svetelnú intenzitu iba v červenom kanáli.
G	0 (vypnuté)	0 (vypnuté)	Klastre, ktoré nevykazujú žiadnu svetelnú intenzitu v známom umiestnení klastra.
T	0 (vypnuté)	1 (zapnuté)	Klastre, ktoré vykazujú svetelnú intenzitu iba v zelenom kanáli.

Filtrovanie klastrov

Počas chodu aplikácia RTA2 filtruje nespracované údaje, čím sa odstraňujú čítania sekvencií, ktoré nespĺňajú prah kvality stanovený pre údaje. Prekrývajúce sa klastre a klastre s nízkou kvalitou sa odstraňujú.

Pri dvojkanálovej analýze RTA2 využíva na určenie čistoty primárnej analýzy báz systém založený na populáciách. Klastre prejdú (sú schválené) filtrom (PF), ak je čistota nižšia ako 0,63 maximálne pri jedinej primárnej analýze báz počas prvých 25 cyklov. Klastre, ktoré neprejdú filtrom, sa nepoužijú na primárnu analýzu báz.

Aspekty indexovania

Proces čítaní indexov pri primárnej analýze báz sa líši od primárnej analýzy báz počas iných čítaní.

Čítania indexov sa musia začínať minimálne jednou bázou inou ako G v ktoromkoľvek z prvých dvoch cyklov. Ak sa čítanie indexov začne dvoma primárnymi analýzami báz G, nevygeneruje sa žiadna intenzita signálu. Demultiplexovanie je možné len v prípade, ak je signál prítomný v ktoromkoľvek z prvých 2 cyklov.

V záujme zvýšenia robustnosti demultiplexovania vyberte sekvencie indexov, ktoré poskytujú signál v aspoň 1 kanáli, pokiaľ možno v oboch kanáloch, pre každý cyklus. Dodržiavaním tohto usmernenia sa zabráni kombinácii indexov, ktorých výsledkom sú iba bázy G v každom cykle.

- ▶ Červený kanál – A alebo C
- ▶ Zelený kanál – A alebo T

Týmto procesom primárnej analýzy báz sa zabezpečí presnosť analýzy vzoriek s nízkym plexom.

Vyhodnocovanie kvality

Kvalitatívne skóre alebo Q-skóre je predpoveď pravdepodobnosti nesprávnej primárnej analýzy báz.

Vyššie Q-skóre znamená, že kvalita primárnej analýzy báz je vyššia a je pravdepodobnejšie, že výsledky budú správne.

Q-skóre predstavuje kompaktný spôsob hodnotenia malej pravdepodobnosti chýb. Kvalitatívne skóre sú vyjadrené ako $Q(X)$, kde X je hodnota skóre. V nasledujúcej tabuľke je zobrazený vzťah medzi kvalitatívnym skóre a pravdepodobnosťou chyby.

Q-skóre $Q(X)$	Pravdepodobnosť chyby
Q40	0,0001 (1 z 10 000)
Q30	0,001 (1 z 1 000)
Q20	0,01 (1 z 100)
Q10	0,1 (1 z 10)

POZNÁMKA Kvalitatívne vyhodnocovanie je založené na upravenej verzii algoritmu Phred.

Kvalitatívnym vyhodnocovaním sa vypočíta súbor prediktorov pre každú primárnu analýzu báz a potom sa pomocou hodnôt prediktorov vyhledá Q-skóre v tabuľke kvality. Tabuľky kvality sú vytvorené tak, aby poskytovali optimálne presné kvalitatívne predpovede pre chody generované špecifickou konfiguráciou platformy sekvenovania a verzie chemických procesov.

Po určení Q-skóre sa výsledky zaznamenajú v súboroch primárnej analýzy báz (*.bcl.bgzf).

