

NextSeq 550Dx у режимі дослідження

Довідковий посібник до приладу



Цей документ і його зміст є власністю компанії Illumina, Inc. і її філій (надалі — Illumina). Він призначений лише для того, щоб користувач використовував вироби тільки за угодою в цілях, описаних у цьому документі. Цей документ і його зміст не слід використовувати або поширювати з будь-якою іншою метою та/або для іншого обговорення, розкриття або відтворення в той або інший спосіб без попередньої письмової згоди компанії Illumina. Цим документом компанія Illumina не надає жодного дозволу на свій патент, товарний знак, авторське право або загальноприйняті права, а також на подібні права будь-яких третіх сторін.

Щоб гарантувати правильне та безпечне використання виробів, описаних у цьому документі, кваліфікований і належно навчений персонал повинен суворо та чітко дотримуватись інструкцій, описаних у цьому документі. Перед використанням цих виробів потрібно повністю прочитати й зрозуміти весь уміст цього документа.

НЕПОВНЕ ВИВЧЕННЯ ВСІХ ЗАЗНАЧЕНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ ВКАЗІВОК І ЇХ НЕЧІТКЕ ДОТРИМАННЯ МОЖЕ ПРИЗВОДИТИ ДО ПОШКОДЖЕННЯ ЦИХ ВИРОБІВ, ТРАВМУВАННЯ ЛЮДЕЙ, ВКЛЮЧНО З КОРИСТУВАЧАМИ АБО ІНШИМИ ОСОБАМИ, І ПОШКОДЖЕННЯ ІНШОЇ ВЛАСНОСТІ, А ТАКОЖ ПРИЗВЕДЕ ДО ВТРАТИ БУДЬ-ЯКИХ ГАРАНТІЙНИХ ЗОБОВ'ЯЗАНЬ, ЗАСТОСОВНИХ ДО ЦИХ ВИРОБІВ.

КОМПАНІЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕ ЖОДНОЇ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ, ЩО ВИНΙΚАЄ ВНАСЛІДОК НЕНАЛЕЖНОГО ВИКОРИСТАННЯ ВИРОБІВ, ОПИСАНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ (ВКЛЮЧНО З ЙОГО ЧАСТИНАМИ АБО ПРОГРАМНИМ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯМ).

© Illumina, Inc., 2021. Усі права застережено.

Усі товарні знаки — власність компанії Illumina, Inc. або їхніх відповідних власників. Конкретна інформація про товарні знаки зазначена на сторінці www.illumina.com/company/legal.html.

Історія редакцій

Документ	Дата	Опис змін
Документ № 1000000041922, версія 03	Жовтень 2021 р.	Додано нотатку про таймер із відліком 7 днів у розділі «Перевірки для прогонів секвенування». У розділ «Робочий процес секвенування» додано пункт про створення прогону за допомогою програмного забезпечення Local Run Manager. Змінено межу стабільності. У типи BeadChip додано Infinium Methylation EPIC. Оновлено зображення значків з огляду на зміни в інтерфейсі користувача.
Документ № 1000000041922, версія 02	Листопад 2020 р.	Оновлено рисунок у розділі «Виконання ручного промивання», щоб відобразити нові картриджі для промивання реагентів і буферні промивні картриджі. Інформацію про рядок стану оновлено додатковими кольорами.
Документ № 1000000041922, версія 01	Березень 2018 р.	У розділі «Налаштування параметрів системи» додано інформацію щодо служби моніторингу Illumina Proactive.
Документ № 1000000041922, версія 00	Листопад 2017 р.	Початкова редакція.

Зміст

Розділ 1 Огляд	1
Про цей посібник	1
Вступ	1
Додаткові ресурси	2
Компоненти приладу	3
Огляд набору реагентів	6
Огляд витратних матеріалів для секвенування	6
Розділ 2 Початок роботи	11
Запуск приладу	11
Налаштування параметрів системи	12
Витратні матеріали й обладнання, що замовляє користувач	13
Розділ 3 Секвенування	15
Вступ	15
Робочий процес секвенування	16
Підготовка картриджа з реагентами	16
Підготовка проточної кювети	17
Підготовка бібліотек для секвенування	17
Налаштування прогону секвенування	18
Відстеження виконання прогону	25
Автоматичне промивання після прогону	27
Розділ 4 Сканування	29
Вступ	29
Робочий процес сканування	30
Завантаження папки DMAP	30
Завантаження BeadChip на адаптер	31
Налаштування сканування	32
Відстеження проходження сканування	34
Розділ 5 Технічне обслуговування	37
Вступ	37
Виконання ручного промивання	37
Заміна повітряного фільтра	40
Оновлення програмного забезпечення	42
Параметри перезавантаження й завершення роботи	43
Додаток А Виправлення несправностей	45
Вступ	45
Файли для пошуку й усунення несправностей	45
Усунення помилок автоматичної перевірки	46
Контейнер для відпрацьованих реагентів переповнено	48

Процес повторної гібридизації	48
Помилки BeadChip і сканування	50
Користувацькі набори параметрів і папки з наборами параметрів	52
Повідомлення про помилку RAID	53
Налаштування параметрів системи	53
Додаток В Real-Time Analysis	57
Огляд Real-Time Analysis	57
Робочий процес Real-Time Analysis	58
Додаток С Файли й папки з вихідними даними	63
Файли з вихідними даними секвенування	63
Структура папки вихідних даних	66
Файли вихідних даних сканування	67
Структура папки вихідних даних сканування	67
Показчик	69
Технічна допомога	73

Розділ 1 Огляд

Про цей посібник	1
Вступ	1
Додаткові ресурси	2
Компоненти приладу	3
Огляд набору реагентів	6
Огляд витратних матеріалів для секвенування	6

Про цей посібник

У цьому посібнику до приладу наведено інструкції з використання приладу NextSeq 550Dx у режимі дослідження (research use only, RUO).

Вступ

Особливості секвенування

- ▶ **Високопродуктивне секвенування:** прилад NextSeq™ 550Dx дає змогу секвенувати бібліотеки ДНК.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA):** оброблює зображення й розпізнає азотисті основи. Додаткову інформацію див. в розділі *Real-Time Analysis* на стор. 57.
- ▶ **On-instrument data analysis capability** (Можливість аналізу даних на приладі) — зазначені для прогону модулі аналізу програмного забезпечення для аналізу можуть аналізувати дані прогону.
- ▶ **Завантаження з вибором операційної системи:** прилад NextSeq 550Dx містить окремі жорсткі диски, які підтримують діагностичний режим (Dx) і режим дослідження (RUO).

Особливості сканування масиву

- ▶ **Integrated array scanning in control software** (Інтегроване сканування масивів у керівному програмному забезпеченні) — прилад NextSeq 550Dx дає змогу перемикатися між скануванням масивів і секвенуванням із високою пропускну здатністю на тому самому приладі й у тому самому керівному програмному забезпеченні.
- ▶ **Extended imaging capability** (Розширені можливості візуалізації) — система візуалізації в приладі NextSeq 550Dx містить програмне забезпечення й модифікації платформи, які дають змогу формувати зображення з більшою площею поверхні, щоб для сканування BeadChip було достатньо місця.
- ▶ **BeadChip types** (Типи BeadChip) — серед сумісних типів BeadChip: CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC і Karyomap-12.
- ▶ **Адаптер BeadChip** — багаторазовий адаптер BeadChip дає можливість легко завантажувати BeadChip на прилад.
- ▶ **Аналіз даних** — для аналізу даних масиву використовуйте програмне забезпечення BlueFuse® Multi.

Додаткові ресурси

Для завантаження із сайту компанії Illumina доступна наведена нижче документація.

Ресурс	Опис
<i>Посібник із підготовки робочого місця для приладу NextSeq 550Dx (документ № 1000000009869_ukr)</i>	Містить опис лабораторного простору, вимоги до електрозабезпечення й рекомендації щодо навколишнього середовища.
<i>Посібник із безпеки й нормативно-правової відповідності приладу NextSeq 550Dx (документ № 1000000009868_ukr)</i>	Надає відомості про рекомендації з експлуатаційної безпеки, декларації нормативно-правової відповідності й маркування приладу.
<i>Посібник з нормативно-правової відповідності зчитувача RFID (документ № 1000000030332_ukr)</i>	Містить інформацію про RFID-зчитувач, установлений у прилад, сертифікати відповідності та рекомендації щодо безпеки.
<i>Довідковий посібник до приладу NextSeq 550Dx у режимі дослідження (документ № 1000000041922_ukr)</i>	Містить інструкції щодо експлуатації приладу та процедури виправлення несправностей. Для використання під час експлуатації приладу NextSeq 550Dx у режимі дослідження з програмним забезпеченням NextSeq Control Software (NCS) v3.0.
<i>Посібник до системи NextSeq 550 (документ № 15069765_ukr)</i>	Містить інструкції щодо експлуатації приладу та процедури виправлення несправностей. Для використання під час експлуатації приладу NextSeq 550Dx у режимі дослідження з програмним забезпеченням NextSeq Control Software (NCS) v4.0 або пізнішої версії.
<i>Посібник до системи NextSeq 550</i>	Містить огляд компонентів приладу, інструкції з експлуатації приладу й процедури з технічного обслуговування та виправлення несправностей.
<i>Довідка BaseSpace</i>	Містить інформацію про використання BaseSpace™ Sequence Hub і доступних варіантів аналізу.

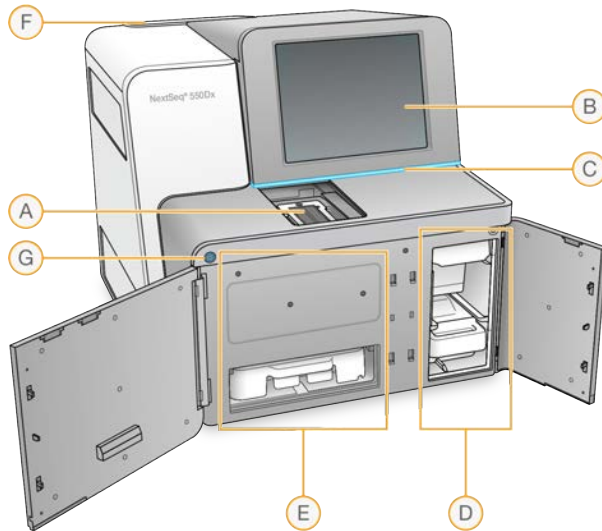
Щоб отримати доступ до документації, завантажень програмного забезпечення, онлайн-навчання й актуальних запитань, відвідайте [сторінку підтримки приладу NextSeq 550Dx](#) на вебсайті компанії Illumina.

Щоб отримати доступ до документації, завантажень програмного забезпечення, онлайн-навчання й актуальних запитань, відвідайте [сторінки підтримки NextSeq 550Dx](#) на вебсайті компанії Illumina.

Компоненти приладу

Прилад NextSeq 550Dx містить монітор із сенсорним екраном, рядок стану й 4 відсіки.

Рисунок 1 Компоненти приладу



- A **Відсік для візуалізації** містить проточну кювету під час прогону секвенування.
- B **Монітор із сенсорним екраном** дає змогу вибирати конфігурацію й налаштування на приладі, використовуючи інтерфейс системного програмного забезпечення.
- C **Рядок стану** показує стан приладу: обробка (синій), потрібна увага (помаранчевий), готовність до секвенування (зелений), ініціалізація (чергування синього й білого), ще не ініціалізовано (білий) або протягом наступних 24 годин потрібне промивання (жовтий).
- D **Буферний відсік** містить картридж з буферами й контейнер для відпрацьованих реагентів.
- E **Відсік для реагентів** містить картридж із реагентами.
- F **Відсік повітряного фільтра** містить повітряний фільтр. Доступ до фільтра можна отримати із заднього боку приладу.
- G **Кнопка живлення** вмикає або вимикає прилад і його комп'ютер.

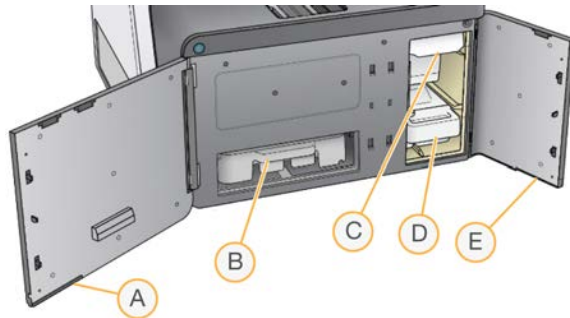
Відсік для візуалізації

Відсік для візуалізації містить платформу з трьома напрямними штифтами, які дають змогу встановити в правильному положенні проточну кювету. Після завантаження проточної кювети дверцята відсіку для візуалізації автоматично закриваються й переміщують компоненти на місце.

Відсік для реагентів і буферний відсік

Щоб налаштувати прогін секвенування на приладі NextSeq 550Dx, потрібен доступ до відсіку реагентів і буферного відсіку для завантаження витратних матеріалів для прогону й спорожнення контейнера відпрацьованих реагентів.

Рисунок 2 Відсік для реагентів і буферний відсік



- A **Дверцята відсіку для реагентів:** закривають відсік для реагентів засувкою під правим нижнім кутом дверцят. Відсік для реагентів містить картридж з реагентами.
- B **Картридж із реагентами:** попередньо заповнений одноразовий витратний матеріал.
- C **Картридж із буферами:** попередньо заповнений одноразовий витратний матеріал.
- D **Контейнер для відпрацьованих реагентів:** відпрацьовані реагенти збираються для утилізації після кожного прогону.
- E **Дверцята буферного відсіку:** закривають буферний відсік засувкою під лівим нижнім кутом дверцят.

Відсік повітряного фільтра

Відсік повітряного фільтра, розташований у задній частині приладу, містить повітряний фільтр. Замініть повітряний фільтр що 90 днів. Інформацію про заміну фільтра див. в розділі [Заміна повітряного фільтра](#) на стор. 40.



Програмне забезпечення NextSeq 550Dx




Програмне забезпечення приладу містить інтегровані програми, які виконують прогони секвенування.

- ▶ **Програмне забезпечення NextSeq Control Software (NCS)** — керівне програмне забезпечення, що допомагає виконати етапи з налаштування прогону секвенування.
- ▶ **Програмне забезпечення Real-Time Analysis (RTA)** під час прогону виконує аналіз зображень і розпізнавання азотистих основ. У приладі NextSeq 550Dx використовується програма RTA v2, яка містить важливі відмінності в архітектурі й функціях, як порівняти з попередніми версіями. Додаткову інформацію див. в розділі [Real-Time Analysis](#) на стор. 57.

Значки стану

Значок стану у верхньому правому куті NCS сигналізує про будь-які зміни станів під час налаштування або виконання прогону.

Значок стану	Найменування стану	Опис
	Стан ОК	Система функціонує нормально.
	Обробка	Система виконує обробку.

Значок стану	Найменування стану	Опис
	Застереження	Виникло застереження. Застереження не зупиняють прогін і не потребують уживання жодних заходів перед продовженням роботи.
	Помилка	Сталася помилка. Помилки потребують уживання заходів перед продовженням прогону.
	Потрібне обслуговування	Виникло повідомлення, яке потребує уваги. Додаткову інформацію див. в повідомленні.

Коли відбувається зміна стану, значок блимає, щоб попередити вас. Виберіть значок, щоб переглянути опис стану. Виберіть **Acknowledge** (Підтвердити), щоб прийняти повідомлення, і **Close** (Закрити), щоб закрити діалогове вікно.

ПРИМІТКА

Підтвердження повідомлення скидає значок, і повідомлення стає сірим. Користувач усе ще може переглянути повідомлення, вибравши значок, але після перезапуску NCS повідомлення зникне.

Кнопка живлення

Кнопка живлення на передній панелі NextSeq 550Dx умикає живлення приладу та його комп'ютера. Залежно від стану живлення приладу кнопка живлення виконує зазначені нижче дії. За замовчуванням NextSeq 550Dx завантажується в діагностичному режимі.

Щоб отримати інформацію про початкове увімкнення живлення приладу, див. розділ [Запуск приладу на стор. 11](#).

Щоб отримати інформацію про завершення роботи приладу, див. розділ [Завершення роботи приладу на стор. 43](#).

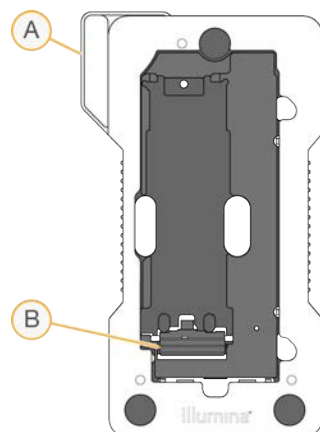
Стан живлення	Дія
Прилад вимкнено	Натисніть кнопку, щоб увімкнути живлення.
Прилад увімкнено	Натисніть кнопку, щоб вимкнути живлення. На екрані з'явиться діалогове вікно для підтвердження завершення роботи приладу.
Прилад увімкнено	Натисніть й утримуйте кнопку живлення протягом 10 секунд, щоб різко завершити роботу приладу та його комп'ютера. Використовуйте цей метод, щоб вимкнути прилад, тільки якщо він не відповідає.

ПРИМІТКА. Вимкнення приладу під час прогону секвенування негайно завершує прогін. Завершення прогону остаточне. Витратні матеріали прогону не можна використовувати повторно, і дані секвенування з прогону не зберігаються.

Огляд багаторазового адаптера BeadChip

Багаторазовий адаптер BeadChip утримує BeadChip під час сканування. BeadChip закріплюється на втопленій полиці адаптера за допомогою фіксувального затискача. Потім адаптер BeadChip завантажується на платформу у відсіку для візуалізації.

Рисунок 3 Багаторазовий адаптер BeadChip



- A Адаптер BeadChip
- B Фіксувальний затискач

Огляд набору реагентів

Огляд витратних матеріалів для секвенування

Витратні матеріали для секвенування, потрібні для роботи NextSeq 550Dx, надаються окремо в одноразовому наборі. У кожному наборі є одна проточна кювета, картридж з реагентами, картридж з буферами й буфер для розведення бібліотеки. Щоб отримати додаткову інформацію, див. інструкцію з використання *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cycles)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles)* або *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)*.

Для проточної кювети, картриджа з реагентами й картриджа з буферами використовується радіочастотна ідентифікація (radio-frequency identification, RFID) задля точного відстеження витратних матеріалів і забезпечення сумісності.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Для наборів реагентів NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 потрібне програмне забезпечення NOS версії 1.3 або пізнішої, щоб прилад приймав картриджі проточної кювети Flow Cell Cartridge v2.5. Оновіть програмне забезпечення, перш ніж готувати зразки й витратні матеріали, щоб уникнути марнування реагентів і/або зразків.



ПРИМІТКА

Зберігайте витратні матеріали для секвенування у відповідних коробках, доки вони не будуть готові до використання.

