

Seadme NextSeq 550Dx uurimisrežiim

Seadme viitejuhend



See dokument ja selle sisu kuuluvad ettevõttele Illumina, Inc. ja selle tütarettevõtetele (edaspidi: Illumina) ning on mõeldud kasutamiseks ainult ettevõtte lepingulistele klientidele seoses selles dokumendis kirjeldatud toote (toodete) kasutamisega ega ole mõeldud mitte mingiks muuks otstarbeks. Seda dokumenti ega selle sisu ei tohi mis tahes viisil kasutada ega muul eesmärgil levitada ja/või edastada, avaldada või reprodutseerida ilma Illumina eelneva kirjaliku nõusolekuta. Illumina ei anna selle dokumendiga kolmandale isikule oma patendi-, kaubamärgi-, autori-, tava- või muu sarnase õiguse alusel mitte ühtegi litsentsi.

Kvalifitseeritud ja asjakohase koolituse saanud töötajad peavad selles dokumendis kirjeldatud juhiseid järgima rangelt ja üksikasjalikult, et tagada siin kirjeldatud toote (toodete) õige ja ohutu kasutusviis. Siinse dokumendi sisu tuleb enne nimetatud toote (toodete) kasutamist täies ulatuses läbi lugeda ja endale selgeks teha.

SELLES DOKUMENDIS KIRJELDATUD JUHISTE MITTE LUGEMINE JA MITTE ÜKSİKASJALIKULT JÄRGIMINE VÕIB KAHJUSTADA TOODET (TOOTEID), VIGASTADA INIMESI (SH KASUTAJAID VÕI TEISI) JA KAHJUSTADA MUUD VARA. NIMETATUD JUHUL EI KEHTI ÜKSKI TOOTELE (TOODETELE) ANTUD GARANTII.

ILLUMINA EI VASTUTA SELLES DOKUMENDIS KIRJELDATUD TOOTE (TOODETE) (SEALHULGAS TOOTE OSAD VÕI TARKVARA) VÄÄRKASUTUSE EEST.

© 2021 Illumina, Inc. Kõik õigused on kaitstud.

Kõik kaubamärgid kuuluvad ettevõttele Illumina, Inc. või nende vastavatele omanikele. Kaubamärgi kohta lisateabe saamiseks vt www.illumina.com/company/legal.html.

Muudatuste ajalugu

Dokument	Kuupäev	Muudatuse kirjeldus
Dokument nr 1000000041922 v03	Oktoober 2021	Lisati märkus sekveneerimiskäituste kontrollide seitsmepäevase taimeri kohta Uuendati sekveneerimise töövoogu, lisades jaotise käituse loomise kohta tarkvaraga Local Run Manager. Muudeti stabiilsuspiiri BeadChipi tüüpidele lisati Infinium Methylation EPIC Uuendati ikoonide pilte kasutajaliidese muudatuste järgi
Dokument nr 1000000041922 v02	November 2020	Uuendati joonist jaotises „Käsitsi pesemine“, et peegeldada uusi reaktiivi ja puhvri pesukassette. Uuendati olekuriba teavet lisavärvidega.
Dokument nr 1000000041922 v01	Märts 2018	Lisati teave jälgimisteenuse Illumina Proactive kohta süsteemi sätete konfigureerimise jaotises
Dokument nr 1000000041922 v00	November 2017	Esialgne väljalase.

Sisukord

Peatükk 1 Ülevaade	1
Teave selle juhendi kohta	1
Sissejuhatus	1
Lisaallikad	1
Seadme komponendid	2
Reaktiivikomplekti ülevaade	5
Sekveneerimise kulutarvikute ülevaade	5
Peatükk 2 Alustamine	9
Seadme käivitamine	9
Süsteemi sätete kohandamine	10
Kasutaja hangitavad kulutarvikud ja seadmed	11
Peatükk 3 Sekveneerimine	13
Sissejuhatus	13
Sekveneerimise töövoog	14
Reaktiivikasseti ettevalmistamine	14
Läbivooluküveti ettevalmistamine	15
Teekide ettevalmistamine sekveneerimiseks	15
Sekveneerimiskäituse seadistamine	16
Käituse edenemise jälgimine	22
Automaatne käitusjärgne pesemine	24
Peatükk 4 Skannimine	25
Sissejuhatus	25
Skannimise töövoog	26
DMAP-i kausta allalaadimine	26
BeadChipi laadimine adapterisse	27
Skannimise seadistamine	28
Skannimise edenemise jälgimine	30
Peatükk 5 Hooldus	33
Sissejuhatus	33
Käsitsi pesemine	33
Õhufiltri asendamine	36
Tarkvaravärskendused	37
Algkäivitamise ja väljalülitamise valikud	39
Lisa A Tõrkeotsing	41
Sissejuhatus	41
Tõrkeotsingu failid	41
Automaatse kontrolli tõrgete lahendamine	42
Kasutatud reaktiivide mahuti on täis	44

Rehübridiseerimise töövoog	44
BeadChipi ja skannimise tõrked	46
Kohandatud moodused ja moodusekaustad	47
RAID-i tõrketeade	48
Süsteemi sätete konfigureerimine	48
Lisa B Reaalajas analüüs	51
Reaalajas analüüsi ülevaade	51
Reaalajas analüüsi töövoog	52
Lisa C Väljundfailid ja -kaustad	55
Sekveneerimise väljundfailid	55
Väljundkaustade struktuur	57
Skannimise väljundfailid	58
Skannimise väljundkaustade struktuur	59
Register	61
Tehniline tugi	65

Peatükk 1 Ülevaade

Teave selle juhendi kohta	1
Sissejuhatus	1
Lisaallikad	1
Seadme komponendid	2
Reaktiivikomplekti ülevaade	5
Sekvenerimise kulutarvikute ülevaade	5

Teave selle juhendi kohta

Selles seadme viitejuhendis on toodud juhised seadme NextSeq 550Dx kasutamise kohta uurimisrežiimis (RUO).