Dodatok C Výstupné súbory a priečinky

Výstupné súbory sekvenovania	59
Štruktúra výstupného priečinka	62
Výstupné súbory skenovania	63
Štruktúra výstupného priečinka skenovania	63

Výstupné súbory sekvenovania

Typ súboru	Opis, umiestnenie a názov súboru
Súbory primárnej analýzy báz	Každá analyzovaná dlaždica je zahrnutá do súboru primárnej analýzy báz agregovaného do 1 súboru pre každý pruh a každý cyklus. Agregovaný súbor obsahuje výsledky primárnej analýzy báz a zakódované kvalitatívne skóre pre každý klaster v tomto pruhu. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Súbory sú uložené v 1 priečinku pre každý pruh. [Cycle].bcl.bgzf, kde [Cycle] predstavuje štvormiestne číslo cyklu. Súbory primárnej analýzy báz sa komprimujú pomocou blokovej kompresie gzip.
Indexový súbor primárnej analýzy báz	V prípade každého pruhu sú v binárnom indexovom súbore uvedené pôvodné informácie o dlaždiciach v podobe dvojice hodnôt každej dlaždice, a to čísla dlaždice a počtu klastrov tejto dlaždice. Indexové súbory primárnej analýzy báz sa vytvárajú vtedy, keď sa prvýkrát vytvorí súbor primárnej analýzy báz pre tento pruh. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Súbory sú uložené v 1 priečinku pre každý pruh. s_[Lane].bci
Súbory umiestnení klastrov	V prípade každej dlaždice sú súradnice XY každého klastra agregované do 1 súboru umiestnenia klastra pre každý pruh. Súbory umiestnenia klastrov sú výsledkom vytvorenia šablóny. Data\Intensities\L00[X] – Súbory sú uložené v 1 priečinku pre každý pruh. s_[lane].locs
Súbory filtrov	Súbor filtra špecifikuje, či klaster prešiel filtermi. Informácie o filtroch sú agregované do 1 súboru filtra pre každý pruh a čítanie. Súbory filtrov sa generujú v cykle 26 na základe údajov z 25 cyklov. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Súbory sú uložené v 1 priečinku pre každý pruh. s_[lane].filter
Súbory InterOp	Binárne súbory hlásení. Súbory InterOp sa aktualizujú počas chodu. Priečinok InterOp
Konfiguračný súbor RTA	Konfiguračný súbor RTA, ktorý sa vytvára na začiatku chodu, obsahuje nastavenia chodu. [Root folder], RTAConfiguration.xml
Súbor s informáciami o chode	Sú v ňom uvedené informácie zahŕňajúce názov chodu, počet cyklov v každom čítaní, informácie o tom, či je čítanie indexované, a počet riadkov a dlaždíc na prietokovom článku. Súbor s informáciami o chode sa vytvára na začiatku chodu. [Root folder], RunInfo.xml

Dlaždice prietokového článku

Dlaždice sú malé oblasti snímania na prietokovom článku, ktoré kamera rozpoznáva ako zorné pole. Celkový počet dlaždíc závisí od počtu pruhov, riadkov a plôch, ktoré sú zobrazené na prietokovom článku, a od toho, ako kamery spolupracujú pri zhromažďovaní snímok. Vysokovýkonné prietokové články majú spolu 864 dlaždíc.