Маркування сумісності набору

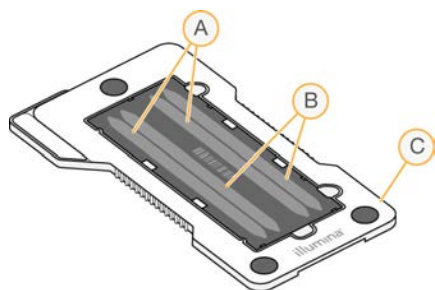
Компоненти набору позначено кольоровими індикаторами, щоб показати сумісність між проточними кюветами й картриджами з реагентами. Завжди використовуйте сумісні картридж із реагентами й проточну кювету. Картридж із буферами універсальний.

Кожна проточна кювета й картридж із реагентами мають маркування **High** або **Mid**. Завжди перевіряйте етикетку, коли готуєте витратні матеріали для прогону.

Тип набору	Маркування на етикетці
Компоненти набору з високим вихідним рівнем	
Компоненти набору із середнім вихідним рівнем	

Огляд проточної кювети

Рисунок 4 Картридж проточної кювети



- A Пара доріжок А — доріжки 1 і 3
- B Пара доріжок В — доріжки 2 й 4
- C Рама картриджа проточної кювети

Проточна кювета — підкладка на основі скла, на якій генеруються кластери й виконується реакція секвенування. Проточну кювету укладено в картридж проточної кювети.

Проточна кювета містить 4 доріжки, які візуалізуються в парах.

- ▶ Доріжки 1 і 3 (пара доріжок А) візуалізуються одночасно.
- ▶ Доріжки 2 й 4 (пара доріжок В) візуалізуються, коли завершується візуалізація пари доріжок А.

Хоча проточна кювета має 4 доріжки, на проточній кюветі секвенують лише одну бібліотеку або набір об'єднаних бібліотек. Бібліотеки завантажуються на картридж із реагентами з одного резервуара й автоматично передаються до проточної кювети на всі 4 доріжки.

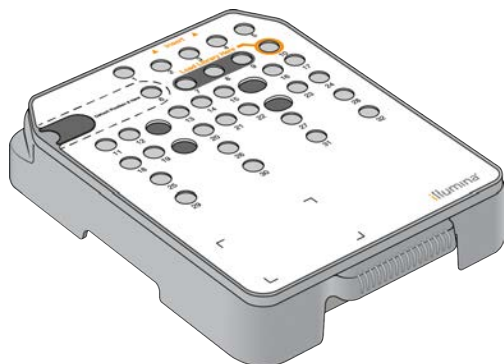
Кожна доріжка візуалізується в невеликих ділянках, що називаються сегментами.

Додаткову інформацію див. в розділі *Сегменти проточної кювети* на стор. 63.

Огляд картриджа з реагентами

Картридж із реагентами — одноразовий витратний матеріал із RFID-трекером і запаяними фольгою резервуарами, попередньо заповненими реагентами для кластеризації й секвенування.

Рисунок 5 Картридж із реагентами



Картридж із реагентами містить спеціальний резервуар для завантаження підготовлених бібліотек. Після початку прогону бібліотеки автоматично переносяться з резервуара до проточної кювети.

Кілька резервуарів виділено для автоматичної промивки після прогону. Розчин для промивання перекачується з буферного картриджа до виділених резервуарів, через систему, а потім до контейнера для відпрацьованих реагентів.

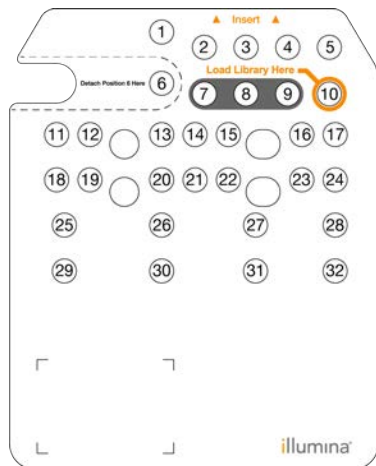


ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг з огляду на ризик певного впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними залишками й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

Виділені резервуари

Рисунок 6 Пронумеровані резервуари



Положення	Опис
7, 8 і 9	Виділено для необов'язкових користувацьких праймерів
10	Завантаження бібліотек

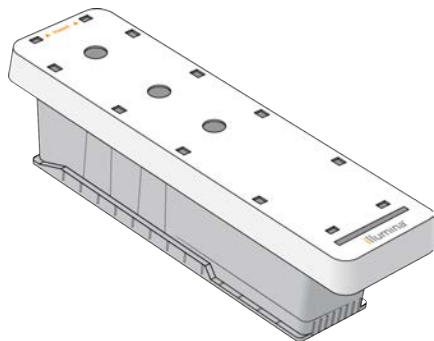
Знімний резервуар у положенні № 6

Попередньо заповнений картридж із реагентами містить у положенні № 6 реагент для денатурації, до складу якого входить формамід. Щоб полегшити безпечну утилізацію будь-якого невикористаного реагенту після прогону секвенування, резервуар у положенні 6 знімний. Додаткову інформацію див. в розділі [Знімання використаного резервуара в положенні № 6 на стор. 22](#).

Огляд картриджа з буферами

Картридж із буферами — одноразовий витратний матеріал, що містить три резервуари, попередньо заповнені буферами й розчином для промивки. Умісту картриджа з буферами достатньо для секвенування однієї проточної кювети.

Рисунок 7 Картридж із буферами



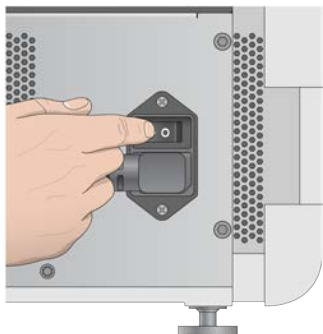
Розділ 2 Початок роботи

Запуск приладу	11
Налаштування параметрів системи	12
Витратні матеріали й обладнання, що замовляє користувач	13

Запуск приладу

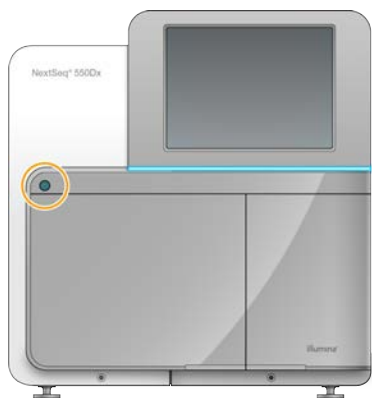
Увімкніть тумблер живлення в положення I (увімк.).

Рисунок 8 Вимикач живлення, розташований на задній панелі приладу



- 1 Натисніть кнопку живлення над відсіком для реагентів. Натискання кнопки живлення вмикає прилад і запускає вбудований комп'ютер і програмне забезпечення приладу.

Рисунок 9 Кнопка живлення, розташована на передній панелі приладу



- 2 Дочекайтеся завершення завантаження операційної системи.
Програмне забезпечення NextSeq Control Software (NCS) автоматично запускає й ініціалізує систему. Після завершення кроку ініціалізації відкривається головний екран.
- 3 Уведіть ім'я користувача й пароль Local Run Manager.
Щоб отримати інформацію про паролі, див. розділ *Паролі користувачів* на стор. 1.
Щоб отримати інформацію про налаштування облікового запису в Local Run Manager, див. розділ *Налаштування й завдання з правами адміністратора* на стор. 1.
- 4 Виберіть **Login** (Увійти).
Відкриється екран Home (Головний екран) зі значками Sequence (Послідовність), Local Run Manager, Manage Instrument (Керування приладом) і Perform Wash (Виконання промивання).

Індикатори режимів приладу

За замовчуванням прилад NextSeq 550Dx перебуває в діагностичному режимі. Нижче наведено характерні відмінності екрана NCS у кожному з режимів приладу.

Режим	Головний екран	Кольорова смуга	Орієнтація значка стану
Діагностичний режим	Ласкаво просимо в NextSeqDx	Синя	Горизонтальна
Режим дослідження	Ласкаво просимо в NextSeq	Помаранчева	Вертикальна

Налаштування параметрів системи

Системне програмне забезпечення містить доступні для налаштування параметри системи для ідентифікації приладу, параметри введення, параметри звуку, а також розташування папки вихідних даних. Щоб змінити параметри налаштування мережі, див. розділ [Налаштування параметрів системи](#) на стор. 53.

Параметри налаштування

- ▶ Налаштування ідентифікації приладу (аватар і псевдонім)
- ▶ Установлення параметра введення й звукового індикатора
- ▶ Установлення параметрів налаштування прогону
- ▶ Параметри завершення роботи
- ▶ Налаштування запуску приладу після перевірки перед прогоном
- ▶ Надсилання даних про продуктивність приладу до компанії Illumina
- ▶ Призначення вихідної папки прогону

Налаштування аватара й псевдоніму приладу

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Щоб призначити бажане зображення для свого приладу, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до зображення.
- 4 У полі Nick Name (Псевдонім) уведіть бажану назву для приладу.
- 5 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування й перейти далі по екрану. Зображення та назва з'являються у верхньому лівому куті кожного екрана.

Установлення параметра введення з клавіатури й звукового індикатора

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Установіть прапорець **Use on-screen keyboard** (Використовувати екранну клавіатуру), щоб активувати екранну клавіатуру для введення даних у прилад.
- 4 Установіть прапорець **Play audio** (Відтворювати аудіо), щоб умикати звукові індикатори для таких подій.
 - ▶ Після ініціалізації приладу.
 - ▶ Після запуску прогону.

- ▶ У разі виникнення певних помилок.
- ▶ Коли потрібна взаємодія з користувачем.
- ▶ Коли прогін завершено.

5 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування й перейти далі по екрану.

Установлення параметрів налаштування прогону

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Customization** (Користувацьке налаштування системи).
- 2 Установіть прапорець **Use Advanced Load Consumables** (Використовувати розширене завантаження витратних матеріалів), щоб увімкнути функцію завантаження всіх витратних матеріалів на одному екрані.
- 3 Установіть прапорець **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Пропускати підтвердження перевірки перед прогоном), щоб автоматично запускати секвенування після успішної автоматичної перевірки.
- 4 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та вийти з екрана.

Установлення параметра автоматичного очищення

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Customization** (Користувацьке налаштування системи).
- 2 Установіть прапорець **Purge Consumables at End of Run** (Видаляти витратні матеріали наприкінці прогону), щоб автоматично видаляти невикористані реагенти з картриджа з реагентами в контейнер для відпрацьованих реагентів після кожного прогону.

ПРИМІТКА. Очищення витратних матеріалів автоматично збільшує час робочого процесу.

- 3 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та вийти з екрана.

Витратні матеріали й обладнання, що замовляє користувач

На приладі NextSeq 550Dx використовуються наведені далі витратні матеріали й обладнання. Зазначені нижче витратні матеріали й обладнання використовуються для підготовки витратних матеріалів, секвенування й обслуговування приладу. Докладніше див. в *Посібнику до системи NextSeq 550*.

Витратні матеріали для секвенування

Витратний матеріал	Постачальник	Мета
Серветки, просочені ізопропіловим спиртом, 70 %, чи етанолом, 70 %	VWR, № 95041-714 за каталогом (або еквівалентний). Неконкретний постачальник лабораторії	Очищення проточної кювети й загальне призначення
Низьковорсова лабораторна серветка	VWR, № 21905-026 за каталогом (або еквівалентний)	Очищення проточної кювети й загальне призначення

Витратні матеріали для технічного обслуговування та виправлення несправностей

Витратний матеріал	Постачальник	Мета
NaOCl, 5 % (гіпохлорит натрію)	Sigma-Aldrich, № 239305 за каталогом (або еквівалент за хімічною чистотою)	Промивання приладу з використанням ручного промивання після прогону; розведено до концентрації 0,12 %
Tween 20	Sigma-Aldrich, № P7949 за каталогом	Промивання приладу з використанням параметрів ручного промивання; розведено до концентрації 0,05 %
Вода, хімічно чиста	Неконкретний постачальник лабораторії	Промивання приладу (промивання вручну)
Повітряний фільтр	Illumina, № 20022240 за каталогом	Очищення повітря, що надходить до приладу для охолодження

Рекомендації щодо хімічно чистої води

Для виконання процедур приладу завжди використовуйте хімічно чисту або деіонізовану воду. Використання водопровідної води заборонено. Використовуйте тільки наведені нижче класи води або їхні еквіваленти.

- ▶ Деіонізована вода.
- ▶ Illumina PW1.
- ▶ Вода 18 мегаом (МОм).
- ▶ Вода Milli-Q.
- ▶ Вода Super-Q.
- ▶ Вода для молекулярної біології.

Обладнання

Позиція	Джерело
Морозильна камера, від -25 °C до -15 °C, без утворення криги	Постачальник загальнолабораторного обладнання
Холодильник, від 2 °C до 8 °C	Постачальник загальнолабораторного обладнання

Розділ 3 Секвенування

Вступ	15
Робочий процес секвенування	16
Підготовка картриджа з реагентами	16
Підготовка проточної кювети	17
Підготовка бібліотек для секвенування	17
Налаштування прогону секвенування	18
Відстеження виконання прогону	25
Автоматичне промивання після прогону	27

Вступ

Щоб виконати прогін секвенування на приладі NextSeq 550Dx, підготуйте картридж із реагентами й проточну кювету, а потім дотримуйтесь інструкцій програмного забезпечення для налаштування й запуску прогону. Генерування кластерів і секвенування виконуються на приладі. Після прогону автоматично починається промивка приладу з використанням компонентів, уже завантажених у прилад.

Генерування кластерів

Під час генерування кластерів молекули одноланцюгової ДНК зв'язуються з поверхнею проточної кювети й потім ампліфікуються з утворенням кластерів.

Секвенування

Кластери візуалізують із використанням хімічного методу з двоканальним секвенуванням і комбінацій фільтрів, специфічних для кожного з нуклеотидів із флуоресцентною міткою. Після того як візуалізацію сегмента на проточній кюветі завершено, візуалізується наступний сегмент. Цей процес повторюється для кожного циклу секвенування. Після аналізу зображення програмне забезпечення виконує розпізнавання азотистих основ, фільтрацію й оцінку якості.

Аналіз

Під час виконання прогону системне програмне забезпечення автоматично передає файли розпізнаних азотистих основ (BCL) до зазначеного розташування вихідних даних для проведення вторинного аналізу.

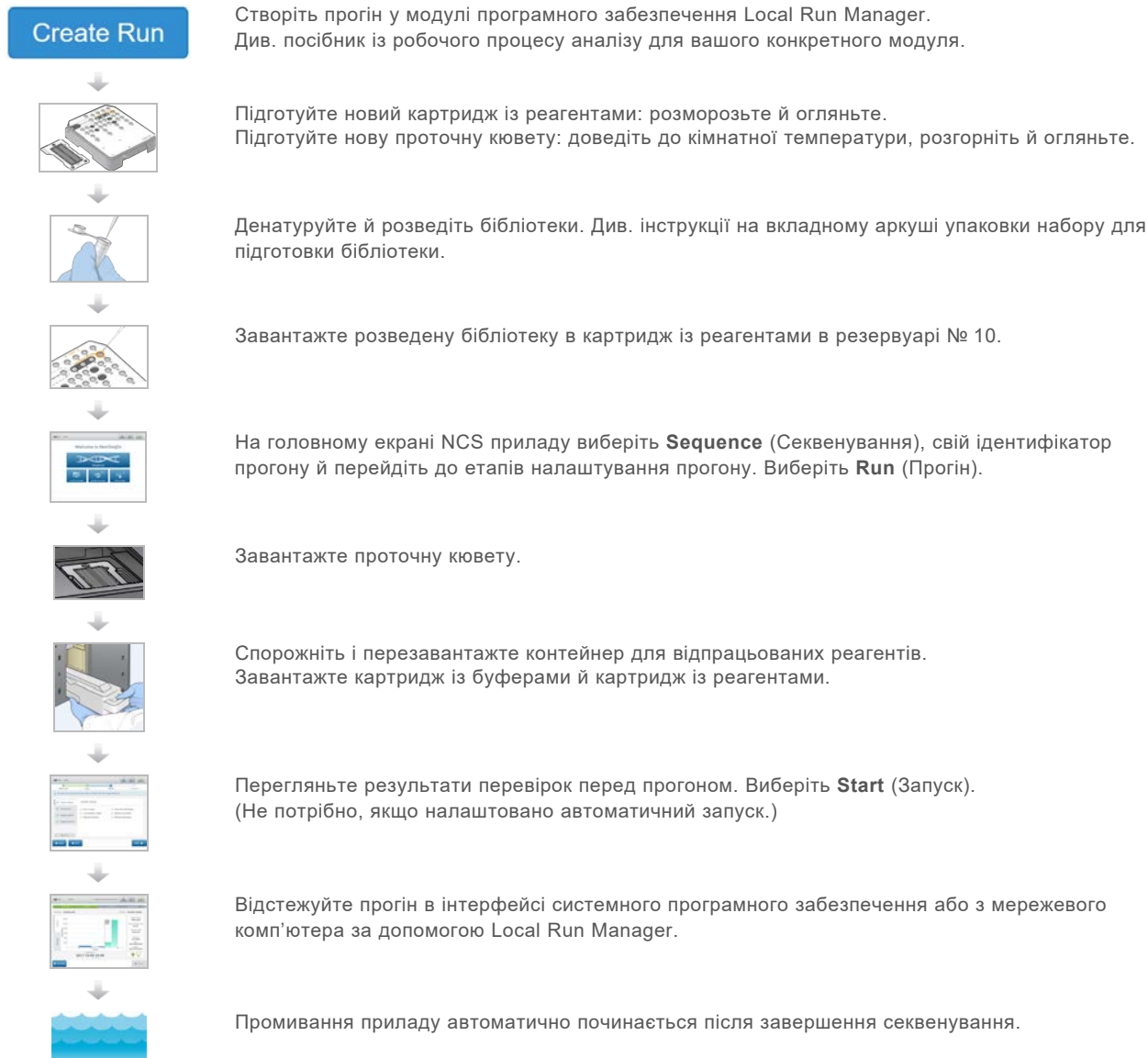
Тривалість прогону секвенування

Тривалість прогону секвенування залежить від кількості виконаних циклів. Максимальна довжина прогону — це прогін із секвенуванням парних кінцевих фрагментів зі 150 циклами в кожному зчитуванні (2×150), плюс до 8 циклів у кожному з 2 зчитувань індексу.

Кількість циклів на зчитування

У прогоні секвенування число циклів, виконаних на зчитування, на 1 більше, ніж кількість проаналізованих циклів. Наприклад, під час 150-циклового прогону із секвенуванням парних кінцевих фрагментів виконується зчитування 151 циклу (2×151), що дає разом 302 цикли. Наприкінці прогону аналізуються 2×150 циклів. Додатковий цикл потрібний для розрахунків фазування й попереднього фазування.