Sissejuhatus

Sekvenerimise funktsioonid

- ▶ **Suure läbilaskega sekvenerimine** – seade NextSeq™ 550Dx võimaldab DNA-teekide sekvenerimist.
- ▶ **Reaalajas analüüs (RTA)** – töötleb pilte ja nimetab aluseid. Lisateavet vaadake jaotisest *Reaalajas analüüs* leheküljel 51.
- ▶ **Seadmes toimuva andmeanalüüsi võimalus** – käituse jaoks määratud analüüsitarkvara moodulid saavad käituse andmeid analüüsida.
- ▶ **Kahestus** – seade NextSeq 550Dx sisaldab eraldi kõvakettaid, mis toetavad diagnostika- (Dx) ja uurimisrežiimi (RUO).

Massiivi skannimise funktsioonid

- ▶ **Integreeritud massiivi skannimine juhtimistarkvaras** – seade NextSeq 550Dx võimaldab samas seadmes sama juhtimistarkvara kasutades liikuda massiivi skannimise ja suure läbilaskega sekvenerimise vahel.
- ▶ **Laiendatud kuvamisvõime** – seadme NextSeq 550Dx hõivamissüsteem sisaldab tarkvara ja aluse modifikatsioone, mis võimaldavad kuvada BeadChipi skannimiseks suuremat pindala.
- ▶ **BeadChipi tüübid** – ühilduvad BeadChipi tüübid hõlmavad järgmisi: CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC ja Karyomap-12.
- ▶ **BeadChipi adapter** – korduskasutatav BeadChipi adapter võimaldab BeadChipi hõlpsalt seadmesse laadida.
- ▶ **Andmeanalüüs** – kasutage massiiviandmete analüüsimiseks tarkvara BlueFuse® Multi.

Lisaallikad

Järgmised dokumendid saab alla laadida Illumina veebisaidilt.

Teabeallikas	Kirjeldus
<i>Seadme NextSeq 550Dx töökoha ettevalmistamise juhend (dokument nr 100000009869)</i>	Pakub tehnilisi andmeid laboriruumi, elektrinõuete ning keskkonnatingimuste kohta.
<i>Seadme NextSeq 550Dx ohutus- ja vastavusjuhend (dokument nr 100000009868)</i>	Sisaldab teavet tööohutuskalutluste, vastavusavalduste ja seadme märgistamise kohta.
<i>RFID-lugeri vastavusjuhend (dokument nr 1000000030332)</i>	Sisaldab teavet seadme RFID-lugeri, vastavussertifikaatide ja ohutuskalutluste kohta.
<i>Seadme NextSeq 550Dx uurimisrežiimi viitejuhend (dokument nr 1000000041922)</i>	Sisaldab juhiseid seadme kasutamiseks ja tõrkeotsingu toiminguid. Kasutamiseks seadme NextSeq 550Dx uurimisrežiimis koos süsteemi NextSeq juhtimistarkvaraga (NCS) v3.0.
<i>Süsteemi NextSeq 550 juhend (dokument nr 15069765)</i>	Sisaldab juhiseid seadme kasutamiseks ja tõrkeotsingu toiminguid. Kasutamiseks seadme NextSeq 550Dx uurimisrežiimis koos süsteemi NextSeq juhtimistarkvaraga (NCS) v4.0.
<i>Süsteemi NextSeq 550 juhend</i>	Sisaldab seadme komponentide ülevaadet, seadme kasutamise juhiseid ning hooldus- ja tõrkeotsingu toiminguid.
<i>BaseSpace'i spikker</i>	Sisaldab teavet BaseSpace™ Sequence Hubi kasutamise ja saadaolevate analüüsivalikute kohta.

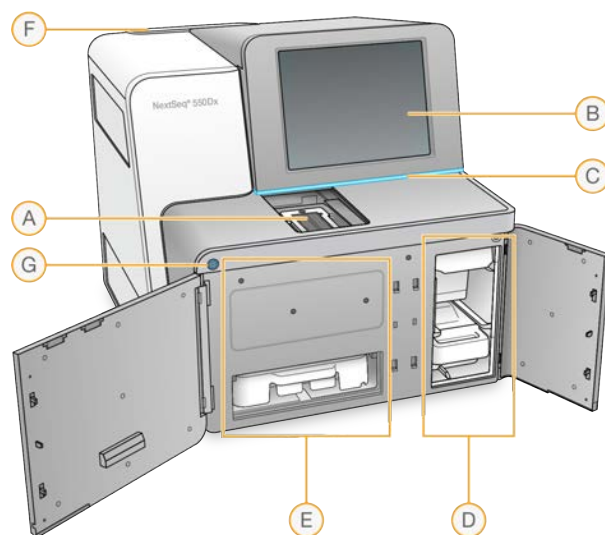
Küllastage Illumina veebisaidil [seadme NextSeq 550Dx tugiteenuste lehte](#), et pääseda juurde dokumentidele, tarkvara allalaadimistele, veebikoolitustele ja korduma kippuvatele küsimustele.

Küllastage Illumina veebisaidil [NextSeq 550Dx tugiteenuste lehti](#), et pääseda juurde dokumentidele, tarkvara allalaadimistele, veebikoolitustele ja korduma kippuvatele küsimustele.