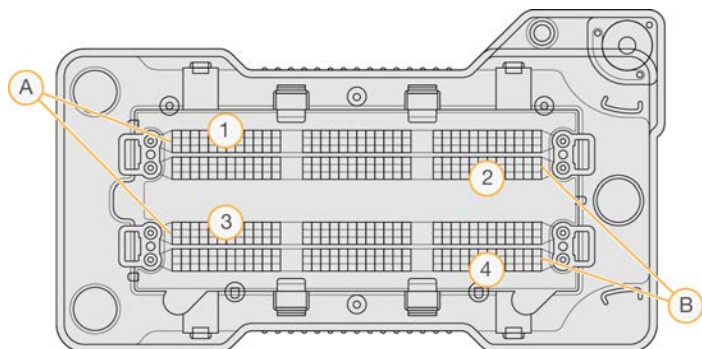
Tabuľka 2 Dlaždice prietokového článku

Komponent prietokového článku	Vysoký výkon	Popis
Pruhy	4	Pruh je fyzický kanál s určenými vstupnými a výstupnými portmi.
Plochy	2	Prietokový článok je snímaný na 2 povrchoch, hornom a dolnom. Zobrazí sa horný povrch 1 dlaždice, potom sa pred prechodom na nasledujúcu dlaždicu zobrazí dolný povrch tej istej dlaždice.
Počet riadkov na pruh	3	Riadok je stĺpec dlaždíc v pruhu.
Segmenty kamery	3	Prístroj používa na zobrazenie prietokového článku 6 kamier v 3 segmentoch na každý pruh.
Počet dlaždíc na riadok na segment kamery	12	Dlaždica je plocha na prietokovom článku, ktorú kamera vidí ako 1 snímku.
Celkový počet zobrazených dlaždíc	864	Celkový počet dlaždíc sa rovná pruhy × povrchy × riadky × segmenty kamery × dlaždice na riadok na segment.

Očíslovanie pruhov

Pruhy 1 a 3, nazývané pár pruhov A, sa zobrazujú súčasne. Pruhy 2 a 4, nazývané pár pruhov B, sa zobrazia vtedy, keď sa ukončí zobrazovanie páru pruhov A.

Obrázok 31 Očíslovanie pruhov

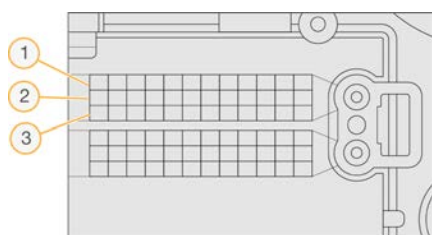


- A Pár pruhov A – pruhy 1 a 3
- B Pár pruhov B – pruhy 2 a 4

Číslovanie riadkov

Každý pruh je zobrazený na 3 riadkoch. Riadky vysokovýkonných prietokových článkov sú očíslované od 1 do 3.

Obrázok 32 Číslovanie riadkov

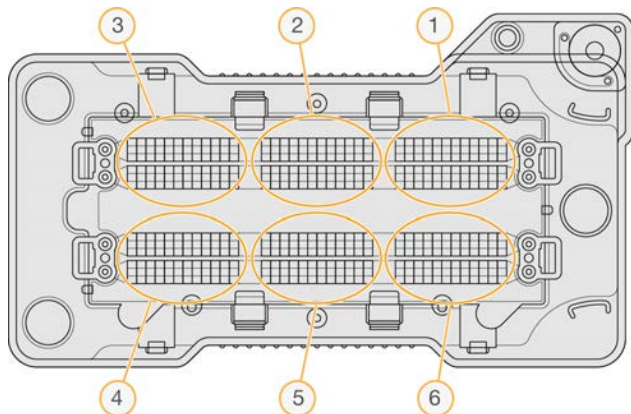


Očíslovanie kamier

Prístroj NextSeq 550Dx používa na snímanie prietokového článku 6 kamier.

Kamery sú očíslované od 1 do 6. Kamery 1 – 3 zobrazujú pruh 1. Kamery 4 – 6 zobrazujú pruh 3. Po zobrazení pruhov 1 a 3 sa zobrazovací modul presunie na os X a zobrazí pruhy 2 a 4.

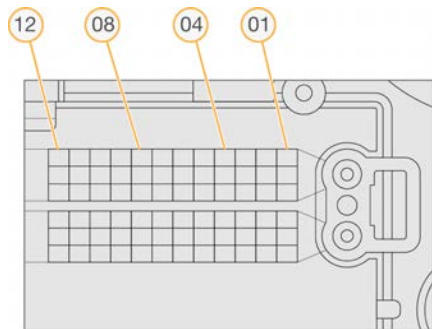
Obrázok 33 Očíslovanie kamier a segmentov (Zobrazenie vysokovýkonného prietokového článku)



Číslovanie dlaždíc

V každom riadku každého segmentu kamery je 12 dlaždíc. Dlaždice sú očíslované od 01 do 12, a to bez ohľadu na číslo riadka alebo segment kamery, a sú označené 2 číslicami.