Робочий процес секвенування



Підготовка картриджа з реагентами

Ретельно дотримуйтеся вказівок щодо картриджа з реагентами, щоб успішно виконати секвенування.

- 1 Вийміть картридж із реагентами з місця зберігання, у якому підтримується температура від -25 до -15 °C.
- 2 Виберіть один із наведених нижче методів розмороження реагентів. Не занурюйте картридж. Після розморожування картриджа висушіть його, перш ніж перейти до наступного етапу.

Температура	Тривалість розморожування	Межа стабільності
Водяна баня від 15 °C до 30 °C	60 хвилин	Не більше ніж 6 годин
Від 2 до 8 °C	7 годин	Не більше ніж 7 днів

ПРИМІТКА. У разі розморожування декількох картриджів на одній водяній бані тривалість розморожування збільшується.

- 3 Переверніть картридж п'ять разів для перемішування реагентів.
- 4 Перевірте нижню частину картриджа, щоб переконатися, що реагенти відтанули й не містять осадів. Переконайтеся, що положення 29, 30, 31 і 32 відтанули, тому що вони найбільші й розморожуються найдовше.
- 5 Обережно постукайте по столу, щоб зменшити кількість бульбашок повітря.
Для отримання найкращих результатів перейдіть безпосередньо до завантаження зразка та налаштування прогону.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг з огляду на ризик певного впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними залишками й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

Підготовка проточної кювети

- 1 Витягніть коробку з новою проточною кюветою з місця для зберігання за температури від 2 °C до 8 °C.
- 2 Вийміть з коробки пакування з фольги й відкладіть для витримки за кімнатної температури протягом 30 хвилин.

ПРИМІТКА. Якщо упаковку з фольги не ушкоджено, проточна кювета може бути за кімнатної температури до 12 годин. Уникайте повторних охолодження й нагрівання проточної кювети.

Підготовка бібліотек для секвенування

Денатуруйте й розведіть свої бібліотеки до об'єму завантаження 1,3 мл. На практиці концентрація завантаження може залежати від підготовки бібліотеки й методів кількісного оцінювання. Розведення бібліотек зразків залежить від складності олігонуклеотидних пулів. Указівки щодо підготовки бібліотек зразків для секвенування, зокрема щодо розведення й об'єднання бібліотек, див. в розділі «Інструкції з використання» застосовного набору для підготовки бібліотек. Щільність кластера в NextSeq 550Dx потрібно оптимізувати.

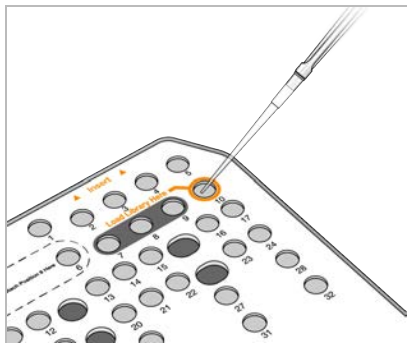
Денатурування й розведення бібліотек

Денатуруйте й розведіть бібліотеки до об'єму завантаження 1,3 мл і концентрації завантаження 1,8 пМ. На практиці концентрація завантаження може залежати від підготовки бібліотеки й методів кількісного оцінювання. Див. інструкції на вкладному аркуші упаковки набору для підготовки бібліотеки.

Завантаження бібліотек у картридж із реагентами

- 1 Очистьте фольгове ущільнення, що закриває резервуар № 10 із написом **Load Library Here** (Завантажити бібліотеку тут), з використанням низьковорсової серветки.
- 2 Проткніть ущільнення чистим наконечником піпетки об'ємом 1 мл.
- 3 Завантажте 1,3 мл підготовлених бібліотек у резервуар № 10, позначений написом **Load Library Here** (Завантажити бібліотеку тут). Уникайте дотику до фольгового ущільнення під час розподілу бібліотек.

Рисунок 10 Завантаження бібліотек



Налаштування прогону секвенування

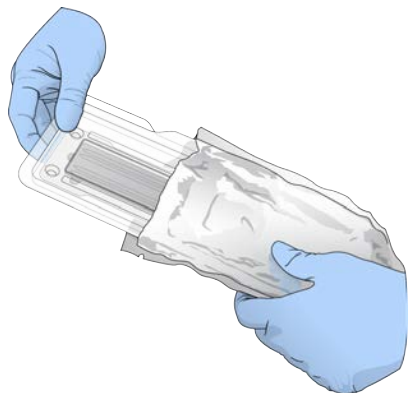
Вхід у BaseSpace

- 1 Уведіть ім'я користувача й пароль BaseSpace.
- 2 Виберіть **Next** (Далі).

Завантаження проточної кювети

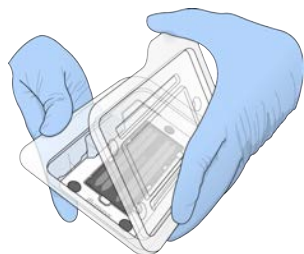
- 1 Зніміть використану проточну кювету від попереднього прогону.
- 2 Вийміть проточну кювету з фольгової упаковки.

Рисунок 11 Виймання з фольгової упаковки



- 3 Відкрийте прозорий пластиковий двостулковий контейнер і дістаньте проточну кювету.

Рисунок 12 Виймання з двостулкового контейнера

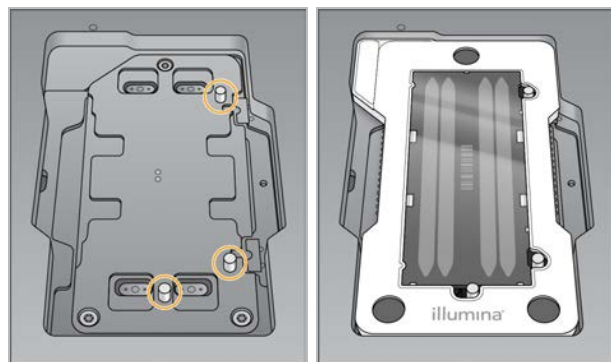


- 4 Протріть скляну поверхню проточної кювети просоченою спиртом безворсовою серветкою. Досуша витріть скло низьковорсовою лабораторною серветкою.

ПРИМІТКА. Переконайтеся, що скляна поверхня проточної кювети чиста. За потреби повторіть етап очищення.

- 5 Зіставте проточну кювету з напрямними штифтами й помістіть проточну кювету на платформу.

Рисунок 13 Завантаження проточної кювети



- 6 Виберіть **Load** (Завантажити).

Дверцята автоматично закриваються, на екрані з'являється ідентифікатор проточної кювети, і перевіряються датчики.

ПРИМІТКА. Тримайте руки подалі від дверцят відсіку проточної кювети, коли вони закриваються, щоб уникнути защемлення.

7 Виберіть **Next** (Далі).

Спорожнення контейнера для відпрацьованих реагентів

- 1 Відкрийте дверцята буферного відсіку за допомогою засувки під лівим нижнім кутом дверцят.
- 2 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів й утилізуйте вміст відповідно до застосовних стандартів.

Рисунок 14 Видалення контейнера для відпрацьованих реагентів



ПРИМІТКА. Коли знімаєте контейнер, підтримуйте його другою рукою знизу.

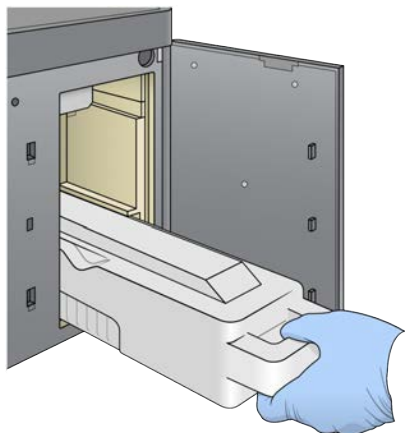


ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг з огляду на ризик певного впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними залишками й утилізуйте їх відповідно до застосовних регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

- 3 Уставте порожній контейнер для відпрацьованих реагентів у буферний відсік до упору. Чутне клацання вказує на те, що контейнер зайняв потрібне положення.

Рисунок 15 Завантаження порожнього контейнера для відпрацьованих реагентів



Завантаження картриджа з буферами

- 1 Вийміть використаний картридж із буферами з верхнього відсіку. Щоб підняти й вийняти картридж із буферами, потрібно докласти певне зусилля.
- 2 Уставте новий картридж із буферами в буферний відсік до упору. Чутне клацання вказує на те, що картридж стоїть на своєму місці, на екрані з'являється ідентифікатор картриджа з буферами, і перевіряється датчик.

Рисунок 16 Завантаження картриджа з буферами



- 3 Закрийте дверцята буферного відсіку й виберіть **Next** (Далі).

Завантаження картриджа з реагентами

- 1 Відкрийте дверцята відсіку для реагентів за допомогою засувки під правим нижнім кутом дверцят.
- 2 Вийміть використаний картридж із реагентами з відсіку для реагентів. Утилізуйте невикористані компоненти відповідно до застосовних стандартів.



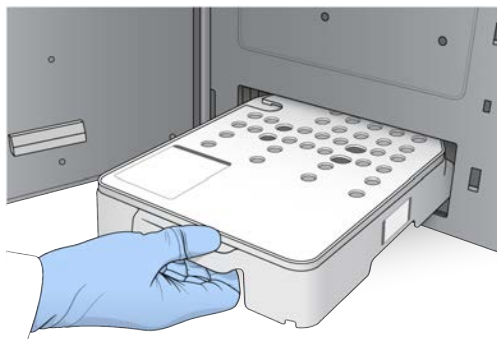
ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг з огляду на ризик певного впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними залишками й утилізуйте їх відповідно до застосовних регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

ПРИМІТКА. Щоб полегшити безпечну утилізацію невикористаного реагенту, резервуар у положенні № 6 знімний. Додаткову інформацію див. в розділі *Знімання використаного резервуара в положенні № 6* на стор. 22.

- Уставте картридж із реагентами у відсік для реагентів до упору, а потім закрийте дверцята цього відсіку.

Рисунок 17 Завантаження картриджа з реагентами

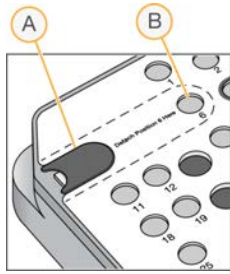


- Виберіть **Load** (Завантажити).
Програмне забезпечення автоматично переміщує картридж у положення (~ 30 секунд), на екрані з'являється ідентифікатор картриджа з реагентами, і перевіряються датчики.
- Виберіть **Next** (Далі).

Знімання використаного резервуара в положенні № 6

- Після того як ви вийняли **використаний** картридж із реагентами з приладу, зніміть захисну гумову кришку над пазом поруч із положенням № 6.

Рисунок 18 Знімне положення № 6



- A Захисна гумова кришка
- B Положення № 6

- 2 Натисніть на прозорий пластиковий язичок і проштовхніть його вліво, щоб витягти резервуар.
- 3 Утилізуйте резервуар відповідно до застосовних стандартів.

Зазначення параметрів прогону

Ці етапи на екрані Run Setup (Налаштування прогону) відрізняються залежно від налаштувань системи.

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace чи BaseSpace Onsite) — на екрані Run Setup (Налаштування прогону) представлено переліки прогонів, установлених на вкладці Prep (Підготовка) BaseSpace. Якщо цільовий прогін не з'явиться на екрані Run Setup (Налаштування прогону), перевірте, щоб прогін було промарковано як прогін для секвенування в BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (Автономно) — екран Run Setup (Налаштування прогону) містить поля для визначення параметрів прогону.

Вибір доступного прогону (налаштування BaseSpace)

- 1 Виберіть ім'я прогону зі списку доступних прогонів.
Використовуйте стрілки вгору й вниз, щоб прокрутити список, або введіть ім'я прогону в поле Search (Пошук).
- 2 Виберіть **Next** (Далі).
- 3 Підтвердьте параметри прогону.
 - ▶ **Run Name** (Ім'я прогону) — ім'я прогону, призначене в BaseSpace.
 - ▶ **Library ID** (Ідентифікатор бібліотеки) — ім'я об'єднаних у пул бібліотек, призначене в BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (Набір параметрів) — ім'я набору параметрів, **NextSeq High** або **NextSeq Mid**, залежно від картриджа з реагентами, що використовується для прогону.
 - ▶ **Read Type** (Тип зчитування) — Single Read (Зчитування одиничних кінцевих фрагментів) або Paired End (Зчитування парних кінцевих фрагментів).
 - ▶ **Read Length** (Тривалість зчитування) — кількість циклів на кожне зчитування.
 - ▶ **[Необов'язково.]** Користувацькі праймери, якщо є.
 - ▶ **Run parameters** (Параметри прогону) — змініть кількість зчитувань або кількість циклів на зчитування.


- ▶ **Custom primers** (Користувацькі праймери) — змініть налаштування для користувацьких праймерів. Додаткову інформацію див. в *Посібнику з користувацьких праймерів NextSeq (документ № 15057456_ukr)*.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Видалити витратні матеріали для цього прогону) — змініть налаштування автоматичного видалення витратних матеріалів після поточного прогону.

4 Виберіть **Next** (Далі).

Уведення параметрів прогону (налаштування автономного режиму)

- 1 Уведіть вибране вами ім'я прогону.
- 2 **[Необов'язково.]** Уведіть ідентифікатор бібліотеки, який ви вибрали.
- 3 Виберіть тип зчитування: **Single Read** (Зчитування одиничних кінцевих фрагментів) або **Paired End** (Зчитування парних кінцевих фрагментів).
- 4 Уведіть число циклів для кожного зчитування в прогоні секвенування.
 - ▶ **Read 1** (Зчитування 1) — уведіть значення до 151 циклу.
 - ▶ **Index 1** (Індекс 1) — уведіть кількість циклів, потрібну для праймера Index 1 (Індекс 1) (i7).
 - ▶ **Index 2** (Індекс 2) — уведіть кількість циклів, потрібну для праймера Index 2 (Індекс 2) (i5).
 - ▶ **Read 2** (Зчитування 2) — уведіть значення до 151 циклу. Це значення зазвичай збігається із числом циклів зчитування 1.

Керівне програмне забезпечення підтверджує введені вами дані, використовуючи вказані нижче критерії.





- ▶ Загальна кількість циклів не перевищує максимально допустимі.
 - ▶ Кількість циклів для зчитування 1 більша за 5 циклів, що використовуються для генерування шаблону.
 - ▶ Цикли зчитування індексу не перевищують цикли зчитування 1 і зчитування 2.
- 5 **[Необов'язково.]** Якщо ви використовуєте користувацькі праймери, установіть прапорець для праймерів, які застосовуються. Додаткову інформацію див. в *Посібнику з користувацьких праймерів NextSeq (документ № 15057456_ukr)*.
 - ▶ **Read 1** (Зчитування 1) — користувацький праймер для зчитування 1.
 - ▶ **Index 1** (Індекс 1) — користувацький праймер для індексу 1.
 - ▶ **Index 2** (Індекс 2) — користувацький праймер для індексу 2.
 - ▶ **Read 2** (Зчитування 2) — користувацький праймер для зчитування 2.
 - 6 **[Необов'язково.]** Натисніть кнопку **Advanced Settings**  (Додаткові параметри), щоб змінити параметри прогону.
 - ▶ У розкритому списку Recipe (Набір параметрів) виберіть набір параметрів. Перераховано лише сумісні набори параметрів.
 - ▶ **Output folder location** (Розташування папки вихідних даних) — змініть розташування папки вихідних даних для поточного прогону. Виберіть **Browse** (Огляд), щоб перейти до мережевого розташування.
 - ▶ **Included file** (Вкладений файл) — виберіть файли, що ввійдуть у папку вихідних даних і можуть бути корисними, якщо знадобиться подальший аналіз. Наприклад, файли маніфесту й переліки зразків.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Видалити витратні матеріали для цього прогону) — змініть налаштування автоматичного видалення витратних матеріалів після поточного прогону.

- ▶ **Use run monitoring for this run** (Використати моніторинг прогону для цього прогону) — змініть налаштування, щоб використати моніторинг прогону в BaseSpace.

7 Виберіть **Next** (Далі).

Огляд перевірки перед прогоном

Програмне забезпечення виконує автоматизовану перевірку системи перед прогоном. Під час перевірки на екрані з'являються індикатори, наведені нижче.

- ▶ **Сіра**  **галочка** — перевірку ще не виконано.
- ▶ Значок **перебігу**  — перевірка виконується.
- ▶ **Зелена**  **галочка** — перевірку пройдено успішно.
- ▶ **Червоний**  — перевірку пройдено з незадовільним результатом. Перш ніж можна буде продовжити роботу, для всіх елементів із незадовільним результатом перевірки потрібно вжити відповідних заходів. Див. розділ *Усунення помилок автоматичної перевірки на стор. 46*.

Щоб зупинити автоматизовану перевірку, яка виконується, перед прогоном, натисніть кнопку **Cancel** (Скасувати). Щоб перезапустити перевірку, натисніть кнопку **Retry** (Повторити). Перевірка відновлюється під час першої неповної або невдалої перевірки.

Щоб ознайомитися з результатами кожної окремої перевірки в категорії, виберіть вкладку Category (Категорія).

Якщо прилад не налаштовано на автоматичний запуск прогону, запустіть прогін після завершення автоматизованої перевірки перед прогоном.

Запуск прогону

Після завершення автоматизованої перевірки перед прогоном виберіть **Start** (Запуск). Почнеться виконання прогону секвенування.

Щоб налаштувати систему на автоматичний запуск прогону після успішної перевірки, див. розділ *Установлення параметрів налаштування прогону на стор. 13*.



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Обов'язково залишайтеся в системі Windows. У разі виходу із системи Windows під час прогону секвенування прогін буде припинено.

ПРИМІТКА. Реагенти не мають перебувати в приладі протягом більше ніж 24 годин.

Відстеження виконання прогону

- 1 Стежте за перебігом виконання прогону, значеннями інтенсивності й показниками якості, коли вони з'являються на екрані.









ПРИМІТКА. Після того як ви вибрали перехід до головного екрана, неможливо повернутися до перегляду показників прогону. Однак показники прогону доступні в BaseSpace або доступні для перегляду з окремого комп'ютера за допомогою Sequencing Analysis Viewer (SAV).

Цикли для показників прогону

Показники прогону з'являються в його різних точках.

- ▶ На етапах генерування кластера показники не відображаються.
- ▶ Перші 5 циклів зарезервовано для генерування шаблону.
- ▶ Показники прогону, зокрема щільність кластерів, доля кластерів, які пройшли крізь фільтр, вихід і якість, з'являються після циклу 25.