Seadme komponendid

Seadmel NextSeq 550Dx on puutekraaniga monitor, olekuriba ja neli sektsiooni.

Joonis 1 Seadme komponendid



- A **Pildinduse sektsioon** – sisaldab sekveneerimiskäituse ajal läbivooluküveti.
- B **Puutekraaniga monitor** – võimaldab seadme konfigureerimist ja kasutamist juhtimistarkvara liidese abil.
- C **Olekuriba** – näitab seadme olekut, kui see töötleb (sinine), vajab tähelepanu (oranž), on sekveneerimiseks valmis (roheline), lähtestab (vaheldumisi sinine ja valge), pole veel lähtestanud (valge) või vajab järgmise 24 tunni jooksul pesemist (kollane).
- D **Puhvriksioon** – sisaldab puhvrikassetti ja kasutatud reaktiivide mahuti.
- E **Reaktiivisektsioon** – sisaldab reaktiivikassetti.
- F **Õhufiltri sektsioon** – sisaldab õhufiltrit. Filtrile pääsete juurde seadme tagant.
- G **Toitenupp** – lülitab seadme ja seadme arvuti sisse ja välja.

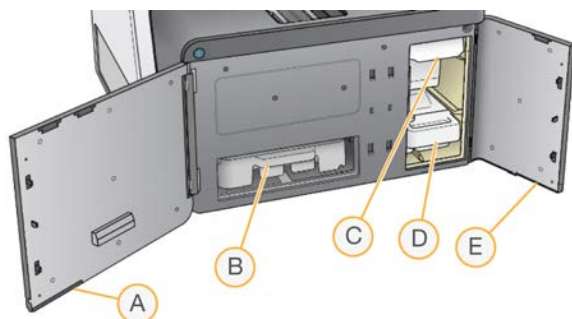
Hõivamissektsioon

Hõivamissektsioon sisaldab alust, millel on kolm joondustihvti läbivooluküveti paigaldamiseks. Pärast läbivooluküveti laadimist sulgub hõivamissektsiooni luuk automaatselt ja liigutab komponendid paigale.

Reaktiivi- ja puhvriksioonid

Seadmes NextSeq 550Dx sekveneerimiskäituse seadistamine nõuab juurdepääsu reaktiivisektsioonile ja puhvriksioonile, et laadida käituse kulutarvikud ja tühendada kasutatud reaktiivide mahuti.

Joonis 2 Reaktiivi- ja puhvriksioonid



- A **Reaktiivisektsiooni luuk** – sulgeb reaktiivisektsiooni lukuga, mis asub luugi alumise parempoolse ala all. Reaktiivisektsioon sisaldab reaktiivikassetti.
- B **Reaktiivikassett** – reaktiivikassett on eeltäidetud, ühekordseks kasutamiseks mõeldud kulutarvik.
- C **Puhvrikassett** – puhvrikassett on eeltäidetud, ühekordseks kasutamiseks mõeldud kulutarvik.
- D **Kasutatud reaktiivide mahuti** – kasutatud reaktiivid kogutakse käituse järel kõrvaldamiseks.
- E **Puhvriksiooni luuk** – sulgeb puhvriksiooni lukuga, mis asub luugi alumise vasakpoolse nurga all.

Õhufiltri sektsioon

Õhufiltri sektsioon sisaldab õhufiltrit ja asub seadme tagaosas. Asendage õhufilter iga 90 päeva järel. Teavet õhufiltri asendamise kohta vt jaotisest [Õhufiltri asendamine leheküljel 36](#).






Seadme NextSeq 550Dx tarkvara

Seadme tarkvara sisaldab integreeritud rakendusi sekveneerimiskäituste tegemiseks.

- ▶ **Süsteemi NextSeq juhtimistarkvara (NCS)** – juhtimistarkvara juhib teid läbi sekveneerimiskäituse seadistamise etappide.
- ▶ **Reaalajas analüüsi (RTA) tarkvara** – RTA teeb käituse ajal pildianalüüsi ja aluste nimetamise. Seade NextSeq 550Dx kasutab RTA v2-te, millel on varasemate versioonidega võrreldes olulised arhitektuuri ja funktsioonide erinevused. Lisateavet vaadake jaotisest [Reaalajas analüüs leheküljel 51](#).

Olekuikoonid

NCS-i ülemises paremas nurgas olev olekuikoon annab teada mistahes oleku muutustest käituse seadistamise või käituse ajal.

Olekuikoon	Oleku nimi	Kirjeldus
	Olek OK	Süsteem on tavaolekus.
	Töötleb	Süsteem töötleb.
	Hoiatus	Esines hoiatus. Hoiatused ei peata käitust ega nõua enne jätkamist toimingute tegemist.
	Tõrge	Esines tõrge. Tõrked nõuavad enne käituse jätkamist toimingut.
	Nõutav hooldus	Tekkis tähelepanu vajav teatis. Lisateavet vaadake teatest.

Kui tingimuses esineb muudatus, siis ikoon vilgub teie hoiatamiseks. Valige ikoon tingimuse kirjelduse vaatamiseks. Teate aktsepteerimiseks valige nupp **Acknowledge** (Kinnita) ja dialoogiakna sulgemiseks valige nupp **Close** (Sulge).

MÄRKUS.

Teate kinnitamine lähtestab ikooni ja teade kuvatakse hallina. Teade on ikooni valimisel endiselt kasutajale nähtav, kuid kaob NCS-i taaskäivitamisel.

Toitenupp

Seadme NextSeq 550Dx ees olev toitenupp lülitab seadme ja seadme arvuti toite sisse. Toitenupp teeb olenevalt seadme toiteolekust järgmisi toiminguid. Vaikimisi algkäivitab seade NextSeq 550Dx diagnostikarežiimi.