Obrázok 34 Číslovanie dlaždíc



Úplné číslo dlaždice obsahuje 5 číslic, ktoré predstavujú umiestnenie takto:

- ▶ **Povrch** – 1 predstavuje hornú plochu, 2 predstavuje dolnú plochu
- ▶ **Riadok** – 1, 2 alebo 3
- ▶ **Kamera** – 1, 2, 3, 4, 5 alebo 6
- ▶ **Dlaždica** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 alebo 12

Príklad: Číslo dlaždice 12508 označuje hornú plochu, riadok 2, kameru 5 a dlaždicu 8.

Úplné 5-miestne číslo dlaždice sa používa v názve súborov miniatúr a súborov empirického fázovania. Ďalšie informácie nájdete v časti *Výstupné súbory sekvenovania* na strane 59.

Štruktúra výstupného priečinka

Operačný softvér automaticky vytvára názov výstupného priečinka.

📁 Data (Údaje)

📁 Intensities (Intenzity)

📁 BaseCalls (Primárna analýza báz)

📁 L001 – Súbory primárnej analýzy báz pre pruh 1, zoskupené v 1 súbore na cyklus.

📁 L002 – Súbory primárnej analýzy báz pre pruh 2, zoskupené v 1 súbore na cyklus.

📁 L003 – Súbory primárnej analýzy báz pre pruh 3, zoskupené v 1 súbore na cyklus.

📁 L004 – Súbory primárnej analýzy báz pre pruh 4, zoskupené v 1 súbore na cyklus.

📁 L001 – Zoskupený súbor *.locs pre pruh 1.

📁 L002 – Zoskupený súbor *.locs pre pruh 2.

📁 L003 – Zoskupený súbor *.locs pre pruh 3.

📁 L004 – Zoskupený súbor *.locs pre pruh 4.

📁 Images (Snímky)

📁 Focus (Zaostrenie)

📁 L001 – Zaostrené snímky pre pruh 1.

📁 L002 – Zaostrené snímky pre pruh 2.

📁 L003 – Zaostrené snímky pre pruh 3.

📁 L004 – Zaostrené snímky pre pruh 4.

📁 InterOp – Binárne súbory.

📁 Logs (Záznamy) – Zaznamenané súbory opisujúce operačné kroky.

📁 Recipe (Návod) – Súbor návodu špecifického pre chod, ktorého názov je ID kazety s reagentami.

📁 RTALogs (Záznamy RTA (Analýza v reálnom čase)) – Zaznamenané súbory opisujúce kroky analýzy.

📄 RTAComplete.txt (súbor RTAComplete.txt)

📄 RTAConfiguration.xml (Konfiguračný súbor RTA)

📄 RunInfo.xml (Súbor s informáciami o chode)

📄 RunParameters.xml (Súbor parametrov chodu)

Výstupné súbory skenovania

Typ súboru	Opis, umiestnenie a názov súboru
Súbory GTC	Súbor primárnej analýzy genotypu. Súbor GTC sa vytvára pre každú vzorku naskenovanú na čipe BeadChip. Názov súboru obsahuje čiarový kód a skenovanú vzorku. [čiarový kód]_[vzorka].gtc
Súbory snímok	Súbory snímok sa pomenúvajú na základe skenovanej oblasti na čipe BeadChip. Názov zahŕňa čiarový kód, vzorku a časť na čipe BeadChip, riadok a kanál snímania (červený alebo zelený). [čiarový kód]_[vzorka]_[časť]_[riadok]_[kamera]_[dlaždica]_[kanál].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Čiarový kód – Názov súboru sa začína čiarovým kódom čipu BeadChip. • Vzorka – Oblasť čipu BeadChip, ktorá sa čísluje ako riadok (R0X) zhora nadol, a stĺpec (C0X) zľava doprava. • Časť – Číslovaný riadok v rámci vzorky. • Riadok – Čipy BeadChip sa snímajú ako súbor prekrývajúcich sa dlaždíc. Preto sa na zobrazenie časti používa iba 1 riadok. • Kamera – Kamera použitá na zber snímok. • Dlaždica – Oblasť snímania definovaná kamerou ako zorné pole. • Kanál – Kanál je buď červený, alebo zelený.