Передавання даних

Стан	Local Run Manager	Папка вихідних даних
Під'єднано		
Під'єднано, дані передаються		
Від'єднано		
Вимкнено		

Якщо під час прогону передавання даних переривається, дані тимчасово зберігаються на комп'ютері приладу. Коли з'єднання відновлюється, передавання даних продовжується автоматично. Якщо з'єднання не відновлюється до завершення прогону, перенесіть дані з комп'ютера приладу вручну, перш ніж запустити наступний прогін.

Служба Universal Copy Service

Пакет системного програмного забезпечення NextSeq 550Dx містить службу Universal Copy Service. RTA2 надсилає до цієї служби запит на копіювання файлів із вихідного розташування до розташування призначення, і служба обробляє запити на копіювання за порядком, у якому вони надходять. Якщо виникає виняток, файл ставиться в чергу для копіювання залежно від кількості файлів у черзі копіювання.

Sequencing Analysis Viewer

Програмне забезпечення Sequencing Analysis Viewer відображає показники секвенування, згенеровані під час прогону. Показники відображаються як діаграми, графіки й таблиці на основі даних, згенерованих RTA і записаних до файлів InterOp. Показники оновлюються в міру виконання прогону. Виберіть **Refresh** (Оновити) будь-коли під час прогону, щоб переглянути оновлені показники. Додаткову інформацію див. в *Sequencing Analysis Viewer User Guide* (Посібник користувача Sequencing Analysis Viewer) (документ № 15020619).

Sequencing Analysis Viewer входить до складу програмного забезпечення, встановленого на комп'ютері приладу. Для віддаленого моніторингу показників прогону Sequencing Analysis Viewer також можна встановити на інший комп'ютер, під'єднаний до тієї самої мережі, що й прилад.

Автоматичне промивання після прогону

Коли прогін секвенування завершено, програмне забезпечення запускає автоматичне промивання після прогону, використовуючи розчин для промивання, який міститься в картриджі з буферами, і NaOCl, що міститься в картриджі з реагентами.

Автоматичне промивання після прогону триває близько 90 хвилин. Коли промивання завершено, стає активною кнопка Home (Головний екран). Під час промивання результати секвенування залишаються видимими на екрані.

Після промивання

Після промивання сіппери залишаються в нижньому положенні, щоб запобігти потраплянню повітря в систему. Залиште картриджі на місці до наступного прогону.

Розділ 4 Сканування

Вступ	29
Робочий процес сканування	30
Завантаження папки DMAP	30
Завантаження BeadChip на адаптер	31
Налаштування сканування	32
Відстеження проходження сканування	34

Вступ

Щоб виконати сканування на приладі NextSeq 550Dx, знадобляться наведені нижче компоненти прогону.

- ▶ Гібридизований і забарвлений BeadChip.
- ▶ Багаторазовий адаптер BeadChip.
- ▶ Файли Decode Map (DMAP) для використовуваного BeadChip.
- ▶ Файл маніфесту для типу використовуваного BeadChip.
- ▶ Файл кластера для типу використовуваного BeadChip.

Файли вихідних даних створюються під час сканування, а потім поміщаються в чергу для передачі до зазначеної папки вихідних даних.

Виконайте аналіз за допомогою програмного забезпечення BlueFuse Multi, для якого потрібно, щоб дані сканування були доступні у форматі файлу розпізнавання генотипу (GTC).

За замовчуванням прилад NextSeq 550Dx генерує нормалізовані дані й пов'язані розпізнавання генотипу у форматі файлу GTC. Якщо потрібно, прилад можна налаштувати на створення додаткових файлів даних інтенсивності (IDAT). Додаткову інформацію див. в розділі *Налаштування сканування BeadChip на стор. 55*.

Клієнт декодування файлів

Папка DMAP містить інформацію, яка ідентифікує розташування гранул на BeadChip і кількісно визначає сигнал, пов'язаний із кожною гранулою. Кожна папка DMAP має відповідний штрих-код BeadChip.

Утиліта клієнта декодування файлів дає змогу завантажувати папки DMAP безпосередньо із серверів компанії Illumina за допомогою стандартного протоколу HTTP.

Щоб отримати доступ до клієнта декодування файлів, перейдіть на [сторінку підтримки клієнта декодування файлів](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) на вебсайті компанії Illumina (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Установіть клієнт декодування файлів на комп'ютер із доступом до мережевого розташування папки DMAP.

Додаткову інформацію див. в розділі *Завантаження папки DMAP на стор. 30*.

Файли маніфесту й файли кластерів

Для кожного BeadChip програмне забезпечення потребує доступу до файлу маніфесту й файлу кластерів. Кожен файл маніфесту й кластерів відповідає певному типу BeadChip. Переконайтеся, що ви використовуєте файли кластерів, які в імені містять NS550. Ці файли сумісні із системою NextSeq 550Dx.

- ▶ **Файл маніфесту** — файли маніфесту описують уміст SNP або зондів на BeadChip. Файли маніфесту використовують формат *.brm.

- ▶ **Файли кластерів** — файли кластерів описують положення кластерів для масиву генотипування Illumina й використовуються під час аналізу даних для розпізнавання генотипу. Файли кластерів використовують формат *.egt.

Розташування файлів указується на екрані BeadChip Scan Configuration (Налаштування сканування BeadChip). На головному екрані NCS виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом), **System Configuration** (Налаштування системи), а потім **BeadChip Scan Configuration** (Налаштування сканування BeadChip).

Коли прилад NextSeq 550Dx встановлено, представник компанії Illumina завантажує ці файли й указує шлях у керівному програмному забезпеченні. Немає потреби змінювати ці файли, за винятком випадків їх втрати або появи нової версії. Додаткову інформацію див. в розділі *Заміна файлів маніфесту й файлів кластерів на стор. 52*.

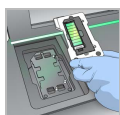
Робочий процес сканування

DMAP

Завантажте інформацію DMAP і збережіть її в зазначеному розташуванні папки DMAP.



Завантажте BeadChip на адаптер BeadChip.



Завантажте адаптер BeadChip у прилад.



Зазначте параметри сканування: розташування папки DMAP і вихідних даних.



Перегляньте результати автоматичної перевірки. Виберіть **Start** (Запуск).



Стежте за скануванням з інтерфейсу керівного програмного забезпечення.

Завантаження папки DMAP

Ви можете отримати доступ до папки DMAP за допомогою клієнта декодування файлів по обліковому запису або по BeadChip (стандартне подання).

Доступ до папки DMAP за обліковим записом

- 1 На головній вкладці клієнта декодування файлів виберіть варіант завантаження.
 - ▶ AutoPilot.
 - ▶ Усі BeadChip ще не завантажено.
 - ▶ Усі BeadChip.

- ▶ Чипи BeadChip за замовленням на постачання.
 - ▶ Чипи BeadChip за штрих-кодом.
- 2 Уведіть потрібну інформацію.
 - 3 Знайдіть папку DMAP, яку потрібно завантажити.
 - 4 Переконайтеся, що в кінцевому розташуванні завантаження достатньо вільного місця.
 - 5 Почніть завантаження. Переглядайте стан завантаження на вкладці Download Status and Log (Стан і журнал завантаження).
 - 6 Збережіть папку DMAP у вказаному для неї місці розташування.

Доступ до папки DMAP за BeadChip

- 1 Визначте чипи BeadChip, використовуючи 2 варіанти з наведених далі.
 - ▶ Штрих-код BeadChip.
 - ▶ Ідентифікатор коробки чипів BeadChip.
 - ▶ Номер замовлення на постачання.
 - ▶ Номер замовлення на продаж.
- 2 Знайдіть папку DMAP, яку потрібно завантажити.
- 3 Переконайтеся, що в кінцевому розташуванні завантаження достатньо вільного місця.
- 4 Почніть завантаження. Переглядайте стан завантаження на вкладці Download Status and Log (Стан і журнал завантаження).
- 5 Збережіть папку DMAP у вказаному для неї місці розташування.

Завантаження BeadChip на адаптер

- 1 Натисніть на фіксувальний затискач адаптера. Затискач злегка нахилиється назад, що дає змогу йому відкритися.
- 2 Утримуючи BeadChip за краї, розташуйте BeadChip зі штрих-кодом поруч із фіксувальним затискачем і помістіть BeadChip на втоплену полицю адаптера.

Рисунок 19 Завантаження BeadChip на адаптер



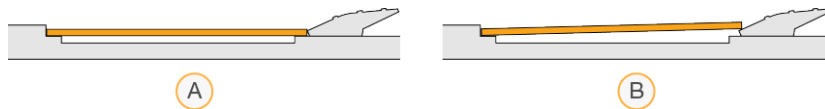
- 3 Використовуючи отвори з боків BeadChip, переконайтеся, що BeadChip встановлено в поглибленій полиці адаптера.

Рисунок 20 Установлення та фіксація BeadChip



- 4 Обережно відпустіть фіксувальний затискач, щоб зафіксувати BeadChip.
- 5 Огляньте BeadChip із боку, щоб переконалися: BeadChip рівно встановлено на адаптері. Якщо потрібно, змініть положення BeadChip.

Рисунок 21 Перевірка положення BeadChip



- A Правильне положення — якщо відпустити затискач, BeadChip залишається рівно встановленим на адаптері.
- B Неправильне положення — якщо відпустити затискач, BeadChip залишається встановленим нерівно.

Налаштування сканування

- 1 На головному екрані виберіть спочатку **Experiment** (Експеримент), а потім — **Scan** (Сканування).

Команда Scan (Сканування) відкриває дверцята відсіку для візуалізації, звільняє витратні матеріали від попереднього прогону (якщо є) і відкриває серію екранів налаштування сканування. Коротка затримка — це нормально.

Виведення витратних матеріалів для секвенування

Якщо під час налаштування сканування є використані витратні матеріали для секвенування, перш ніж переходити до наступного етапу, програма запропонує вивести картридж із реагентами й картридж із буферами.

- 1 У відповідь на запит видаліть використані витратні матеріали для секвенування від попереднього прогону.
 - a Вийміть картридж із реагентами з відсіку для реагентів. Утилізуйте невикористані компоненти відповідно до застосовних стандартів.
 - b Вийміть використаний картридж із буферами з буферного відсіку.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

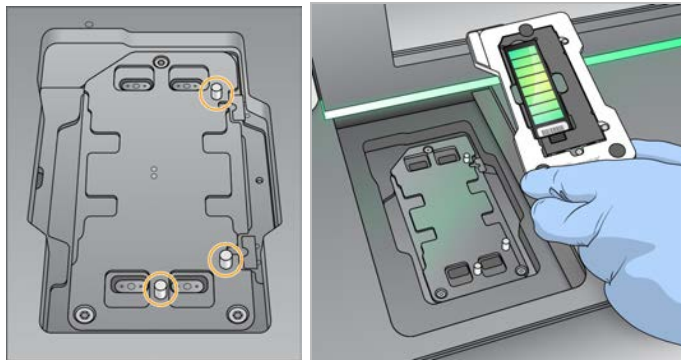
Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг з огляду на ризик певного впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними залишками й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

- 2 Вийміть проточну кювету з відсіку для візуалізації.
- 3 Закрийте дверцята відсіку для реагентів і буферного відсіку.

Завантаження адаптера BeadChip

- 1 Використовуйте напрямні штифти, щоб розташувати адаптер BeadChip на платформі.

Рисунок 22 Завантаження адаптера BeadChip



- 2 Виберіть **Load** (Завантажити).
Дверцята автоматично закриваються, на екрані з'являється ідентифікатор BeadChip і перевіряються датчики. Коротка затримка — це нормально. Якщо штрих-код BeadChip не може бути зчитано, з'явиться діалогове вікно, у якому штрих-код можна ввести вручну. Див. розділ *Програмне забезпечення не може зчитати штрих-код BeadChip* на стор. 50.
- 3 Виберіть **Next** (Далі).

Налаштування сканування

- 1 На екрані Scan Setup (Налаштування сканування) підтвердьте наведену нижче інформацію.
 - ▶ **Штрих-код** — під час завантаження BeadChip програмне забезпечення зчитує штрих-код BeadChip. Якщо штрих-код було введено вручну, для подальших змін з'явиться кнопка Edit (Редагувати).
 - ▶ **Тип** — поле типу BeadChip заповнюється автоматично на основі штрих-коду BeadChip.
 - ▶ **Розташування DMAP** — місце розташування папки DMAP указано на екрані BeadChip Scan Configuration (Налаштування сканування BeadChip). Щоб змінити місце розташування тільки для поточного сканування, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до належного розташування.





- ▶ **Розташування вихідних даних** — розташування вихідних даних указано на екрані BeadChip Scan Configuration (Налаштування сканування BeadChip). Щоб змінити місце розташування тільки для поточного сканування, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до бажаного розташування.

2 Виберіть **Next** (Далі).

Огляд перевірки перед прогоном

Програмне забезпечення виконує автоматизовану перевірку системи перед прогоном.

Під час перевірки на екрані з'являються індикатори, наведені нижче.

- ▶ **Сіра**  **галочка** — перевірку ще не виконано.
- ▶ Значок **перебігу**  — перевірка виконується.
- ▶ **Зелена**  **галочка** — перевірку пройдено успішно.
- ▶ **Червоний**  — перевірку пройдено з незадовільним результатом. Перш ніж можна буде продовжити роботу, для всіх елементів із незадовільним результатом перевірки потрібно вжити відповідних заходів. Див. розділ *Усунення помилок автоматичної перевірки на стор. 46*.

Щоб зупинити автоматизовану перевірку, яка виконується, перед прогоном, натисніть кнопку **Cancel** (Скасувати). Щоб перезапустити перевірку, натисніть кнопку **Retry** (Повторити). Перевірка відновлюється під час першої неповної або невдалої перевірки.

Щоб ознайомитися з результатами кожної окремої перевірки в категорії, виберіть вкладку Category (Категорія).

Якщо прилад не налаштовано на автоматичний запуск прогону, запустіть прогін після завершення автоматизованої перевірки перед прогоном.

Запуск сканування

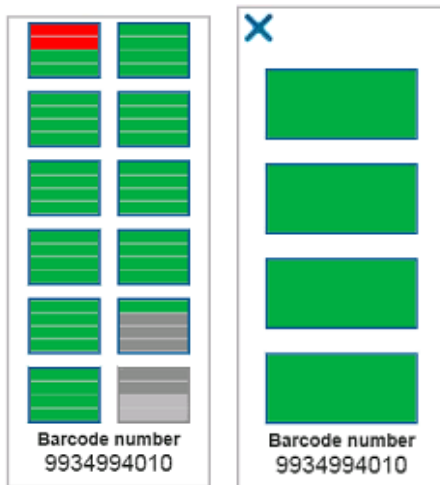
Після завершення автоматизованої перевірки виберіть **Start** (Запуск). Почнеться сканування.

Щоб налаштувати систему на автоматичний запуск сканування після успішної перевірки, див. розділ *Установлення параметрів налаштування прогону на стор. 13*.

Відстеження проходження сканування

- 1 Відстежуйте проходження сканування, використовуючи зображення BeadChip. Кожен колір на зображенні вказує на стан сканування.
 - ▶ **Світло-сірий** — не відскановано.
 - ▶ **Темно-сірий** — відскановано, але не зареєстровано.
 - ▶ **Зелений** — відскановано й успішно зареєстровано.
 - ▶ **Червоний** — сканування й реєстрацію виконано з помилками.Якщо реєстрацію виконано з помилками, зразки, які містять розділи з помилками, можна повторно відсканувати. Див. розділ *Помилка сканування BeadChip на стор. 51*.
- 2 Виберіть зображення BeadChip для переключення між повним і докладним поданнями обраного зразка.
 - ▶ У повному поданні показано зразки на BeadChip і розділи всередині кожного зразка.
 - ▶ Докладне подання показує кожен розділ у вибраному зразку.

Рисунок 23 Зображення BeadChip: повне й детальне подання



ПРИМІТКА. Завершення сканування остаточне. Якщо завершити сканування до його повного виконання, дані сканування **не** буде збережено.

Передавання даних

Коли сканування завершено, дані поміщаються в чергу для передавання до папки вихідних даних сканування. Дані тимчасово записуються на комп'ютер приладу. Під час запуску подальшого сканування тимчасова папка автоматично видаляється з комп'ютера приладу.

Час, потрібний для передавання даних, залежить від наявного мережевого з'єднання.

Перед початком наступного сканування переконайтеся, що дані записано до папки вихідних даних. Для перевірки переконайтеся, що файли GTC є в папці зі штрих-кодом. Додаткову інформацію див. в розділі *Структура папки вихідних даних сканування на стор. 67*.

Якщо з'єднання переривається, після його відновлення передавання даних продовжується автоматично. Для кожного файлу встановлюється таймер на 1 годину після того, як його було поставлено в чергу на перенесення в папку вихідних даних. Після збігу відліку на таймері чи в разі перезавантаження приладу до завершення перенесення дані не заноситимуться до папки вихідних даних.

Розділ 5 Технічне обслуговування

Вступ	37
Виконання ручного промивання	37
Заміна повітряного фільтра	40
Оновлення програмного забезпечення	42
Параметри перезавантаження й завершення роботи	43

Вступ

Процедури технічного обслуговування передбачають ручне промивання приладу й заміну повітряного фільтра. Також описано параметри перезавантаження й завершення роботи приладу.

- ▶ **Промивання приладу:** автоматичне промивання після кожного прогону секвенування підтримує продуктивність приладу. Однак за певних умов є потреба в періодичному ручному промиванні. Див. розділ *Виконання ручного промивання на стор. 37*.
- ▶ **Заміна повітряного фільтра:** регулярна заміна повітряного фільтра забезпечує належний повітряний потік через прилад.

Профілактичне обслуговування

Компанія Illumina рекомендує планувати профілактичне обслуговування щороку. Якщо у вас немає контракту на обслуговування, зверніться до свого територіального менеджера з роботи з клієнтами (Territory Account Manager) або служби технічної підтримки компанії Illumina, щоб домовитися про платне профілактичне обслуговування.

Виконання ручного промивання

Ручне промивання запускається з головного екрана. Варіанти промивання — Quick Wash (Швидке промивання) і Manual Post-Run Wash (Ручне промивання після прогону).

Типи промивання	Опис
Quick Wash (Швидке промивання) Тривалість: 20 хвилин	Система промивається мийним розчином хімічно чистої води й Tween 20 (буферний промивний картридж), що замовляє користувач. <ul style="list-style-type: none">• Потрібне що 14 днів, коли прилад простоює зі встановленим картриджем з реагентами й картриджем з буферами.• Потрібне що 7 днів, коли прилад сухий (картридж із реагентами й картридж із буферами знято).
Manual Post-Run Wash (Ручне промивання після прогону) Тривалість: 90 хвилин	Система промивається мийним розчином хімічно чистої води й Tween 20 (буферний промивний картридж) і гіпохлоритом натрію 0,12 % (картридж для промивання реагентів), що замовляє користувач. Потрібне, якщо після прогону не виконувалось автоматичне промивання.