Teavet seadme algse sisselülitamise kohta vt jaotisest *Seadme käivitamine* leheküljel 9.

Teavet seadme väljalülitamise kohta vt jaotisest *Seadme väljalülitamine* leheküljel 39.

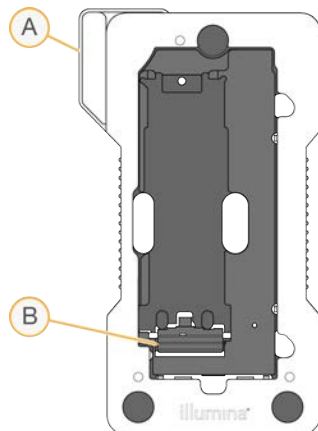
Toite olek	Toiming
Seade on välja lülitatud	Vajutage toite sisselülitamiseks nuppu.
Seade on sisse lülitatud	Vajutage toite väljalülitamiseks nuppu. Ekraanile ilmub dialoogiaken, et kinnitada seadme väljalülitamist.
Seade on sisse lülitatud	Vajutage ja hoidke toitenuppu 10 sekundit all, et seade ja seadme arvuti sunniviisiliselt välja lülitada. Kasutage seda meetodit seadme väljalülitamiseks ainult siis, kui seade ei reageeri.

MÄRKUS. Seadme sekveneerimiskäituse ajal välja lülitamine lõpetab kohe käituse. Käituse lõpetamine on lõplik. Käituse kulutarvikuid ei saa uuesti kasutada ja käituse sekveneerimisandmeid ei salvestata.

Korduskasutatava BeadChipi adapteri ülevaade

Korduskasutatav BeadChipi adapter hoiab skannimise ajal BeadChipi. BeadChipi hoitakse kinnitusklambri abil adapteri süvendis. Seejärel laaditakse BeadChipi adapter hõivamissektsioonis olevale alusele.

Joonis 3 Korduskasutatav BeadChipi adapter



- A BeadChipi adapter
- B Kinnitusklamber

Reaktiivikomplekti ülevaade

Sekveneerimise kulutarvikute ülevaade

Seadme NextSeq 550Dx käitamiseks nõutavad sekveneerimise kulutarvikud on kaasas eraldi ühekordselt kasutatava komplektina. Iga komplekt sisaldab ühte läbivooluküveti, reaktiivikassetti, puhvrikassetti ja teegi lahenduspuhvit. Lisateavet vt toote *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cycles)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles)* või *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)* pakendi infolehel.

Läbivooluküveti, reaktiivikassetti ja puhvrikassetti kasutavad kulutarviku täpseks jälgimiseks ning ühilduvuseks raadiosageduslikku identifitseerimist (RFID).

ETTEVAATUST

Seadme reaktiivikomplektid NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 nõuavad NOS-i versiooni 1.3 või uuemat, et seade aktsepteeriks v2.5 läbivooluküveti kasseti. Reaktiivide ja/või proovide raiskamise vältimiseks tehke tarkvaravärskendused enne proovide ja kulutarvikute ettevalmistamist.

MÄRKUS.

Hoidke sekveneerimise kulutarvikuid karpides seni, kuni olete valmis neid kasutama.

Komplekti ühilduvuse märgistus

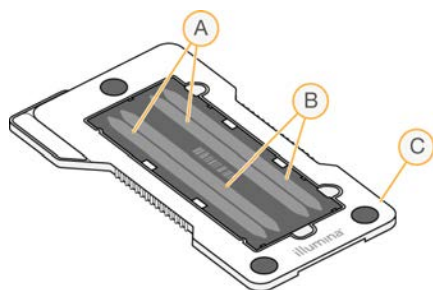
Komplekti komponendid on tähistatud värvikoodiga indikaatoritega, mis näitavad läbivooluküvetide ja reaktiivikassettide vahelist ühilduvust. Kasutage alati ühilduvat reaktiivikassetti ja läbivooluküveti. Puhvrikassett on universaalne.

Iga läbivooluküvett ja reaktiivikassett on tähistatud kas **High** või **Mid**. Kulutarvikute käituseks ettevalmistamise ajal vaadake alati märgistust.

Komplekti tüüp	Sildi märgistus
Suure väljundiga komplekti komponendid	
Keskmise väljundiga komplekti komponendid	

Läbivooluküveti ülevaade

Joonis 4 Läbivooluküveti kassett



- A Radade paar A – rajad 1 ja 3
- B Radade paar B – rajad 2 ja 4
- C Läbivooluküveti kasseti raam

Läbivooluküvett on klaasist substraat, kus luuakse klastrid ja toimub sekveneerimise reaktsioon. Läbivooluküvett asub läbivooluküveti kassetis.

Läbivooluküvett sisaldab nelja rada, mis hõivatakse paaridena.

- ▶ Rajad 1 ja 3 (radade paar A), hõivamine toimub samaaegselt.
- ▶ Rajad 2 ja 4 (radade paar B), hõivamine toimub pärast paari A hõivamise lõpetamist.

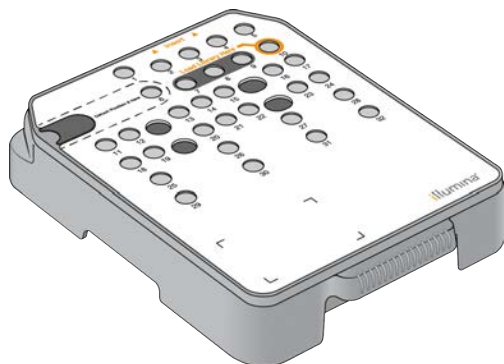
Kuigi läbivooluküvetil on neli rada, sekveneeritakse läbivooluküvetil ainult ühte teeki või teekide kogumi komplekti. Teegid laaditakse reaktiivikassetile ühest mahutist ja edastatakse automaatselt läbivooluküvetile, kõigile neljale rajale.