Štruktúra výstupného priečinka skenovania

- 📁 [Date]_[Instrument Name]_[Scan#]_[Barcode] ([Dátum]_[Názov prístroja]_[Č. skenu]_[Čiarový kód])
 - 📁 [Barcode] ([Čiarový kód])
 - 📁 Config (Konfigurácia)
 - 📄 Effective.cfg – Záznamy nastavení konfigurácie použité počas skenovania.
 - 📁 Focus (Zaostrenie) – Obsahuje súbory snímok používané na zaostrenie skenovania.
 - 📁 Logs (Protokoly) – Obsahuje súbory protokolov, v ktorých je uvedený každý krok vykonaný počas skenovania.
 - 📁 PreScanDiagnosticFiles
 - 📁 [Date_Time] Barcode Scan ([Dátum_Čas] Sken čiarového kódu)
 - 📄 ProcessedBarcode.jpg – Snímka čiarového kódu čipu BeadChip.
 - 📄 Scanning Diagnostics (Diagnostika skenovania) (súbory protokolov)
 - 📄 PreScanChecks.csv – Záznamy výsledkov automatickej kontroly.
 - 📄 Súbory GTC – súbory primárnej analýzy genotypu (1 súbor na vzorku).
 - 📄 Súbory IDAT – [Voliteľné] Súbory údajov intenzity (2 súbory na vzorku; 1 pre každý kanál).
 - 📄 Súbory snímok – Súbory snímok každej vzorky, časti, riadka, kamery, dlaždice a kanála.
 - 📄 [Barcode]_sample_metrics.csv ([Čiarový kód]_vzorka_metrika.csv)
 - 📄 [Barcode]_section_metrics.csv ([Čiarový kód]_časť_metrika.csv)
 - 📄 ScanParameters.xml

Index

A

adaptér
 orientácia čipu BeadChip 29
 vloženie čipu BeadChip 31
 základné informácie 5
aktualizačný softvér 39
algoritmus Phred 58
analýza
 výstupné súbory 59
analýza, primárna
 čistota signálu 58
aspekty indexovania 58

B

BaseSpace 52
 prihlásenie 18
BeadChip
 adaptér 5, 29
 analýza 1
 čiarový kód nemožno prečítať 48
 orientácia čiarového kódu 29
 typy 1
 vloženie 31
 zlyhanie registrácie 49

Č

číslovanie dlaždíc 61
číslovanie pruhov 60
číslovanie riadkov 60

D

Decode File Client
 prístup podľa čipu BeadChip 29
 prístup podľa účtu 28
dĺžka čítania 15-16
dokumentácia 2, 69

E

empirické fázovanie 56

F

fázovanie, predfázovanie 56

filter klastrov (PF) 58
filter na zabezpečenie čistoty 58
filtrovanie klastrov 58
formamid, pozícia 6 22

C

chlórnan sodný, preplachovanie 36
chyby a upozornenia 55
chyby a varovania 4
chyby kontroly pred spustením chodu 44

I

ikony
 chyby a varovania 4
 stav 4
intenzity 57

K

kazeta s pufrom 9, 21
kazeta s reagensiami
 základné informácie 8
 zásobník č. 28 36
 zásobník na pozícii č. 6 22
klávesnica 12
klient dekódovania súborov 27
kompatibilita
 prietokový článok, kazeta s reagensiami 6
 sledovanie pomocou RFID 8
 sledovanie RFID 6
komponenty
 snímací priečinok 3
Konfigurácia 52
konfigurácia systému BaseSpace 23
kontrola pred spustením chodu 24, 31

M

metrika chodu 25
metriky
 cykly hustoty klastrov 25
 cykly intenzity 25
 primárna analýza báz 57
monitorovacia služba Illumina Proactive 52