Для ручного промивання потрібні картридж для промивання реагентів і буферний промивний картридж, що постачаються з приладом, і використана проточна кювета. Використану проточну кювету можна використовувати до 20 разів для промивання приладу.

Рисунок 24 Картридж для промивання реагентів і буферний промивний картридж (оригінальні)

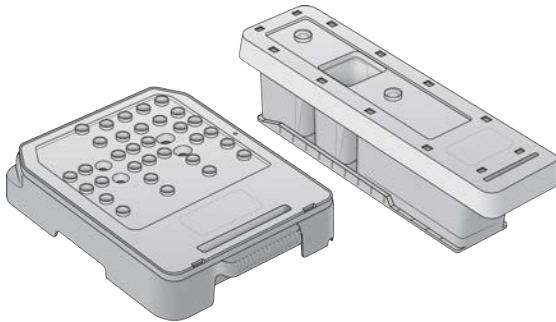
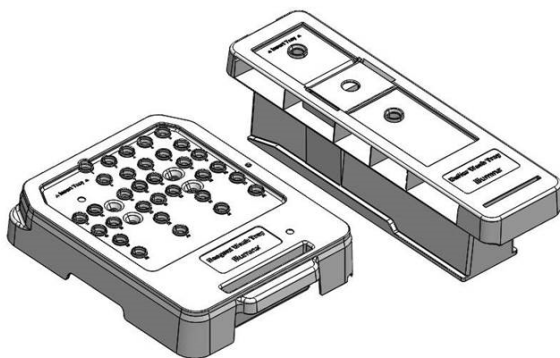


Рисунок 25 Картридж для промивання реагентів і буферний промивний картридж (нові)



Підготовка до ручного промивання після прогону

Підготуйтеся до ручного промивання після прогону, як описано нижче, або до швидкого промивання (наступний розділ). Якщо ви хочете виконати ручне промивання після прогону, пропустіть розділ про швидке промивання й див. розділ *Завантаження використаної проточної кювети й промивних картриджів на стор. 40*.

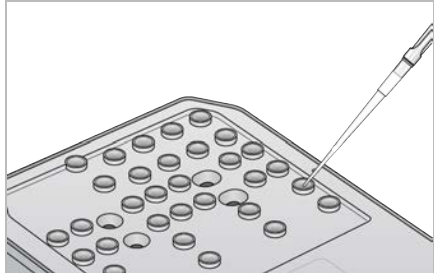
Витратні матеріали, що замовляє користувач	Обсяг та опис
NaOCl	1 мл, розведений до концентрації 0,12 % Завантажений у картридж для промивання реагентів (позиція № 28)
Tween 20 100 % Хімічно чиста вода	Використовується для приготування 125 мл 0,05%-го мийного розчину Tween 20 Завантажений у буферний промивний картридж (центральный резервуар)

ПРИМІТКА. Завжди використовуйте свіжорозведений NaOCl, приготований протягом останніх **24 годин**. Якщо ви підготуєте обсяг більше 1 мл, зберігайте залишок розведення за температури від 2 °C до 8 °C для використання протягом наступних 24 годин. Інакше утилізуйте розведення NaOCl, що залишилося.

- 1 Об'єднайте наведені далі обсяги в мікроцентрифужній пробірці, щоб отримати 1 мл NaOCl 0,12 %.
 - ▶ NaOCl 5 % (24 мкл)
 - ▶ Хімічно чиста вода (976 мкл)

- 2 Переверніть пробірку, щоб перемішати вміст.
- 3 Додайте 1 мл 0,12%-го NaOCl до картриджа для промивання реагентів. Правильний резервуар відповідає положенню № 28 на попередньо заповненому картриджі.

Рисунок 26 Завантажте NaOCl



- 4 Об'єднайте вказані нижче обсяги, щоб отримати мийний розчин Tween 20 0,05 %.
Оригінальний буферний промивний картридж
 - ▶ Tween 20 100 % (62 мкл).
 - ▶ Хімічно чиста вода (125 мкл).
 - ▶ Додайте 125 мл розчину для промивання до центрального резервуара буферного промивного картриджа.
 Новий буферний промивний картридж
 - ▶ Tween 20, 100 % (75 мкл).
 - ▶ Хімічно чиста вода (150 мл).
 - ▶ Додайте 150 мл розчину для промивання до центрального резервуара буферного промивного картриджа.
- 5 Виберіть спочатку **Perform Wash** (Виконати промивання), а потім — **Manual Post-Run Wash** (Ручне промивання після прогону).

Підготовка до швидкого промивання

Описаний нижче варіант підготовки до швидкого промивання можна використовувати як альтернативу до описаних дій у розділі *Підготовка до ручного промивання після прогону на стор. 38*.

Витратні матеріали, що замовляє користувач	Обсяг та опис
Tween 20 100 %	Використовується для приготування 40 мл 0,05%-го мийного розчину Tween 20.
Хімічно чиста вода	Завантажена в буферний промивний картридж (центральный резервуар).

- 1 Об'єднайте вказані нижче обсяги, щоб отримати мийний розчин Tween 20 0,05 %.
 - ▶ Tween 20 100 % (20 мкл)
 - ▶ Хімічно чиста вода (40 мл)
- 2 Додайте 40 мл розчину для промивання до центрального резервуара буферного промивного картриджа.
- 3 Виберіть спочатку **Perform Wash** (Виконати промивання), а потім — **Quick Wash** (Швидке промивання).

Завантаження використаної проточної кювети й промивних картриджів

- 1 Якщо використаної проточної кювети немає, завантажте її. Виберіть спочатку **Load** (Завантажити), а потім — **Next** (Далі).
- 2 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів й утилізуйте вміст відповідно до застосованих стандартів.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг з огляду на ризик певного впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними залишками й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

- 3 Уставте порожній контейнер для відпрацьованих реагентів у буферний відсік до упору.
- 4 Вийміть використаний у попередньому прогоні картридж із буферами, якщо він є.
- 5 Завантажте буферний промивний картридж, що містить розчин для промивання.
- 6 Вийміть використаний у попередньому прогоні картридж із реагентами, якщо він є.
- 7 Завантажте картридж для промивання реагентів.
- 8 Виберіть **Next** (Далі). Перевірка, що виконується перед промиванням, почнеться автоматично.

Запуск промивання

- 1 Виберіть **Start** (Запуск).
- 2 Після завершення промивання виберіть **Home** (Головний екран).

Після промивання

Після промивання сіппери залишаються в нижньому положенні, щоб запобігти потраплянню повітря в систему. Залиште картриджі на місці до наступного прогону.

Заміна повітряного фільтра

Нові системи укомплектовано трьома запасними повітряними фільтрами. Їх слід зберігати й використовувати, коли прилад сигналізує про потребу змінити фільтр.

Повітряний фільтр забезпечує проходження повітря крізь прилад. Програмне забезпечення відображає повідомлення про заміну повітряного фільтра що 90 днів. У відповідь на запит виберіть **Remind in 1 day** (Нагадати через 1 день) або виконайте наведену далі процедуру й виберіть **Filter Changed** (Фільтр змінено). Після вибору **Filter Changed** (Фільтр змінено) зворотний відлік 90 днів скидається.

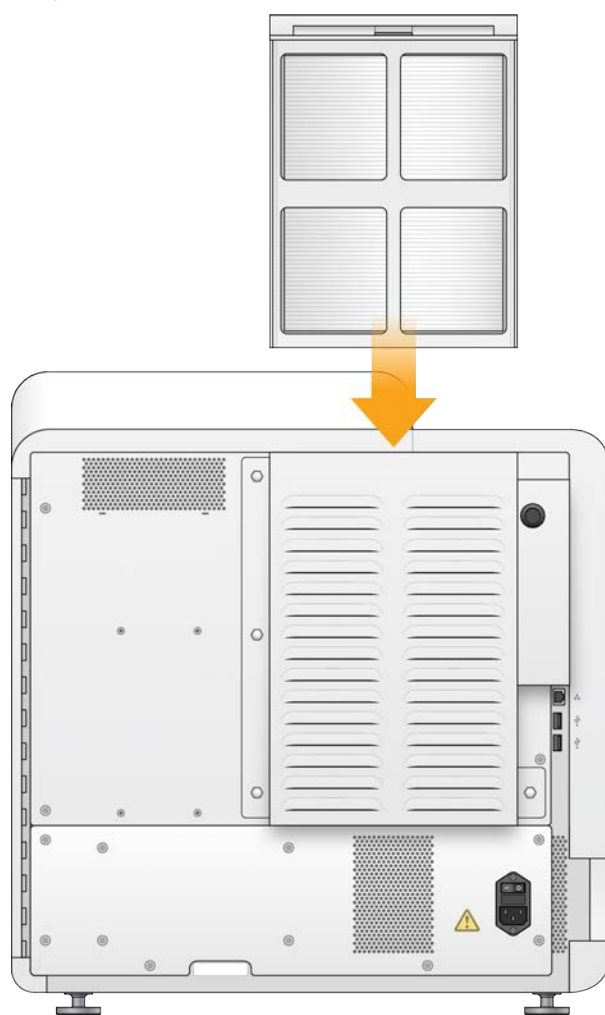
- 1 Дістаньте новий повітряний фільтр з упаковки й напишіть дату його установки на рамі фільтра.
- 2 На задній панелі приладу натисніть на верхню частину лотка фільтра, щоб звільнити лоток.

- 3 Візьміться за верхню частину лотка фільтра й потягніть її угору, щоб повністю вийняти лоток із приладу.
- 4 Зніміть і викиньте старий повітряний фільтр.
- 5 Уставте новий повітряний фільтр у лоток.

ПРИМІТКА Повітряний фільтр належно не працює, якщо його встановлено задом наперед. Переконайтеся, що повітряний фільтр уставлено в лоток так, що видно зелену стрілку вгору, а попереджувальну етикетку не видно. Стрілка має вказувати на ручку лотка фільтра.

- 6 Уставте лоток фільтра в прилад. Натисніть на верхню частину лотка фільтра, щоб зафіксувати лоток на місці.

Рисунок 27 Уставлення повітряного фільтра




Оновлення програмного забезпечення

Оновлення програмного забезпечення — частина пакета програмного забезпечення System Suite, який містить указані нижче програми.

- ▶ NextSeq Control Software (NCS).
- ▶ Набори параметрів NextSeq.
- ▶ RTA2.
- ▶ NextSeq Service Software (NSS).
- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV).
- ▶ BaseSpace Broker.

Оновлення програмного забезпечення можна встановлювати автоматично, використовуючи інтернет-з'єднання, або вручну з мережі чи USB-пристрою.

- ▶ **Автоматичні оновлення** — для приладів, під'єднаних до мережі з доступом до Інтернету, коли є оновлення, на кнопці Manage Instrument (Керування приладом) на головному екрані з'являється значок  попередження.
- ▶ **Оновлення вручну** — завантажте установник System Suite зі [сторінки підтримки приладу NextSeq 550Dx](#) на вебсайті компанії Illumina.

Автоматичне оновлення програмного забезпечення

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Software Update** (Оновлення програмного забезпечення).
- 3 Виберіть **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Установити оновлення, уже завантажене з BaseSpace).
- 4 Щоб почати оновлення, виберіть **Update** (Оновити). Відкриється діалогове вікно для підтвердження команди.
- 5 Дотримуйтесь інструкцій майстра встановлення.
 - a Прийміть умови ліцензійної угоди.
 - b Перегляньте нотатки про випуск.
 - c Перегляньте список програмного забезпечення, яке міститься в оновленні.

Після завершення оновлення керівне програмне забезпечення автоматично перезапуститься.

ПРИМІТКА. Якщо оновлення містить вбудоване програмне забезпечення, після його оновлення потрібен автоматичний перезапуск системи.

Оновлення програмного забезпечення вручну

- 1 Завантажте установник System Suite із вебсайту компанії Illumina й збережіть його в мережевому розташуванні.
Також можна скопіювати файл встановлення програмного забезпечення на портативний USB-накопичувач.
- 2 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).

- 3 Виберіть **Software Update** (Оновлення програмного забезпечення).
- 4 Виберіть **Manually install the update from the following location** (Уручну встановити оновлення з указанного місця розташування).
- 5 Виберіть спочатку **Browse** (Огляд), щоб перейти до місця розташування файлу встановлення програмного забезпечення, а потім — **Update** (Оновити).
- 6 Дотримуйтесь інструкцій майстра встановлення.
 - a Прийміть умови ліцензійної угоди.
 - b Перегляньте нотатки про випуск.
 - c Перегляньте список програмного забезпечення, яке міститься в оновленні.

Після завершення оновлення керівне програмне забезпечення автоматично перезапуститься.

ПРИМІТКА. Якщо оновлення містить вбудоване програмне забезпечення, після його оновлення потрібен автоматичний перезапуск системи.

Параметри перезавантаження й завершення роботи

Натисніть кнопку Reboot/Shutdown (Перезавантажити / завершити роботу), щоб отримати доступ до зазначених нижче функцій.

- ▶ Reboot to RUO (Перезавантажити в RUO): прилад відкривається в режимі дослідження.
- ▶ Restart (Перезапустити): прилад відкривається в діагностичному режимі.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Перезапустити в Dx з RUO): прилад відкривається в діагностичному режимі.
- ▶ Shutdown (Завершити роботу): після наступного ввімкнення живлення прилад відкриється в діагностичному режимі.
- ▶ Exit to Windows (Вихід до Windows): залежно від дозволів ви можете закрити NCS і вийти до ОС Windows.

Перезапуск у діагностичний режим

Використовуйте команду Restart (Перезапустити), щоб безпечно завершити роботу приладу й перезавантажити його в діагностичний режим. За замовчуванням прилад завантажується в діагностичному режимі.

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Reboot/Shutdown** (Перезавантажити / завершити роботу).
- 3 Виберіть **Restart** (Перезапустити).

Завершення роботи приладу

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Reboot/Shutdown** (Перезавантажити / завершити роботу).
- 3 Виберіть **Shutdown** (Завершити роботу).

Команда Shutdown (Завершити роботу) безпечно завершує роботу програмного забезпечення й вимикає живлення приладу. Зачекайте не менше 60 секунд, перш ніж знову вмикати прилад.

ПРИМІТКА. За замовчуванням після вмикання живлення прилад завантажується в діагностичному режимі.



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Не змінюйте розташування приладу. Неправильне переміщення приладу може вплинути на оптичне вирівнювання й порушити цілісність даних. Якщо вам потрібно перемістити прилад, зверніться до представника компанії Illumina.

Вихід до ОС Windows

Команда Exit to Windows (Вихід до Windows) забезпечує доступ до операційної системи приладу та будь-якої папки на комп'ютері приладу. За допомогою цієї команди безпечно завершується робота програмного забезпечення та здійснюється вихід до Windows. Виходити до Windows може лише користувач із правами адміністратора.

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Reboot/Shutdown** (Перезавантажити / завершити роботу).
- 3 Виберіть **Exit to Windows** (Вихід до Windows).

Додаток А Виправлення несправностей

Вступ	45
Файли для пошуку й усунення несправностей	45
Усунення помилок автоматичної перевірки	46
Контейнер для відпрацьованих реагентів переповнено	48
Процес повторної гібридизації	48
Помилки BeadChip і сканування	50
Користувачькі набори параметрів і папки з наборами параметрів	52
Повідомлення про помилку RAID	53
Налаштування параметрів системи	53

Вступ

У разі проблем з якістю або продуктивністю прогону зверніться до служби технічної підтримки компанії Illumina. Див. розділ *Технічна допомога* на стор. 73.

Файли для пошуку й усунення несправностей

Представник служби технічної підтримки компанії Illumina може запитати копії файлів, специфічних для прогону або сканування, для пошуку й усунення проблем. Зазвичай для пошуку й усунення несправностей використовуються наведені далі файли.

Файли для пошуку й усунення несправностей для прогонів секвенування

Ключовий файл	Папка	Опис
Файл інформації про прогін (RunInfo.xml)	Коренева папка	Містить наведену нижче інформацію. <ul style="list-style-type: none">• Ім'я прогону.• Кількість циклів у прогоні.• Кількість циклів на кожне зчитування.• Чи зчитування індексоване.• Кількість смуг і сегментів на проточній кюветі.
Файл із параметрами прогону (RunParameters.xml)	Коренева папка	Містить інформацію про параметри й компоненти прогону. Інформація містить RFID, серійний номер, номер деталі й термін придатності.
Файл налаштування RTA (RTAConfiguration.xml)	Коренева папка	Містить параметри налаштування RTA для прогону. Файл RTAConfiguration.xml створюється на початку прогону.
Файли InterOp (*.bin)	InterOp	Бінарні файли звітів. Файли InterOp оновлюються протягом усього прогону.
Log files	Logs	У файлах журналів описується кожен етап, що прилад виконує для кожного циклу, і перераховуються версії програмного й мікропрограмного забезпечення, використані під час виконання прогону. Файл з ім'ям [Назва_приладу]_CurrentHardware.csv містить серійні номери компонентів приладу.
Файли журналу помилок (*ErrorLog*.txt)	RTA logs	Журнал помилок RTA. Файли журналу помилок оновлюються кожного разу під час виникнення помилки.
Файли глобального журналу (*GlobalLog*.tsv)	RTA logs	Журнал усіх подій RTA. Файли глобального журналу оновлюються протягом усього прогону.
Файли журналу доріжки (*LaneLog*.txt)	RTA logs	Журнал подій обробки RTA. Файли журналу доріжки оновлюються протягом усього прогону.

Помилки RTA

Щоб усунути помилки RTA, спочатку перевірте журнал помилок RTA, який зберігається в папці RTALogs. Цього файлу немає в разі успішних прогонів. Додавайте журнал помилок, коли повідомляєте про проблеми до служби технічної підтримки компанії Illumina.

Файли для пошуку й усунення несправностей для сканування масиву

Ключовий файл	Папка	Опис
Файл із параметрами сканування (ScanParameters.xml)	Коренева папка	Містить інформацію про параметри сканування. Інформація містить дату сканування, штрих-код BeadChip, місце розташування файлу кластерів і місце розташування файлу маніфесту.
Файли журналу	Logs	Файли журналу описують кожен етап, виконаний на приладі під час сканування.
Файли показників	[Штрих-код]	Показники надаються як показники зразка та як показники розділу. [штрих-код]_sample_metrics.csv — для кожного зразка й каналу (червоного й зеленого) перераховано Percent Off Image, Percent Outliers, P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev і Min Registration Score. [штрих-код]_section_metrics.csv — для кожного розділу й сегмента перераховано Laser Z-position, Through Focus Z-position, Red FWHM, Green FWHM, Red Avg Pixel Intensity, Green Avg Pixel Intensity, Red Registration Score і Green Registration Score.
Файл повторного сканування	[Штрих-код]	[штрих-код]_rescan.flowcell — перелічує розташування сегментів, скорегованих для повторного сканування, зокрема збільшене накладання сегментів один на одного.