Iga rada hõivatakse väikeste hõivamispiirkondadena, mida nimetatakse paanideks. Lisateavet vt jaotisest [Läbivooluküveti paanid](#) leheküljel 55.

Reaktiivikasseti ülevaade

Reaktiivikassett on ühekordselt kasutatav kulutarvik koos RFID jälgimisega ja fooliumisse pakendatud mahutitega, mis on klasterdamise ja sekveneerimise reaktiividega eelnevalt täidetud.

Joonis 5 Reaktiivikassett



Reaktiivikassett sisaldab ettevalmistatud teekide laadimiseks mõeldud mahutit. Pärast käituse algust edastatakse teegid automaatselt mahutist läbivooluküveti.

Mitu mahutit on mõeldud automaatseks käitusjärgseks pesemiseks. Pesulahus pumbatakse puhvrikassetist läbi süsteemi selleks määratud mahutitesse ja seejärel kasutatud reaktiivide mahutisse.

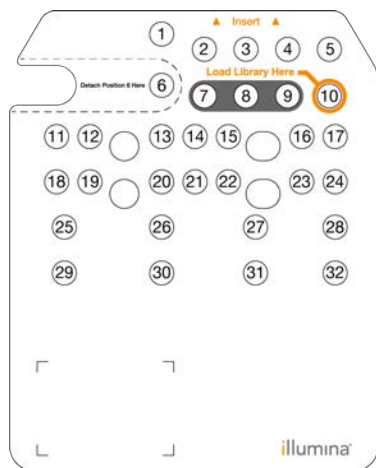


HOIATUS

See reaktiivide komplekt sisaldab potentsiaalselt ohtlikke kemikaale. Sissehingamine, allaneelamine ning kokkupuude naha ja silmadega võivad tekitada kehavigastusi. Kandke isikukaitsevahendeid, sealhulgas kaitseprille, kindaid ja laborikittlit, mis on kokkupuuteohuks sobilikud. Käsitsege kasutatud reaktiive keemiliste jäätmetena ja kõrvaldage need kohalduvate piirkondlike, riiklike ning kohalike seaduste ja määruste alusel. Täiendavat keskkonna-, tervise- ja ohutusteavet vaadake ohutuskaardilt (SDS) veebilehel support.illumina.com/sds.html.

Konkreetse eesmärgiga mahutid

Joonis 6 Nummerdatud mahutid



Asend	Kirjeldus
7, 8 ja 9	Mõeldud valikuliste kohandatud praimerite jaoks
10	Tööriistade laadimine

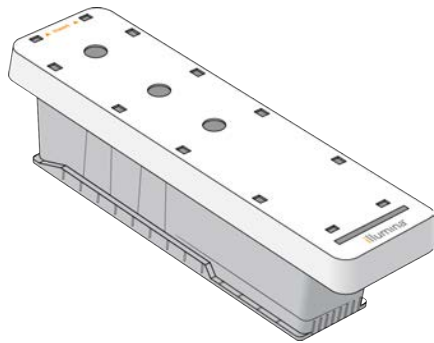
Asendis 6 olev eemaldatav mahuti

Eeltäidetud reaktiivikassett sisaldab asendis nr 6 denatureerimise reaktiivi, mis sisaldab formamiidi. Pärast sekveneerimiskäitust mis tahes kasutamata reaktiivi ohutu kõrvaldamise hõlbustamiseks on asendis nr 6 olev mahuti eemaldatav. Lisateavet vt jaotisest *Kasutatud mahuti asendist nr 6 eemaldamine leheküljel 20*.

Puhvrikasseti ülevaade

Puhvrikassett on ühekordselt kasutatav kulutarvik, mis sisaldab kolme puhvrite ja pesulahusega eeltäidetud mahuti. Puhvrikasseti sisu on piisav ühe läbivooluküveti sekveneerimiseks.

Joonis 7 Puhvrikassett



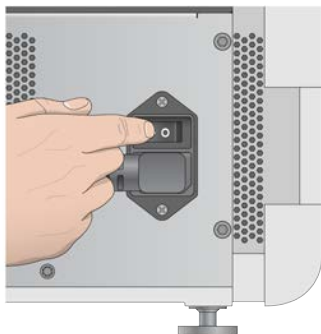
Peatükk 2 Alustamine

Seadme käivitamine	9
Süsteemi sätete kohandamine	10
Kasutaja hangitavad kulutarvikud ja seadmed	11

Seadme käivitamine

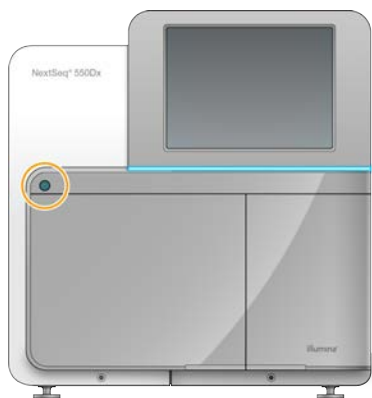
Lülitage toite tumblerüliti asendisse I (sees).

Joonis 8 Seadme taga asuv toitelüliti



- 1 Vajutage reaktiivseksiooni kohal olevat toitenuppu. Toitenupp lülitab seadme toite sisse ja käivitab integreeritud seadme arvuti ja tarkvara.