N

- nastavenia konfigurácie 51
- nastavenia systému 12
- nastavenie chodu, rozšírená možnosť 13

O

- očíslovanie kamier 61
- online školenia 2
- opätovné zavedenie do výskumného režimu 12
- opätovne zaviesť prístroj 41

P

- parametre chodu
 - režim BaseSpace 23
 - samostatný režim 23
 - úprava parametrov 23
- páry pruhov 60
- počet cyklov v čítaní 15
- pomoc, technická 69
- pomocník
 - dokumentácia 2
- použité reagensy
 - likvidácia 37
 - odstránenie 19
 - zásobník plný 46
- používateľské meno a heslo 11
- pracovný postup
 - aspekty indexovania 58
 - BeadChip 31
 - chlórnan sodný 36
 - kazeta s puframi 21
 - kazeta s reagensmi 21
 - kontrola pred spustením chodu 24, 31
 - metrika chodu 25
 - použité reagensy 19
 - prietokový článok 18
 - príhlásenie do systému BaseSpace 18
 - príprava prietokového článku 17
 - režim BaseSpace 23
 - rozšírená možnosť načítania 13
 - samostatný režim 23
 - sekvenovanie 56
 - trvanie chodu 15-16
 - základné informácie 16, 28
- pracovný postup sekvenovania 16, 56
- pravdepodobnosť chyby 58

- pravidlá na používanie laboratórnej vody 14
- prenos údajov

- údaje skenovania 33
- universal copy service 25

prepláchnutie

- automatické 26
- komponenty prepláchnutia 35
- manuálne prepláchnutie 35
- spotrebný materiál dodávaný používateľom 35

- prepláchnutie po ukončení chodu 26

- prepláchnutie prístroja 35

- preventívna údržba 35

priečink DMAP

- klient dekódovania súborov 27
- sťahovanie 28

- priečink na pufer 3

- priečink s reagensmi 3

prietokový článok 46

- balenie 17
- číslovanie dlaždíc 61
- číslovanie pruhov 60
- číslovanie riadkov 60
- čistenie 17

- dlaždice 59

- páry pruhov 7

- snímanie 61

- základné informácie 7

- zarovnávacie kolíky 18

primárna analýza báz 57

- aspekty indexovania 58

prístroj

- avatar 12
- indikátory režimu 12
- nastavenia konfigurácie 51
- prezývka 12
- reštart 41
- reštartovanie 41
- spustenie 11
- vypínač 5
- vypnutie 41

Q

- Q-skóre 58

R

- RAID Error Message (Chybové hlásenie RAID (redundantné pole nezávislých diskov)) 50