Усунення помилок автоматичної перевірки

Якщо під час автоматичної перевірки виникають помилки, для їх усунення використовуйте наведені далі рекомендовані дії.

Перевірки для прогонів секвенування

Якщо перевірку перед прогоном виконано з помилкою, RFID-позначка картриджа з реагентами не блокується та її можна використовувати для подальшого прогону. Проте RFID-позначки проточної кювети, картриджа з реагентами й картриджа з буфером буде заблоковано під час ініціалізації керівного програмного забезпечення. Це може знадобитися для виправлення помилки. Користувач має вийняти з приладу проточну кювету, картридж із реагентами й картридж із буфером до перезапуску системи. До того ж, RFID-позначки витратних матеріалів блокуються після проколювання фольгового ущільнювача. Після того як програмне забезпечення зчитає RFID-позначку проточної кювети, таймер почне відлічувати 7 годин до моменту, від якого проточна кювета вважатиметься заблокованою та непридатною для використання.

Перевірки системи	Рекомендовані дії
Дверцята зачинено	Переконайтеся, що дверцята відсіку зачинено.
Витратні матеріали завантажено	Датчики не реєструють витратні матеріали. Переконайтеся, що кожен витратний матеріал правильно завантажено. На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу завантаження, і повторіть налаштування прогону.
Потрібне програмне забезпечення	Немає критично важливих компонентів програмного забезпечення. Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.

Перевірки системи	Рекомендовані дії
Місце на диску приладу	На жорсткому диску приладу недостатньо місця для виконання прогону. Можливо, дані з попереднього прогону не було передано. Зітріть дані прогону з жорсткого диска приладу.
Мережеве з'єднання	Мережеве з'єднання перервано. Перевірте стан мережі й фізичне мережеве з'єднання.
Мережеве дискове місце	Мережевий сервер заповнено.
Температура	Рекомендовані дії
Температура	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Датчики температури	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Вентилятори	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Система візуалізації	Рекомендовані дії
Межі візуалізації	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Пересування й зупинення по осі Z	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Частота виникнення бітових помилок	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Реєстрація проточної кювети	Можливо, що проточну кювету встановлено неправильно. <ul style="list-style-type: none"> На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу проточної кювети. Дверцята відсіку для візуалізації відкриваються. Вивантажте й перезавантажте проточну кювету, щоб переконатися, що її встановлено правильно.
Доставка реагентів	Рекомендовані дії
Реакція клапана	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Насос	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Буферний механізм	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Видалення відпрацьованих реагентів	Спорожніть контейнер для відпрацьованих реагентів і перезавантажте порожній контейнер.

Перевірки для сканування масиву

Перевірки системи	Рекомендовані дії
Дверцята зачинено	Переконайтеся, що дверцята відсіку зачинено.
Витратні матеріали завантажено	Датчики не реєструють витратні матеріали. Переконайтеся, що кожен витратний матеріал правильно завантажено. На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу завантаження, і повторіть налаштування прогону.
Потрібне програмне забезпечення	Немає критично важливих компонентів програмного забезпечення. Оновіть програмне забезпечення вручну, щоб відновити всі його компоненти.

Перевірки системи	Рекомендовані дії
Перевірка файлів вхідних даних	Переконайтеся, що шлях до файлу кластерів і файлу маніфесту правильний і файли є.
Місце на диску приладу	На жорсткому диску приладу недостатньо місця для виконання прогону. Можливо, дані з попереднього прогону не було передано. Зітріть дані прогону з жорсткого диска приладу.
Мережеве з'єднання	Мережеве з'єднання перервано. Перевірте стан мережі й фізичне мережеве з'єднання.
Мережеве дискове місце	Заповнено або обліковий запис BaseSpace, або мережевий сервер.

Система візуалізації	Рекомендовані дії
Межі візуалізації	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Пересування й зупинення по осі Z	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Частота виникнення бітових помилок	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Автоматичне центрування	Зніміть адаптер BeadChip. Переконайтеся, що BeadChip встановлено в адаптер, а потім перезавантажте адаптер.

Контейнер для відпрацьованих реагентів переповнено

Завжди починайте прогін із порожнім контейнером для відпрацьованих реагентів.

Якщо запустити прогін без спорожнення контейнера для відпрацьованих реагентів, то коли контейнер заповнено, датчики системи надають програмному забезпеченню команду призупинити прогін. Датчики системи не можуть призупинити прогін під час кластеризації, повторного синтезу парних кінцевих фрагментів або автоматичного промивання після прогону.

Коли прогін призупиняється, відкривається діалогове вікно з параметрами, що дають змогу підняти сиппери й спорожнити заповнений контейнер.

Спорожнення контейнера для відпрацьованих реагентів

- 1 Виберіть **Raise Sippers** (Підняти сиппери).
- 2 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів й утилізуйте вміст відповідним чином.
- 3 Поверніть порожній контейнер у буферний відсік.
- 4 Виберіть **Continue** (Продовжити). Прогін відновиться автоматично.

Процес повторної гібридизації

Може знадобитися прогін повторної гібридизації, якщо показники, отримані протягом перших кількох циклів, показують інтенсивність нижче 2500. Деякі бібліотеки з низькою різноманітністю можуть демонструвати значення інтенсивності нижче 1000. Це очікуваний результат, і в такій ситуації повторна гібридизація не допоможе.

ПРИМІТКА. Команда End Run (Завершити прогін) остаточна. Прогін не може бути відновлено, витратні матеріали прогону не можна використовувати повторно, і дані секвенування з прогону не зберігаються.

Під час завершення прогону програмне забезпечення виконує вказані нижче етапи до його завершення.

- ▶ Переводить проточну кювету в безпечний стан.
- ▶ Розблоковує RFID проточної кювети для наступного прогону.
- ▶ Призначає проточній кюветі дату завершення терміну повторної гібридизації.
- ▶ Записує журнали виконання прогону для завершених циклів. Затримка — це нормально.
- ▶ Пропускає автоматичне промивання після прогону.

Під час запуску прогону повторної гібридизації програма виконує вказані нижче етапи виконання прогону.

- ▶ Створює папку прогону на основі його унікального імені.
- ▶ Перевіряє, чи не минула дата повторної гібридизації проточної кювети.
- ▶ Підготовляє реагенти. Затримка — це нормально.
- ▶ Пропускає етап кластеризації.
- ▶ Видаляє попередній праймер зчитування 1.
- ▶ Гібридує свіжий праймер зчитування 1.
- ▶ Продовжує зчитування 1 і решту прогону на основі зазначених параметрів прогону.

Точки завершення прогону для повторної гібридизації

Подальша повторна гібридизація можлива тільки в тому разі, якщо ви завершите прогін у наведених нижче точках.

- ▶ **Після циклу 5** — після реєстрації шаблону з'являються значення інтенсивності, що потребує виконання перших 5 циклів секвенування. Незважаючи на те, що завершувати прогін після циклу 1 безпечно, рекомендується робити це після циклу 5. Не завершуйте прогін під час генерування кластерів.
- ▶ **Зчитування 1 або зчитування індексу 1** — завершіть прогін **до** початку повторного синтезу парних кінцевих фрагментів. Проточну кювету не може бути збережено для подальшої повторної гібридизації після початку повторного синтезу парних кінцевих фрагментів.

Потрібні витратні матеріали

Незалежно від того, коли прогін було зупинено, для прогону повторної гібридизації потрібні нові картридж із реагентами та картридж із буферами NextSeq 550Dx.

Завершення поточного прогону

- 1 Виберіть **End Run** (Завершити прогін). Коли буде запропоновано підтвердити команду, виберіть **Yes** (Так).
- 2 Коли буде запропоновано зберегти проточну кювету, виберіть **Yes** (Так). Зверніть увагу на термін придатності для повторної гібридизації.
- 3 Вийміть збережену проточну кювету, відкладіть її та залишайте за температури від 2 °C до 8 °C доти, доки не будете готові налаштувати прогін повторної гібридизації.

ПРИМІТКА. Ви можете зберігати проточну кювету до 7 днів за температури від 2 °C до 8 °C у пластиковому двостулковому контейнері **без** пакування з поглиначем вологи. Щоб досягти найкращих результатів, повторно гібридизуйте збережену проточну кювету не пізніше ніж через 3 дні.

Виконання ручного промивання

- 1 На головному екрані виберіть **Perform Wash** (Виконати промивання).
- 2 На екрані Wash Selection (Вибір промивання) виберіть **Manual Post-Run Wash** (Ручне промивання після прогону). Див. розділ *Виконання ручного промивання на стор. 37*.

ПРИМІТКА. Якщо ви не витягли картридж із реагентами й картридж із буферами під час зупинки прогону, їх можна використовувати для ручного промивання. Інакше виконайте ручне промивання за допомогою картриджа для промивання реагентів і буферного промивного картриджа.

Налаштування нового прогону на вкладці Prep (Підготовка) BaseSpace

- 1 Якщо прилад налаштовано на BaseSpace or BaseSpace Onsite (BaseSpace чи BaseSpace Onsite), установіть новий прогін на вкладці Prep (Підготовка) за допомогою тих самих параметрів, що й вихідний прогін.

НАКОНЕЧНИК. Відкрийте вкладку Pools (Пули), виберіть відповідний ідентифікатор пулу, щоб зберегти налаштування попереднього прогону, а потім призначте новому прогону унікальне ім'я.

Налаштування прогону на приладі

- 1 Підготуйте новий картридж із реагентами.
- 2 Якщо збережена проточна кювета була на зберіганні, дайте їй досягти кімнатної температури (15–30 хвилин).
- 3 Очистьте й завантажте збережену проточну кювету.
- 4 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів і відповідно утилізуйте вміст, а потім перезавантажте порожній контейнер.
- 5 Завантажте новий картридж із буферами й картридж із реагентами.
- 6 На екрані Run Setup (Налаштування прогону) виберіть наведені далі параметри.
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace чи BaseSpace Onsite) — виберіть прогін і підтвердьте параметри прогону.
 - ▶ **Standalone** (Автономно) — уведіть ім'я прогону й зазначте ті самі параметри, що й для вихідного прогону.
- 7 Натисніть **Next** (Далі), щоб перейти до перевірки перед прогоном і запустити прогін.

Помилки BeadChip і сканування

Програмне забезпечення не може зчитати штрих-код BeadChip

Коли з'явиться діалогове вікно з помилкою штрих-коду, виберіть один із наведених нижче параметрів.

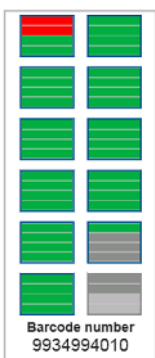
- ▶ Виберіть **Rescan** (Повторне сканування). Програмне забезпечення спробує знову прочитати штрих-код.
- ▶ Виберіть текстове поле та введіть числовий штрих-код, як показано на рисунку. Залежно від BeadChip номери штрих-кодів можуть містити до 12 цифр. Виберіть **Save** (Зберегти). Зображення штрих-коду зберігається в папці вихідних даних.
- ▶ Виберіть **Cancel** (Скасування). Дверцята відсіку для візуалізації відкриваються, щоб вивантажити адаптер BeadChip.

Помилка сканування BeadChip

Зображення реєструються після сканування. Під час реєстрації гранули ідентифікуються зіставленням розташування на відсканованому зображенні з інформацією, наданою в карті гранул або в папці DMAP.

Розділи, реєстрацію яких виконано з помилками, на зображенні BeadChip позначено червоним кольором.

Рисунок 28 BeadChip із розділами, які містять помилки



Після завершення сканування й записування даних сканування до папки вихідних даних кнопка Rescan (Повторне сканування) стає активною.

Після натискання кнопки Rescan (Повторне сканування) програмне забезпечення виконує наведені нижче дії.

- ▶ Повторно сканує зразки з помилковими розділами, використовуючи збільшене накладання сегментів один на одного.
- ▶ Створює файли вихідних даних у початковій папці вихідних даних.
- ▶ Перезаписує попередні файли вихідних даних для розділів із помилками.
- ▶ Для кожного повторного сканування збільшує показання лічильника сканування на 1, але робить це у фоновому режимі. Програмне забезпечення не перейменовує папку вихідних даних.

Виконання повторного сканування або запуск нового сканування

- 1 Виберіть **Rescan** (Повторне сканування), щоб сканувати зразки, що містять сегменти з помилками.
- 2 Якщо сканування, як і раніше, не вдається, завершіть сканування.

- Зніміть BeadChip та адаптер й огляньте BeadChip на наявність пилу або сміття. Щоб видалити сміття, використовуйте стиснене повітря з балончика або інший метод очищення стисненим повітрям.
- Перезавантажте BeadChip і запустіть нове сканування. Коли запускається нове сканування, програмне забезпечення виконує наведені нижче етапи.
 - ▶ Сканування всього BeadChip.
 - ▶ Створення файлів вихідних даних у новій папці вихідних даних.
 - ▶ Збільшення показань лічильника сканування на 1 від показань лічильника під час останнього повторного сканування.

Заміна файлів маніфесту й файлів кластерів

- Перейдіть на сторінку підтримки Illumina (support.illumina.com) для BeadChip, що використовується, і виберіть вкладку **Downloads** (Завантаження).
- Завантажте файли, які потрібно замінити або оновити, і скопіюйте їх до потрібного місця в мережі.

ПРИМІТКА. Переконайтеся, що вибрано файли маніфесту й кластерів, сумісні із системою приладу NextSeq 550Dx. Сумісні файли містять в імені текст **NS550**.


- Тільки якщо місце розташування змінилося, оновіть розташування на екрані налаштування сканування BeadChip, як показано нижче.
 - На головному екрані NCS виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
 - Виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
 - Виберіть **BeadChip Scan Configuration** (Налаштування сканування BeadChip).
- Виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до місця розташування заміненних або оновлених файлів.


Користувацькі набори параметрів і папки з наборами параметрів


Не змінюйте вихідні набори параметрів. Завжди робіть копію вихідного набору параметрів під новим ім'ям. Якщо вихідний набір параметрів змінено, програма оновлення програмного забезпечення більше не зможе розпізнавати набір параметрів для пізніших оновлень і новіші версії не встановлюватимуться.


Зберігайте користувацькі набори параметрів у відповідній папці з наборами параметрів. Папки з наборами параметрів організовано в такий спосіб.

Custom

 **High** — користувацькі набори параметрів, які використовуються з набором із високим вихідним рівнем.

 **Mid** — користувацькі набори параметрів, які використовуються з набором із середнім вихідним рівнем.

 **High** — вихідні набори параметрів, які використовуються з набором із високим вихідним рівнем.

 **Mid** — вихідні набори параметрів, які використовуються з набором із середнім вихідним рівнем.

 **Wash** — містить набір параметрів ручного промивання.

Повідомлення про помилку RAID

Комп'ютер NextSeq 550Dx обладнано чотирма жорсткими дисками: двома для діагностичного режиму й двома для режиму дослідження. Якщо жорсткий диск починає виходити з ладу, система виводить повідомлення про помилку RAID і пропонує звернутися до служби технічної підтримки компанії Illumina. Зазвичай потрібна заміна жорсткого диска.

Ви можете продовжити виконання етапів налаштування прогону й нормальну роботу. Мета повідомлення — заздалегідь скласти розклад обслуговування, щоб уникнути перерв у нормальній роботі приладу. Підтверджувати застереження щодо RAID може лише адміністратор. Використання приладу лише з одним жорстким диском може призвести до втрати даних.

Налаштування параметрів системи

Система налаштовується під час установлення. Однак якщо потрібно змінити або переналаштувати систему, використовуйте параметри конфігурації системи. Дозвіл на доступ до параметрів конфігурації системи є тільки в обліковому записі адміністратора Windows.

- ▶ **Конфігурація мережі** — надаються параметри для налаштувань IP-адреси, адреси сервера доменних імен (DNS), імені комп'ютера й імені домену.

Налаштування мережі

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
- 2 Виберіть **Obtain an IP address automatically** (Отримувати IP-адресу автоматично), щоб отримати IP-адресу за допомогою DHCP-сервера.

ПРИМІТКА. Протокол DHCP (Dynamic Host Configuration Protocol, протокол динамічної конфігурації хоста) — це стандартний мережевий протокол, який використовується в IP-мережах для динамічного розподілу параметрів налаштування мережі.

Також можна вибрати **Use the following IP address** (Використовувати таку IP-адресу), щоб вручну під'єднати прилад до іншого сервера, як указано. Для отримання адрес, що використовуються у вашому закладі, зверніться до адміністратора мережі.

- ▶ Уведіть IP-адресу. IP-адреса — це серія із 4 чисел, розділених крапкою, наприклад подібна до 168.62.20.37.
 - ▶ Уведіть маску підмережі. Це підрозділ IP-мережі.
 - ▶ Уведіть стандартний шлюз (маршрутизатор у мережі, яка під'єднується до Інтернету).
- 3 Виберіть **Obtain a DNS server address automatically** (Отримувати адресу DNS-сервера автоматично), щоб під'єднати прилад до сервера доменних імен, пов'язаного з IP-адресою. Також можна вибрати **Use the following DNS server addresses** (Використовувати такі адреси DNS-серверів), щоб вручну під'єднати прилад до сервера доменних імен, як указано.
 - ▶ Уведіть бажану DNS-адресу. IP-адреса сервера DNS — це ім'я сервера, що використовується для перекладу імен доменів в IP-адреси.
 - ▶ Уведіть альтернативну DNS-адресу. Альтернативна адреса використовується, якщо бажаний DNS не може перетворити певне доменне ім'я на IP-адресу.
 - 4 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб перейти до екрана Computer (Комп'ютер).

ПРИМІТКА. Ім'я комп'ютера приладу надається комп'ютеру приладу під час виготовлення. Будь-які зміни в імені комп'ютера можуть вплинути на під'єднання, унаслідок чого може знадобитися втручання адміністратора мережі.

- 5 Під'єднайте комп'ютер приладу до домену або робочої групи, як вказано нижче.
 - ▶ **Для приладів, під'єднаних до Інтернету:** виберіть **Member of Domain** (Учасник домену), а потім уведіть ім'я домену, пов'язане з під'єднанням до Інтернету у вашому закладі. Для зміни домену потрібні ім'я користувача й пароль адміністратора.
 - ▶ **Для приладів, не під'єднаних до Інтернету:** виберіть **Member of Work Group** (Учасник робочої групи), а потім уведіть ім'я робочої групи. Ім'я робочої групи унікальне для вашого закладу.
- 6 Виберіть **Save** (Зберегти).