Joonis 9 Seadme ees asuv toitelüliti



- 2 Oodake, kui operatsioonisüsteem on lõpetanud laadimise. Süsteemi NextSeq juhtimistarkvara (NCS) käivitab ja lähtestab süsteemi automaatselt. Pärast lähtestamisetapi lõpetamist avaneb avakuva.
- 3 Sisestage oma rakenduse Local Run Manager kasutajanimi ja parool. Paroolide kohta teavet vt jaotisest *Kasutaja paroolid*, lk 1. Teavet tarkvaras Local Run Manager konto seadistamise kohta vt jaotisest *Haldussätted ja -ülesanded*, lk 1.
- 4 Valige suvand **Login** (Logi sisse). Avaneb avakuva koos ikoonidega sekvents, Local Run Manager, seadmehaldus ja pesemine.

Seadme režiimi tähistused

Seadme NextSeq 550Dx vaikerežiim on diagnostikarežiim. Järgnev NCS-i kuval näitab seadme režiimi.

Režiim	Avakuva	Värviriba	Olekuikooni suund
Diagnostikarežiim	Tere tulemast seadmesse NextSeqDx	Sinine	Horisontaalne
Uurimisrežiim	Tere tulemast seadmesse NextSeq	Oranž	Vertikaalne

Süsteemi sätete kohandamine

Operatsioonitarkvara hõlmab kohandatavaid süsteemi sätteid seadme tuvastamiseks, eelistuste sisestamiseks, helisäteteks ja väljundkausta asukoha jaoks. Võrgukonfiguratsiooni sätete muutmiseks vt jaotist *Süsteemi sätete konfigureerimine* leheküljel 48.

Kohandamise valikud hõlmavad järgmist:

- ▶ Seadme tuvastamise kohandamine (avatar ja hüüdnimi)
- ▶ Sisestussuvandi ja helitähise seadistamine
- ▶ Käituse seadistussuvandite seadistamine
- ▶ Väljalülitamise suvandid
- ▶ Seadme käivitamise konfigureerimine pärast käituseelset kontrolli
- ▶ Seadme jõudlusandmete Illuminasse üleslaadimise valimine
- ▶ Käituse väljundkausta määramine

Seadme avatari ja hüüdnime kohandamine

- 1 Valige avakuval suvand **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
- 2 Valige suvand **System Customization** (Süsteemi kohandamine).
- 3 Oma seadmele eelistatud pildi määramiseks valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige pildini.
- 4 Sisestage väljale Nick Name (Hüüdnimi) seadme jaoks soovitud nimi.
- 5 Valige nupp **Save** (Salvesta), et salvestada sätted ja minna järgmisele kuvale. Pilt ja nimi ilmuvad igal kuval ülemises vasakus nurgas.

Klaviatuurisuvandi ja helitähise seadistamine

- 1 Valige avakuval suvand **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
- 2 Valige suvand **System Customization** (Süsteemi kohandamine).
- 3 Valige märkeruut **Use on-screen keyboard** (Kasuta ekraaniklaviatuuri), et aktiveerida seadmesse sisestamiseks ekraaniklaviatuur.
- 4 Selleks, et lülitada helitähised järgmiste sündmuste jaoks sisse, valige märkeruut **Play audio** (Esita heli).
 - ▶ Seadme lähtestamisel
 - ▶ Käituse käivitamise järel
 - ▶ Teatud tõrke ilmnemisel
 - ▶ Kui nõutav on kasutaja tegevus
 - ▶ Kui käitus on lõppenud
- 5 Valige nupp **Save** (Salvesta), et salvestada sätted ja minna järgmisele kuvale.

Käituse seadistussuvandite seadistamine

- 1 Valige kuval Manage Instrument (Seadmehaldus) nupp **System Customization** (Süsteemi kohandamine).
- 2 Valige märkeruut **Use Advanced Load Consumables** (Kasuta täpsemat kulutarvikute laadimist), et lubada käituse kõigi kulutarvikute laadimine ühelt kuvalt.
- 3 Valige märkeruut **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Jäta käituseelse kontrolli kinnitus vahele), et alustada pärast edukat automaatset kontrolli automaatselt sekveneerimist.
- 4 Valige sätete salvestamiseks ja kuvalt väljumiseks nupp **Save** (Salvesta).

Automaatse puhastamise suvandi seadistamine

- 1 Valige kuval Manage Instrument (Seadmehaldus) nupp **System Customization** (Süsteemi kohandamine).
- 2 Valige märkeruut **Purge Consumables at End of Run** (Eemalda kulutarvikud käituse lõpus), et automaatselt eemaldada pärast iga käitust reaktiivikassetis olevad kasutamata reaktiivid kasutatud reaktiivide mahutisse.

MÄRKUS. Kulutarvikute eemaldamine lisab töövoole automaatselt aega juurde.

- 3 Valige sätete salvestamiseks ja kuvalt väljumiseks nupp **Save** (Salvesta).

Kasutaja hangitavad kulutarvikud ja seadmed

Seadmega NextSeq 550Dx kasutatakse järgmisi kulutarvikuid ja seadmeid. Järgmisi kulutarvikuid ja seadmeid kasutatakse kulutarvikute ettevalmistamiseks, sekveneerimiseks ja seadme hooldamiseks. Lisateavet lugege *süsteemi NextSeq 550 juhendist*.