- reagencie
 - správna likvidácia 21
 - zbalené v súprave 6
 - rehybridizácia 46
 - rehybridizácia priméru 46
 - rehybridizácia, čítanie 1 46
 - reštart 41
 - reštartovanie
 - prístroj 41
 - režim RUO 12
 - riadiaci softvér 4
 - riešenie problémov
 - čiarový kód čipu BeadChip nemožno prečítať 48
 - kontrola pred spustením chodu 44
 - metrika s nízkou kvalitou 46
 - nahradenie súborov manifestov a klastrov 50
 - súbory špecifické pre chod 43
 - súbory špecifické pre skenovanie 44
 - zásobník na použité reagencie 46
 - zlyhanie registrácie skenovania 49
 - rozšírená možnosť načítania 13
 - RunInfo.xml 43, 59
- S**
- samostatná konfigurácia 23
 - sekvenovanie
 - spotrebný materiál dodávaný používateľom 13
 - úvod 15
 - sledovanie RFID 6
 - snímací priečnik 3
 - softvér
 - analýza snímok, primárna analýza báz 4
 - automatická aktualizácia 40
 - inicializácia 11
 - manuálna aktualizácia 40
 - nastavenia konfigurácie 51
 - trvanie chodu 15-16
 - v prístroji 4
 - softvér BlueFuse Multi 1
 - softvér Real-Time Analysis 4
 - fázovanie 56
 - pracovný postup 56
 - výsledky 59
 - spotrebný materiál 6
 - kazeta s pufrom 9
 - kazeta s reagenciami 8
 - laboratórna voda 14
 - preplachovací spotrebný materiál 35-36
 - prietokový článok 7
 - sekvenovacie chody 13
 - údržba prístroja 14
 - spotrebný materiál dodávaný používateľom 13-14
 - spravovanie prístroja
 - vypnutie 41
 - spravovať prístroj
 - vypnutie 41
 - stavové výstrahy 4
 - stavový pruh 3
 - súbory filtra 59
 - súbory GTC 63
 - súbory InterOp 43, 59
 - súbory locs 59
 - súbory primárnej analýzy báz 59
 - súčasti
 - priečnik na pufre 3
 - priečnik na reagencie 3
 - snímací priečnik 3
 - stavový pruh 3
 - systémové používateľské meno a heslo 11
- T**
- technická pomoc 69
 - template generation (Vytvorenie šablóny) 56
 - trvanie chodu 15-16
 - tvorba klastrov 15, 25
- U**
- údržba prístroja
 - spotrebný materiál 14
 - údržba, preventívna 35
 - umiestnenie klastra
 - súbory 59
 - vytvorenie šablóny 56
 - umiestnenie priečnika 23
 - Universal Copy Service 25
- V**
- vstupné súbory, scan
 - súbory klastrov 27
 - vstupné súbory, skenovanie
 - priečnik DMAP 27
 - priečnik DMAP, stiahnutie 28
 - súbory klastrov 50

- súbory manifestov 27, 50
- vyčistenie spotrebného materiálu 13
- vypínač 5, 11
- vypnutie prístroja 41
- výstupné súbory 59
- výstupné súbory skenovania
 - GTC, IDAT 63
- výstupné súbory, sekvenovanie 59
- výstupné súbory, skenovanie
 - GTC, IDAT 63
- vytvorenie šablóny 56
- vzduchový filter 4, 38

W

- Windows
 - ukončenie 41

Z

- zákaznícka podpora 69
- zobrazovanie, 2-kanálové sekvenovanie 57
- zvuk 12

Technická pomoc

Technickú pomoc vám poskytne technická podpora spoločnosti Illumina.

Webová lokalita: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Telefónne čísla oddelenia zákazníckej podpory spoločnosti Illumina

Región	Bezplatné	Regionálne
Severná Amerika	+1.800.809.4566	
Austrália	+1.800.775.688	
Belgicko	+32 80077160	+32 34002973
Čína	400.066.5835	
Dánsko	+45 80820183	+45 89871156
Fínsko	+358 800918363	+358 974790110
Francúzsko	+33 805102193	+33 170770446
Holandsko	+31 8000222493	+31 207132960
Hongkong, Čína	800960230	
Írsko	+353 1800936608	+353 016950506
Japonsko	0800.111.5011	
Južná Kórea	+82 80 234 5300	
Nemecko	+49 8001014940	+49 8938035677
Nórsko	+47 800 16836	+47 21939693
Nový Zéland	0800.451.650	
Rakúsko	+43 800006249	+43 19286540
Singapur	+1.800.579.2745	
Spojené kráľovstvo	+44 8000126019	+44 2073057197
Španielsko	+34 911899417	+34 800300143
Švajčiarsko	+41 565800000	+41 800200442
Švédsko	+46 850619671	+46 200883979
Taiwan, Čína	00806651752	
Taliansko	+39 800985513	+39 236003759
Ostatné krajiny	+44 1799 534000	

Karty bezpečnostných údajov (Safety data sheets, SDS) – k dispozícii na webovej lokalite spoločnosti Illumina na stránke support.illumina.com/sds.html.

Produktová dokumentácia – k dispozícii na stiahnutie z webovej lokality support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (okrem Severnej Ameriky)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Iba na výskumné účely. Nepoužívať pri diagnostických postupoch.

© 2021 Illumina, Inc. Všetky práva vyhradené.

illumina[®]