Установлення налаштувань аналізу

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
- 2 Виберіть **Analysis Configuration** (Налаштування аналізу).
- 3 Виберіть один із наведених далі параметрів, щоб вказати місце розташування, до якого дані передаються для подальшого аналізу.
 - ▶ Виберіть **BaseSpace**, щоб надіслати дані секвенування до BaseSpace від Illumina. **[Необов'язково.]** Натисніть прапорець **Output Folder** (Папка вихідних даних), виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до вторинного мережевого розташування, щоб зберегти файли BCL на додаток до BaseSpace.
 - ▶ Виберіть **BaseSpace Onsite**. У полі Server Name (Ім'я сервера) уведіть повний шлях до вашого сервера BaseSpace Onsite. **[Необов'язково.]** Натисніть прапорець **Output Folder** (Папка вихідних даних), виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до вторинного мережевого розташування, щоб зберегти файли BCL на додаток до сервера BaseSpace Onsite.
 - ▶ Виберіть **Standalone instrument** (Автономний прилад), щоб зберегти дані лише до мережевого розташування. Виберіть **Browse** (Огляд), щоб перейти до бажаного мережевого розташування. Керівне програмне забезпечення генерує ім'я папки вихідних даних автоматично.
 - ▶ **[Необов'язково.]** Виберіть **Use Run Monitoring** (Використати моніторинг прогону), щоб відстежувати прогін за допомогою інструментів візуалізації на BaseSpace. Потрібні дані для входу в BaseSpace та інтернет-з'єднання.
- 4 Якщо ви вибрали BaseSpace or BaseSpace Onsite (BaseSpace чи BaseSpace Onsite), установіть параметри BaseSpace, як наведено нижче.
 - ▶ Щоб зареєструвати прилад у BaseSpace, уведіть **User Name** (Ім'я користувача) і **Password** (Пароль) BaseSpace.
 - ▶ Щоб установити зареєстровані ім'я користувача й пароль як стандартні дані для входу, виберіть **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Використати стандартні дані для входу й обійти екран входу в BaseSpace). Ці налаштування дають змогу обходити екран BaseSpace під час налаштування прогону.

- 5 Виберіть **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Надсилати дані про продуктивність приладу до Illumina), щоб активувати службу моніторингу Illumina Proactive. Назва параметра в інтерфейсі програмного забезпечення може відрізнятися від назви в цьому посібнику, залежно від версії NCS, що використовується.
Якщо ввімкнути цей параметр, компанії Illumina надсилаються дані про продуктивність приладу. Ці дані допомагають Illumina легше вирішувати проблеми та виявляти потенційні несправності, що дає змогу забезпечувати попереджувальне технічне обслуговування та максимально збільшувати час роботи приладу. Щоб отримати більше інформації про корисні риси цієї служби, див. *Illumina Proactive Technical Note (Технічне повідомлення про службу моніторингу Illumina Proactive)* (документ № 1000000052503).
Відомості про цю службу наведено далі.
 - ▶ Не відсилає дані секвенування.
 - ▶ Потребує, щоб прилад було під'єднано до мережі з доступом до Інтернету.
 - ▶ За замовчуванням вимкнено. Для приєднання до цієї служби активуйте параметр **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Надсилати дані про продуктивність приладу до Illumina).
- 6 Виберіть **Save** (Зберегти).

Налаштування сканування BeadChip

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
- 2 Виберіть **BeadChip Scan Configuration** (Налаштування сканування BeadChip).
- 3 Щоб указати стандартне розташування папки DMAP, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до потрібного розташування папки в мережі вашої установи.

ПРИМІТКА. Перед кожним скануванням завантажуйте й копіюйте вміст DMAP до цього розташування. Вміст DMAP потрібний для кожного BeadChip й унікальний для кожного штрих-коду BeadChip.
- 4 Щоб указати стандартне розташування вихідних даних, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до потрібного розташування в мережі вашої установи.
- 5 Виберіть формат файлу зображення для збережених зображень. Стандартний тип зображення — **JPG**.
- 6 Виберіть формат файлу вихідних даних для даних сканування. Стандартний тип файлу вихідних даних — **лише GTC**.
- 7 Виберіть **Save** (Зберегти).
- 8 На екрані Scan Map (Карта сканування) укажіть повний шлях до файлу маніфесту й файлу кластера для кожного типу BeadChip. Для кожного типу файлів виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до розташування папки, у якій перебувають ці файли.
- 9 **[Необов'язково.]** Виберіть **Hide Obsolete BeadChips** (Приховати застарілі чипи BeadChip), щоб видалити застарілі чипи BeadChip із подання.
- 10 Виберіть **Save** (Зберегти).

Додаток В Real-Time Analysis

Огляд Real-Time Analysis	57
Робочий процес Real-Time Analysis	58

Огляд Real-Time Analysis

У приладі NextSeq 550Dx використовується реалізація програмного забезпечення Real-Time Analysis (RTA) під назвою RTA2. RTA2 працює на комп'ютері приладу й визначає інтенсивність із зображень, виконує процедуру розпізнавання азотистих основ і призначає показник якості розпізнаним азотистим основам. RTA2 й системне програмне забезпечення обмінюються даними через вебінтерфейс HTTP та спільні файли пам'яті. Якщо RTA2 зупинено, обробка не відновлюється й дані прогону не зберігаються.

Вхідні параметри RTA2

Для обробки RTA2 потребує введення вказаних нижче параметрів.

- ▶ Зображення сегментів, що містяться в локальній пам'яті системи.
- ▶ **RunInfo.xml**, що створюється автоматично на початку прогону й містить дані про ім'я прогону, кількість циклів, наявність індексування зчитування й кількість сегментів у проточній кюветі.
- ▶ **RTA.exe.config**, файл конфігурації програмного забезпечення у форматі XML.

RTA2 отримує із системного програмного забезпечення команди з інформацією про розташування файлу **RunInfo.xml** і про те, чи вказано необов'язкову папку вихідних даних.

Вихідні файли RTA2

Зображення для кожного каналу **передаються** в пам'ять як сегменти. Сегменти — це невеликі зони візуалізації в проточній кюветі, які визначаються як поле зору камери. Із цих зображень програмне забезпечення створює вихідні дані як набір файлів розпізнаних азотистих основ і файлів фільтрованих даних з присвоєними показниками якості. Усі інші файли підтримують файли вихідних даних.

Тип файлу	Опис
Файли розпізнаних азотистих основ	До об'єднаного файлу розпізнаних азотистих основ (*.bcl.bgzf) додається кожний проаналізований сегмент для кожної доріжки й кожного циклу. Об'єднаний файл розпізнаних азотистих основ містить дані розпізнавання азотистих основ і пов'язаний із ними показник якості для кожного кластера в цій доріжці.
Файли фільтрованих даних	Щодо кожного сегмента створюється інформація про фільтр, яка об'єднується в 1 файл фільтрованих даних (*.filter) для кожної доріжки. Файл фільтрованих даних указує, чи пройшов кластер фільтри.
Файли розташування кластерів	Файли розташування кластерів (*.locs) містять координати X, Y для кожного кластера в сегменті. Файл розташування кластерів створюється для кожної доріжки під час генерування шаблону.
Файли індексів розпізнаних азотистих основ	Файл індексів розпізнаних азотистих основ (*.bci) створюється для кожної доріжки, щоб зберегти вихідну інформацію про сегменти. Індексний файл містить пару значень для кожного сегмента, які являють собою номер сегмента й кількість кластерів для цього сегмента.

RTA2 в реальному часі надає показники якості прогону, що зберігаються як файли InterOp. Файли InterOp — це бінарні вихідні дані, що містять показники сегмента, циклу й рівня зчитування.

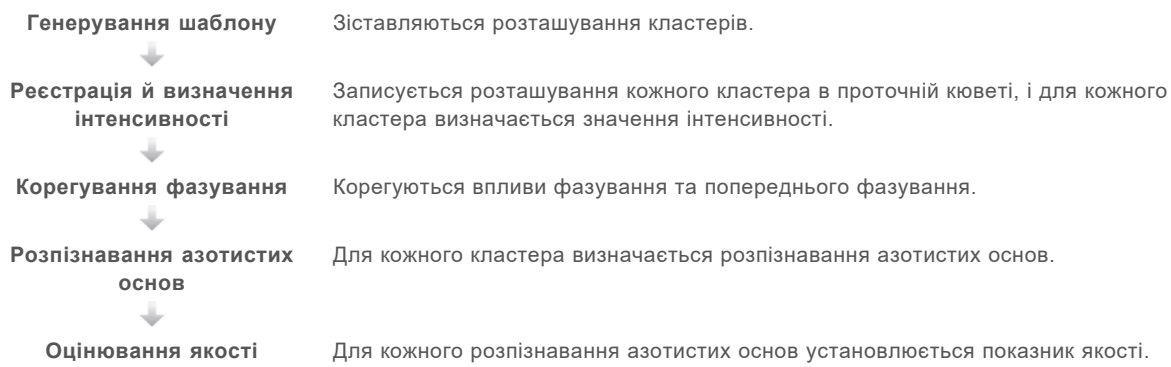
Обробка помилок

RTA2 створює файли журналу й записує їх до папки RTALogs. Помилки записуються до файлу помилок у форматі *.tsv.

Отримані файли журналу та помилок передаються до кінцевого місця призначення вихідних даних наприкінці обробки.

- ▶ У файл *GlobalLog*.tsv вносяться зведені дані про важливі події прогону.
- ▶ У файл *LaneNLog*.tsv вносяться події обробки для кожної доріжки.
- ▶ У файл *Error*.tsv вносяться помилки, що виникли під час виконання прогону.
- ▶ У файл *WarningLog*.tsv вносяться застереження, що виникли під час виконання прогону.

Робочий процес Real-Time Analysis



Генерування шаблону

Перший крок у робочому процесі RTA — генерування шаблону, під час якого за допомогою координат X і Y визначається положення кожного кластера в сегменті.

Генерування шаблону вимагає наявності даних зображення з перших 5 циклів прогону. Шаблон генерується після отримання зображення останнього циклу шаблону для сегмента.

ПРИМІТКА. Щоб виявити кластер під час генерування шаблону, у перших **5** циклах має бути хоча б 1 основа, відмінна від G. Для будь-яких індексних послідовностей RTA2 потребує принаймні 1 основи, відмінної від G, у перших **2** циклах.

Шаблон використовується як еталон для наступного етапу реєстрації й визначення інтенсивності. Позиції кластера для всієї проточної кювети записуються у файли розташування кластера (*.locs) по 1 файлу на кожен доріжку.

Реєстрація й визначення інтенсивності

Реєстрація й визначення інтенсивності починаються після генерації шаблону.

- ▶ Під час реєстрації зображення, отримані в кожному наступному циклі візуалізації, вирівнюються за шаблоном.
- ▶ У процесі визначення інтенсивності розраховується значення інтенсивності для кожного кластера в шаблоні, що відповідає певному зображенню.

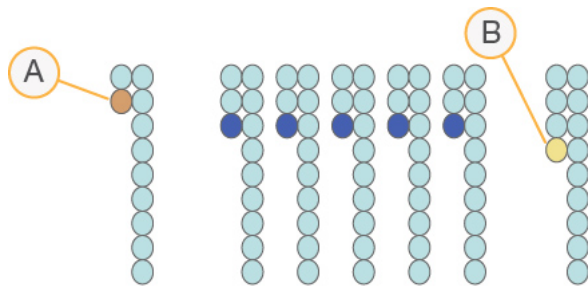
Якщо для будь-яких зображень у циклі реєстрацію не виконано, розпізнані азотисті основи для цього сегмента не генеруються в цьому циклі.

Корегування фазування

Під час реакції секвенування кожна нитка ДНК у кластері подовжується на 1 азотисту основу за цикл. Фазування й попереднє фазування відбуваються, коли нитка не збігається з фазою поточного циклу вбудовування.

- ▶ Фазування відбувається, коли виникає відставання на одну азотисту основу.
- ▶ Попереднє фазування відбувається, коли виникає випередження на одну азотисту основу.

Рисунок 29 Фазування та попереднє фазування



A Зчитування з азотистою основою в стані фазування

B Зчитування з азотистою основою в стані попереднього фазування

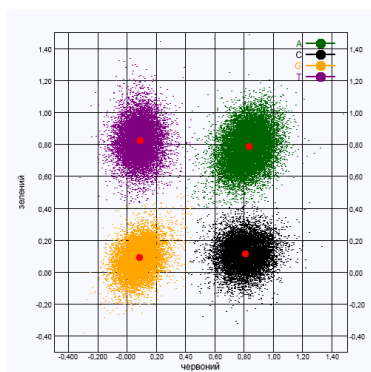
RTA2 корегує впливи фазування й попереднього фазування, що максимізує якість даних для кожного циклу протягом усього прогону.

Розпізнавання азотистих основ

Під час розпізнавання азотистих основ визначається азотиста основа (A, C, G або T) для кожного кластера відповідного сегмента конкретного циклу. У приладі NextSeq 550Dx використовується 2-канальне секвенування, яке потребує тільки 2 зображень для кодування даних для 4 основ ДНК, 1 із червоного й 1 із зеленого каналу.

Завдяки визначенню інтенсивності з одного зображення та її порівнянню з іншим зображенням формуються 4 різні популяції, кожна з яких відповідає одному нуклеотидові. Процес розпізнавання азотистих основ визначає, до якої популяції належить кожен кластер.

Рисунок 30 Візуалізація інтенсивності кластерів



Таблиця 1 Розпізнавання азотистих основ у 2-канальному секвенуванні

Азотиста основа	Червоний канал	Зелений канал	Результат
A	1 (увімк.)	1 (увімк.)	Кластери, які показують інтенсивність як у червоному, так і в зеленому каналах.
C	1 (увімк.)	0 (вимк.)	Кластери, які показують інтенсивність тільки в червоному каналі.
G	0 (вимк.)	0 (вимк.)	Кластери, які не показують інтенсивність у відомому розташуванні кластерів.
T	0 (вимк.)	1 (увімк.)	Кластери, які показують інтенсивність тільки в зеленому каналі.

Фільтр пропускання кластерів

Під час прогону RTA2 фільтрує необроблені дані для видалення зчитувань, які не відповідають граничному значенню якості даних. Видаляються кластери, що накладаються один на одного, і кластери низької якості.

Для 2-канального аналізу RTA2 використовує засновану на популяції систему, що дає змогу визначити чистоту розпізнавання азотистих основ. Кластери проходять крізь фільтр (фільтр пропускання, ФП), коли щонайбільше 1 розпізнавання азотистих основ на перші 25 циклів має значення чистоти менше за 0,63. Кластери, що не пройшли крізь фільтр, вважаються такими, що не пройшли розпізнавання азотистих основ.

Рекомендації щодо індексації

Процес зчитування індексу для розпізнавання азотистих основ відрізняється від розпізнавання азотистих основ під час інших зчитувань.

Зчитування індексу мають починатися хоча б з 1 основи, відмінної від G, у будь-якому з перших 2 циклів. Якщо зчитування індексу починається з 2 розпізнаних азотистих основ G, інтенсивність сигналу не генерується. Щоб забезпечити продуктивність демультіплексування, сигнал має бути наявний у будь-якому з перших 2 циклів.

Щоб підвищити надійність демультіплексування, вибирайте індексні послідовності, які забезпечують сигнал принаймні в 1 каналі, а краще в обох каналах, для кожного циклу. Відповідно до цієї рекомендації уникайте комбінацій індексів, які призводять до отримання тільки G-основ у будь-якому циклі.

- ▶ Червоний канал — A чи C
- ▶ Зелений канал — A чи T

Цей процес розпізнавання азотистих основ забезпечує точність під час аналізу зразків із низькою щільністю.

Оцінювання якості

Показник якості, або Q-показник, дає можливість прогнозувати ймовірність неправильного розпізнавання азотистої основи. Більші Q-показники означають, що розпізнавання азотистих основ має вищу якість і з більшою ймовірністю правильне.

Використання Q-показника — це простий спосіб відображення невеликих ймовірностей помилок. Показники якості представлено як $Q(X)$, де X — показник. У таблиці нижче показано зв'язок між показником якості й ймовірністю помилки.

Q-показник Q(X)	Імовірність помилки
Q40	0,0001 (1 на 10 000)
Q30	0,001 (1 на 1000)
Q20	0,01 (1 на 100)
Q10	0,1 (1 на 10)

ПРИМІТКА. Оцінювання якості базується на модифікованій версії алгоритму Phred.

Показник якості розраховується за набором прогностичних факторів для кожного розпізнавання азотистих основ, а потім використовує значення прогностичних факторів для визначення Q-показника в таблиці якості. Таблиці якості, розраховані за конкретною конфігурацією платформи секвенування та версії хімічного аналізу, створюються, щоб забезпечити оптимально точні прогностичні показники якості для прогонів.

Після визначення Q-показника результати записуються до файлів розпізнаних азотистих основ (*.bcl.bgzf).

Додаток С Файли й папки з вихідними даними

Файли з вихідними даними секвенування	63
Структура папки вихідних даних	66
Файли вихідних даних сканування	67
Структура папки вихідних даних сканування	67

Файли з вихідними даними секвенування

Тип файлу	Опис файлу, розташування й ім'я
Файли розпізнаних азотистих основ	До файлу розпізнаних азотистих основ додається кожний проаналізований сегмент, і такі файли об'єднуються в 1 файл для кожної доріжки й кожного циклу. Об'єднаний файл містить дані розпізнавання азотистих основ і закодований показник якості для кожного кластера цієї доріжки. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — файли зберігаються в 1 папці для кожної доріжки. [Цикл].bcl.bgz , де [Цикл] є номером циклу із 4 цифр. Файли розпізнаних азотистих основ стискаються з використанням блочного стиснення gzip.
Файл індексів розпізнаних азотистих основ	Для кожної доріжки в бінарному індексному файлі перераховано вихідні дані сегмента в парі значень для кожного сегмента, які являють собою номер сегмента й кількість кластерів для сегмента. Файли індексів розпізнаних азотистих основ створюються під час першого створення файлу розпізнаних азотистих основ для цієї доріжки. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — файли зберігаються в 1 папці для кожної доріжки. s_[Доріжка].bci
Файли розташування кластерів	Координати X і Y для кожного кластера в кожному сегменті об'єднуються в 1 файл розташування кластерів, що відповідає кожній доріжці. Файли розташування кластерів — результат генерування шаблону. Data\Intensities\L00[X] : файли зберігаються в 1 папці для кожної доріжки. s_[доріжка].locs
Файли фільтрованих даних	Файл фільтрованих даних указує, чи пройшов кластер фільтри. Інформація про фільтр об'єднується в 1 файл фільтрованих даних для кожної доріжки й зчитування. Файли фільтрованих даних створюються на циклі 26 з використанням даних 25 циклів. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — файли зберігаються в 1 папці для кожної доріжки. s_[доріжка].фільтр
Файли InterOp	Бінарні файли звітів. Файли InterOp оновлюються протягом усього прогону. Папка InterOp
Файл конфігурації RTA	Файл конфігурації RTA, створений на початку прогону, містить налаштування для цього прогону. [Коренева папка], RTAConfiguration.xml
Файл інформації про прогін	Містить ім'я прогону, кількість циклів на зчитування, інформацію про те, чи зчитування проводиться з індексуванням, а також кількість смуг і сегментів на проточній кюветі. Файл інформації про прогін створюється на початку прогону. [Коренева папка], RunInfo.xml

Сегменти проточної кювети

Сегменти — це невеликі зони візуалізації в проточній кюветі, які визначаються як поле зору камери. Загальна кількість сегментів залежить від кількості доріжок, смуг і поверхонь, які візуалізуються на проточній кюветі, і від того, як камери працюють разом для отримання зображень. Проточні кювети з високим вихідним потоком мають загалом 864 сегменти.