Sekveneerimise kulutarvikud

Kulutarvik	Tarnija	Otstarve
Alkoholiga puhastuslapid, 70% isopropüül või 70% etanool	VWR, katalooginr 95041-714 (või sarnane toode) Tavapäraselt laboritarvete tarnijalt	Läbivooluküveti puhastamiseks ja üldotstarbeks
Vähesel määral kiude sisaldavad laborisalvrätid	VWR, kataloogi nr 21905-026 (või sarnane toode)	Läbivooluküveti puhastamiseks ja üldotstarbeks

Hoolduse ja tõrkeotsingu kulutarvikud

Kulutarvik	Tarnija	Otstarve
NaOCl, 5% (naatriumhüpoklorit)	Sigma-Aldrich, katalooginr 239305 (või laborikvaliteediga sarnane toode)	Seadme pesemine käsitsi käitusejärgselt; lahjendatud 0,12%-ni
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalooginr P7949	Seadme pesemine käsitsi; lahjendatud 0,05%-ni

Kulutarvik	Tarnija	Otstarve
Vesi, laborikvaliteediga	Tavapärastel laboritarvete tarnijalt	Seadme pesemine (käsi pesemine)
Õhufilter	Illumina, katalooginr 20022240	Õhu puhastamine, mida seade jahutamiseks võtab

Juhised laborivee jaoks

Seadmega töötamiseks kasutage alati laborikvaliteediga või deioniseeritud vett. Ärge kasutage kraanivett. Kasutage ainult järgmise kvaliteediga vett või selle ekvivalente:

- ▶ Deioniseeritud vesi
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18-megaoomine (MΩ) vesi
- ▶ Milli-Q vesi
- ▶ Super-Q vesi
- ▶ Molekulaarbioloogias kasutatava puhtusastmega vesi

Seadmed

Toode	Päritolu
Sügavkülmik, -25 °C kuni -15 °C, jäävaba	Tavapärastel laboritarvete tarnijalt
Külmkapp, 2 °C kuni 8 °C	Tavapärastel laboritarvete tarnijalt

Peatükk 3 Sekveneerimine

Sissejuhatus	13
Sekveneerimise töövoog	14
Reaktiivikasseti ettevalmistamine	14
Läbivooluküveti ettevalmistamine	15
Teekide ettevalmistamine sekveneerimiseks	15
Sekveneerimiskäituse seadistamine	16
Käituse edenemise jälgimine	22
Automaatne käitusjärgne pesemine	24

Sissejuhatus

Seadmes NextSeq 550Dx sekveneerimiskäituse tegemiseks valmistage ette reaktiivikassett ja läbivooluküvett. Seejärel järgige käituse seadistamiseks ja käivitamiseks tarkvara viipasid. Klatri loomine ja sekveneerimine tehakse seadmes. Pärast käitamist algab automaatselt seadme pesemine, kasutades juba seadmesse laaditud komponente.

Klatri loomine

Klatri moodustamise ajal seotakse üksikud DNA-molekulid läbivooluküveti pinnaga ja neid võimendatakse seejärel klatriite moodustamiseks.

Sekveneerimine

Klatriid hõivatakse, kasutades kahekanalilist sekveneerimise keemiat ja filtri kombinatsioone, mis on igale fluorestsentsmärgistusega nukleotiidile spetsiifilised. Kui paani hõivamine läbivooluküvetis on lõpetatud, hõivatakse järgmine paan. Protsessi korratakse iga sekveneerimistsükli jaoks. Pildianalüüsi järel teeb tarkvara aluse nimetamise, filtreerimise ja kvaliteedi hindamise.

Analüüs

Käivitamisel edastab operatsioonitarkvara automaatselt aluste nimetuse (BCL) failid sekundaaranalüüsiks määratud väljundasukohta.