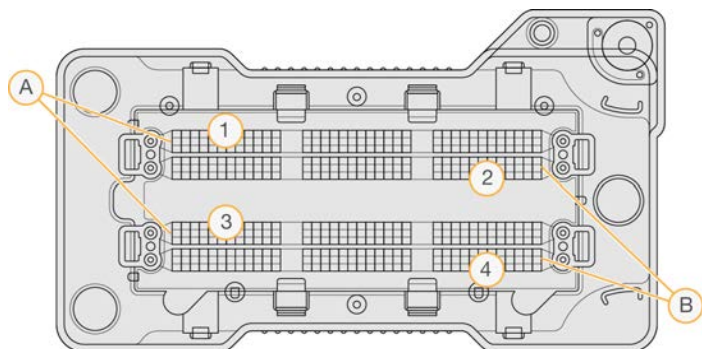
Таблиця 2 Сегменти проточної кювети

Компонент проточної кювети	3 високим вихідним потоком	Опис
Доріжки	4	Доріжка — це фізичний канал із виділеними портами введення й виведення.
Поверхні	2	Проточна кювета візуалізується на 2 поверхнях, верхній і нижній. Перед переходом до наступного сегмента візуалізується верхня поверхня 1 сегмента, потім нижня поверхня того самого сегмента.
Смуг на доріжку	3	Смуга — це колона сегментів на доріжці.
Сегменти камери	3	Прилад використовує 6 камер для візуалізації проточної кювети в 3 сегментах для кожної доріжки.
Сегментів на смугу на сегмент камери	12	Сегмент — це зона на проточній кюветі, яку камера бачить як 1 зображення.
Загалом сегментів візуалізовано	864	Загальна кількість сегментів дорівнює: доріжки × поверхні × смуги × сегменти камери × сегменти на смугу на сегмент.

Нумерація доріжок

Доріжки 1 і 3, які називаються парою доріжок А, візуалізуються одночасно. Доріжки 2 й 4, які називаються парою доріжок В, візуалізуються, коли завершується візуалізація пари доріжок А.

Рисунок 31 Нумерація доріжок

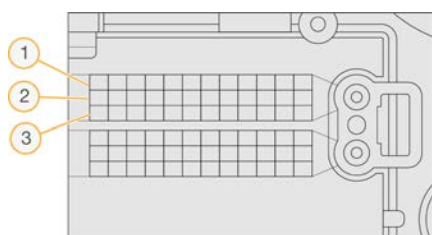


- A Пара доріжок А — доріжки 1 і 3
- B Пара доріжок В — доріжки 2 й 4

Нумерація смуг

Кожну доріжку представлено 3 смугами. Смуги пронумеровано від 1 до 3 для проточних кювет із високим виходом.

Рисунок 32 Нумерація смуг



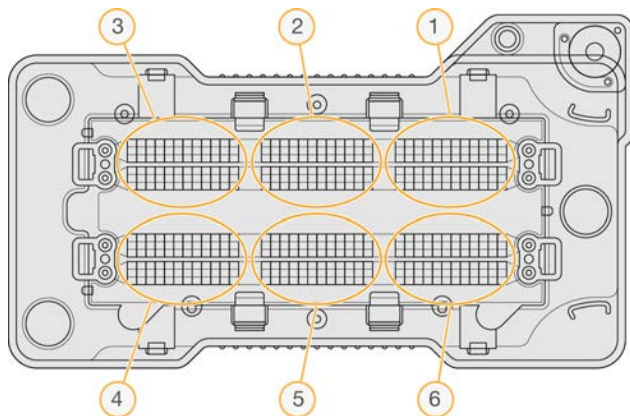
Нумерація камер

Для візуалізації проточної кювети прилад NextSeq 550Dx використовує 6 камер.

Камери пронумеровано від 1 до 6. Камери 1–3 відповідають за візуалізацію доріжки 1.

Камери 4–6 відповідають за візуалізацію доріжки 3. Після візуалізації доріжок 1 і 3 модуль формування зображення переміщується по осі X, щоб візуалізувати доріжки 2 й 4.

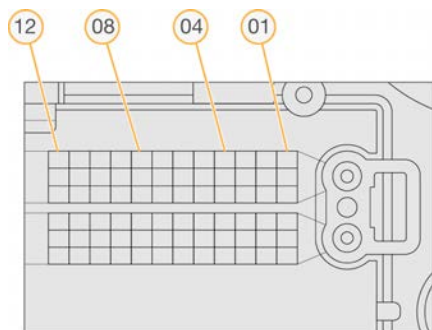
Рисунок 33 Нумерація камер і сегментів (показано проточну кювету з високим вихідним потоком)



Нумерація сегментів

У кожній смузі кожного сегмента камери є 12 сегментів. Сегменти пронумеровано від 01 до 12 незалежно від номера смуги або сегмента камери й представлено 2 цифрами.

Рисунок 34 Нумерація сегментів



Для маніфесту розташування повний номер сегмента має 5 цифр, як показано нижче.

- ▶ **Поверхня** — 1 представляє верхню поверхню, 2 — нижню.
- ▶ **Смуга** — 1, 2 або 3.
- ▶ **Камера** — 1, 2, 3, 4, 5 або 6.
- ▶ **Сегмент** — 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 або 12.

Приклад. Номер сегмента 12508 позначає верхню поверхню, смугу 2, камеру 5 і сегмент 8.

Повний 5-значний номер сегмента використовується в імені файлу зображення ескізів і файлів емпіричного фазування. Для отримання додаткової інформації див. розділ *Файли з вихідними даними секвенування на стор. 63.*

Структура папки вихідних даних

Системне програмне забезпечення генерує ім'я папки вихідних даних автоматично.

📁 Data

📁 Intensities

📁 BaseCalls

📁 **L001** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 1, об'єднані в 1 файл за цикл.

📁 **L002** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 2, об'єднані в 1 файл за цикл.

📁 **L003** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 3, об'єднані в 1 файл за цикл.

📁 **L004** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 4, об'єднані в 1 файл за цикл.

📁 **L001** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 1.

📁 **L002** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 2.

📁 **L003** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 3.

📁 **L004** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 4.

📁 Images

📁 Focus

📁 **L001** — фокусні зображення для доріжки 1.

📁 **L002** — фокусні зображення для доріжки 2.

📁 **L003** — фокусні зображення для доріжки 3.

📁 **L004** — фокусні зображення для доріжки 4.

📁 **InterOp** — бінарні файли.

📁 **Logs** — файли журналу, що описують етапи роботи.

📁 **Recipe** — специфічний для прогону файл набору параметрів з ідентифікатором картриджа з реагентами.

📁 **RTALogs** — файли журналу, що описують етапи аналізу.

📄 RTAComplete.txt

- RTAConfiguration.xml
- RunInfo.xml
- RunParameters.xml

Файли вихідних даних сканування

Тип файлу	Опис файлу, розташування та ім'я
Файли GTC	Файл розпізнавання генотипу. Файл GTC створюється для кожного зразка, відсканованого на BeadChip. Ім'я файлу містить штрих-код і відсканований зразок. [штрих-код]_[зразок].gtc
Файли зображення	Файли зображення називаються відповідно до зони, відсканованої на BeadChip. Ім'я містить штрих-код, зразок і розділ на BeadChip, смугу й канал візуалізації (червоний або зелений). [штрих-код]_[зразок]_[розділ]_[смуга]_[камера]_[сегмент]_[канал].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Штрих-код — ім'я файлу починається зі штрих-коду BeadChip. • Зразок — зона BeadChip, пронумерована як рядок (R0X), зверху вниз, і стовпець (C0X), зліва направо. • Розділ — нумерований ряд у зразку. • Смуга — чипи BeadChip візуалізуються як колекція сегментів, що накладаються один на одного. Отже, для візуалізації розділу використовується лише 1 смуга. • Камера — камера, яка використовувалася для отримання зображення. • Сегмент — зона візуалізації, визначена як поле зору камери. • Канал — канал: червоний або зелений.

Структура папки вихідних даних сканування

[Дата]_[Назва приладу]_[Номер сканування]_[Штрих-код]

[Штрих-код]

Config

Effective.cfg — записує налаштування параметрів, які використовуються під час сканування.

Focus — містить файли зображень, які використовуються для фокусування сканування.

Logs — містить файли журналу, у яких перераховано всі етапи, виконані під час сканування.

PreScanDiagnosticFiles

[Дата_Час] Barcode Scan

ProcessedBarcode.jpg — зображення штрих-коду BeadChip.




Діагностика сканування (файли журналів)

PreScanChecks.csv — записує результати автоматичної перевірки.

Файли GTC — файли розпізнавання генотипу (1 файл на зразок).

Файли IDAT — файли даних про інтенсивність (2 файли на зразок; 1 на канал) [необов'язково].

Файли зображень — сканування зображень для кожного зразка, розділу, смуги, камери, сегмента та каналу.

-  [Штрих-код]_sample_metrics.csv
-  [Штрих-код]_section_metrics.csv
-  ScanParameters.xml

Показчик

В

- BaseSpace 54
 - вхід 18
- BeadChip
 - адаптер 5, 31
 - аналіз 1
 - завантаження 33
 - орієнтація штрих-коду 31
 - помилка реєстрації 51
 - типи 1
 - штрих-код не може бути зчитано 50

I

- InterOp 45, 63

Q

- Q-показники 60

R

- RunInfo.xml 63

U

- Universal Copy Service 26

W

- Windows
 - вихід 44

A

- адаптер
 - завантаження BeadChip 33
 - огляд 5
 - орієнтація BeadChip 31
- алгоритм Phred 60
- аналіз
 - вихідні файли 63
- аналіз, первинний
 - чистота сигналу 60

Б

- буферний відсік 3

В

- видалити витратні матеріали 13
- вимикач живлення 11
- витратні матеріали 6
 - витратні матеріали для промивання 37-38
 - картридж із буферами 9
 - картридж із реагентами 8
 - обслуговування приладу 14
 - прогони секвенування 13
 - проточна кювета 7
 - хімічно чиста вода 14
- витратні матеріали, що замовляє користувач 13-14
- вихідні файли 63
- вихідні файли сканування GTC, IDAT 67
- вихідні файли, секвенування 63
- вихідні файли, сканування GTC, IDAT 67
- відпрацьовані реагенти
 - контейнер повний 48
 - утилізація 20, 40
- відсік для візуалізації 3
- відсік для зображень 3
- відсік для реагентів 3
- відстеження RFID 6
- візуалізація, 2-канальне секвенування 59
- вхідні файли, сканування
 - папка DMAP 29
 - папка DMAP, завантаження 30
 - файли кластера 29, 52
 - файли маніфесту 29, 52

Г

- генерування кластерів 15, 26
- генерування шаблону 58
- гіпохлорит натрію, промивання 38

Д

- довжина зчитування 15-16

довідка

документація 2
документація 2, 73
допомога, технічна 73

Е

емпіричне фазування 59

З

завершення роботи приладу 43
звук 12
значення інтенсивності 59
значки
помилки й попередження 4
стан 4

І

ім'я користувача та пароль 11
ім'я користувача та пароль системи 11
імовірність помилки 60

К

картридж з реагентом
резервуар № 28 38
картридж із буферами 9, 21
картридж із реагентами
резервуар № 6 22
Картридж із реагентами
огляд 8
керівне програмне забезпечення 4
керування приладом
завершення роботи 43-44
клавіатура 12
клієнт декодування файлів 29
Клієнт декодування файлів
доступ за допомогою BeadChip 31
доступ за обліковим записом 30
кнопка живлення 5, 11
компоненти
буферний відсік 3
відсік для візуалізації 3
відсік для зображень 3
відсік для реагентів 3
рядок стану 3

Н

Налаштування 54
налаштування BaseSpace 23
налаштування автономного режиму 24
налаштування конфігурації 53
налаштування прогону, розширені
варіанти 13
налаштування системи 12
нумерація доріжок 64
нумерація камер 65
нумерація сегментів 65
нумерація смуг 64

О

обслуговування приладу
витратні матеріали 14
обслуговування, профілактичне 37
онлайн-навчання 2
оновлення програмного забезпечення 42

П

папка DMAP
завантаження 30
клієнт декодування файлів 29
параметри прогону
автономний режим 24
редагувати параметри 23
режим BaseSpace 23
пари доріжок 64
перевірка перед прогоном 25, 34
передавання даних
universal copy service 26
передача даних
дані сканування 35
перезавантаження
прилад 43
перезавантаження в режим дослідження 12
перезапуск 43
питання індексації 60
підтримка користувачів 73
Повідомлення про помилку RAID 53
повітряний фільтр 4, 40
повторна гібридизація праймера 48
повторна гібридизація, Зчитування 1 48
показники
розпізнавання азотистих основ 59
цикли інтенсивності 26

- цикли щільності кластерів 26
- помилки й попередження 4, 58
- помилки перевірки перед прогоном 46
- попередження про стан 4
- пошук і усунення неполадок
 - заміна файлів маніфесту й кластера 52
- пошук і усунення несправностей
 - контейнер для відпрацьованих реагентів 48
 - неможливо зчитати штрих-код BeadChip 50
- перевірка перед прогоном 46
- показники низької якості 48
- помилка реєстрації сканування 51
- специфічні для прогону файли 45-46
- прилад
 - аватар 12
 - завершення роботи 43
 - запуск 11
 - індикатори режимів 12
 - кнопка живлення 5
 - налаштування конфігурації 53
 - перезавантаження 43
 - перезапуск 43
 - псевдонім 12
- програмне забезпечення
 - автоматичне оновлення 42
 - аналіз зображення, розпізнавання азотистих основ 4
 - ініціалізація 11
 - на приладі 4
 - налаштування конфігурації 53
 - оновлення вручну 42
 - тривалість прогону 15-16
- програмне забезпечення BlueFuse Multi 1
- програмне забезпечення Real-Time Analysis 4
 - робочий процес 58
 - фазування 59
- Програмне забезпечення для аналізу в реальному часі
 - результати 63
- промивання
 - автоматичне 27
 - витратні матеріали, що замовляє користувач 37
 - компоненти для промивання 37
 - промивання вручну 37
- промивання після прогону 27
- промивання приладу 37

- проточна кювета
 - візуалізація 65
 - напрямні штифти 18
 - номер смуги 64
 - нумерація доріжок 64
 - нумерація сегментів 65
 - огляд 7
 - очищення 17
 - пакування 17
 - пари доріжок 7
 - повторна гібридизація 48
 - сегменти 63
- профілактичне обслуговування 37

P

- реагенти
 - відповідна утилізація 21
 - набір 6
- режим RUO 12
- рекомендації щодо хімічно чистої води 14
- робочий процес
 - BeadChip 33
 - автономний режим 24
 - відпрацьовані реагенти 20
 - вхід у BaseSpace 18
 - картридж із буферами 21
 - картридж із реагентами 21
 - огляд 16, 30
 - питання індексації 60
 - підготовка проточної кювети 17
 - показники прогону, показники прогону 25
 - проточна кювета 18
 - режим BaseSpace 23
 - секвенування 58
 - тривалість прогону 15-16
 - функції розширеного завантаження 13
- робочий процес секвенування 16, 58
- робочий процес
 - гіпохлорит натрію 38
 - перевірка перед прогоном 25, 34
 - розпізнавання азотистих основ 59
 - питання індексації 60
- розташування кластера файли 63
- розташування кластерів генерування шаблону 58
- розташування папки 24
- рядок стану 3

С

- секвенування
 - витратні матеріали, що замовляє користувач 13
 - вступ 15
- Служба моніторингу Illumina Proactive 54
- сумісність
 - RFID-трекер 8
 - відстеження RFID 6
 - проточна кювета, картридж із реагентами 6

Т

- технічна допомога 73
- тривалість зчитування 15
- тривалість прогону 15-16

Ф

- фазування, попереднє фазування 59
- файли GTC 67
- файли locs 63
- Файли RunInfo.xml 45, 63
- файли розпізнаних азотистих основ 63
- файли фільтрів 63
- фільтр пропускання (ФП) 60
- фільтр пропускання кластерів 60
- фільтр чистоти 60
- формамід, положення № 6 22
- функції розширеного завантаження 13

Ц

- цикли в зчитуванні 15
- циклів на зчитування 15

Технічна допомога

Для отримання технічної допомоги зв'яжіться зі службою технічної підтримки компанії Illumina.

Вебсайт www.illumina.com
Електронна пошта techsupport@illumina.com

Номери телефонів підтримки користувачів компанії Illumina

Регіон	Безкоштовний	Регіональний
Північна Америка	+1 800 809 4566	
Австралія	+1 800 775 688	
Австрія	+43 800006249	+43 19286540
Бельгія	+32 80077160	+32 34002973
Велика Британія	+44 8000126019	+44 2073057197
Гонконг, Китай	800960230	
Данія	+45 80820183	+45 89871156
Ірландія	+353 1800936608	+353 016950506
Іспанія	+34 911899417	+34 800300143
Італія	+39 800985513	+39 236003759
Китай	400 066 5835	
Нідерланди	+31 8000222493	+31 207132960
Німеччина	+49 8001014940	+49 8938035677
Нова Зеландія	0800 451 650	
Норвегія	+47 800 16836	+47 21939693
Південна Корея	+82 80 234 5300	
Сінгапур	+1 800 579 2745	
Тайвань, Китай	00806651752	
Фінляндія	+358 800918363	+358 974790110
Франція	+33 805102193	+33 170770446
Швейцарія	+41 565800000	+41 800200442
Швеція	+46 850619671	+46 200883979
Японія	0800 111 5011	
Інші країни	+44 1799 534000	

Паспорти безпеки продукції (SDS) доступні на вебсайті Illumina за адресою support.illumina.com/sds.html.

Документація продукції доступна для завантаження на вебсайті support.illumina.com.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A. (США)
+1 800 809.ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (за межами Північної Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

Використовувати лише для досліджень.
Не можна використовувати для діагностичних процедур.
© 2021 р. Illumina, Inc. Усі права застережено.

illumina®