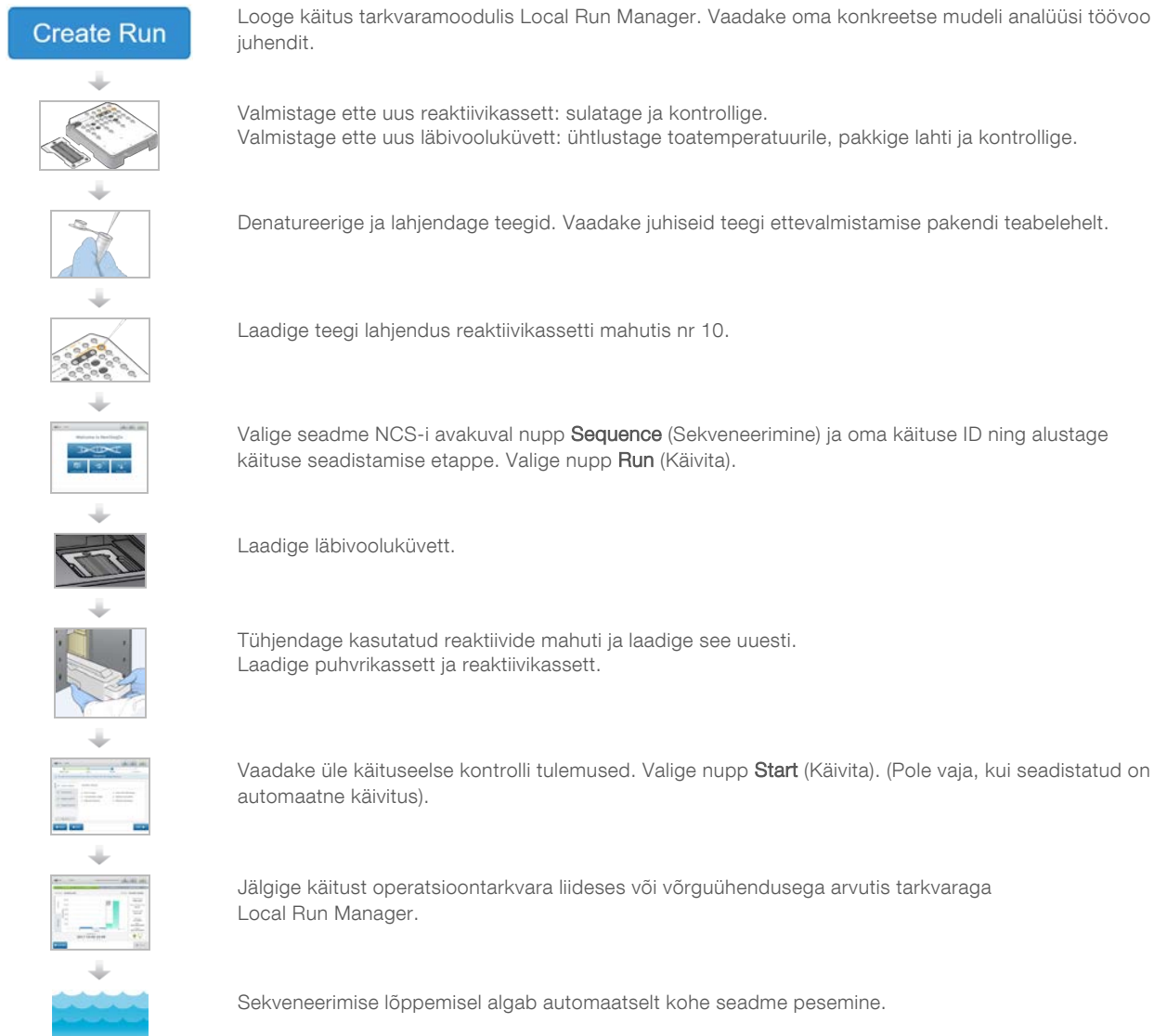
Sekveneerimiskäituse kestus

Sekveneerimiskäituse kestus sõltub tehtavate tsükliite arvust. Käituse maksimaalne pikkus on kummagi lugemi 150 tsükliga (2 × 150) paarisotsaline käitus pluss kuni 8 tsükli 2 indeksi lugemi jaoks.

Tsükliite arv lugemis

Sekveneerimiskäituses lugemis tehtavate tsükliite arv on üks tsükkel rohkem kui analüüsitud tsükliite arv. Näiteks paarisotsaline 150-tsükliiline käitus teeb 151 tsükli (2 × 151) lugemid, mida on kokku 302 tsükliit. Käituse lõpus analüüsitakse 2 × 150 tsükliit. Täiendav tsükkel on vajalik arvutuste faasimiseks ja eelfaasimiseks.

Sekvenerimise töövoog



Reaktiivkasseti ettevalmistamine

Edukaks sekvenerimiseks järgige kindlasti hoolikalt reaktiivkasseti juhiseid.

- 1 Võtke reaktiivkassett $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ kuni $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ hoiuruumist välja.
- 2 Valige reaktiivide sulatamiseks üks järgmistest meetoditest. Ärge pange kassetti üleni vee alla. Kui kassett on sulatud, kuivatage seda järgmise sammuga jätkamist.

Temperatuur	Sulatamise aeg	Stabiilsuspiir
15–30 °C vesivann	60 minutit	Mitte kauem, kui 6 tundi
2–8 °C	7 tundi	Mitte kauem, kui 7 päeva

MÄRKUS. Kui ühes vesivannis sulab korraga rohkem kui üks kassett, sulatage kassette kauem.

- 3 Pöörake kassetti viis korda ümber, et reaktiivid seguneksid.
- 4 Kontrollige kasseti põhja ja veenduge, et reaktiivid oleksid sulanud ja et tekkinud poleks sadet. Veenduge, et positsioonid 29, 30, 31 ja 32 oleksid sulanud, kuna need on kõige suuremad ja nende sulamiseks kulub kõige rohkem aega.
- 5 Õhumullide vähendamiseks koputage õrnalt vastu töölauda. Parimate tulemuste saavutamiseks jätkake kohe proovi laadimise ja käituse seadistamisega.



HOIATUS

See reaktiivide komplekt sisaldab potentsiaalselt ohtlikke kemikaale. Sissehingamine, allaneelamine ning kokkupuude naha ja silmadega võivad tekitada kehavigastusi. Kandke isikukaitsevahendeid, sealhulgas kaitseprille, kindaid ja laborikiltit, mis on kokkupuuteohuks sobilikud. Käsitsege kasutatud reaktiive keemiliste jäätmetena ja kõrvaldage need kohalduvate piirkondlike, riiklike ning kohalike seaduste ja määruste alusel. Täiendavat keskkonna-, tervise- ja ohutusteavet vaadake ohutuskardiit (SDS) veebilehel support.illumina.com/sds.html.

Läbivooluküveti ettevalmistamine

- 1 Võtke läbivooluküveti karp 2 °C kuni 8 °C hoiuruumist välja.
- 2 Eemaldage karbilt fooliumpakend ja pange 30 minutiks toatemperatuurile seisma.

MÄRKUS. Kui fooliumpakend on terve, võib läbivooluküvett jääda toatemperatuurile kuni 12 tunniks. Vältige läbivooluküveti korduvat jahutamist ja soojendamist.

Teekide ettevalmistamine sekveneerimiseks

Denatureerige ja lahjendage teeke laadimismahuni 1,3 ml. Praktikas võib laadimiskontsentratsioon olenevalt teegi ettevalmistamise ja kvantifitseerimise meetoditest erineda. Prooviteekide lahjendus oleneb oligonukleotiidide kogumite kompleksusest. Juhised prooviteegi ette valmistamiseks sekveneerimiseks, sh teegi lahjendamiseks ja liitmiseks, leiate vastava teegi ettevalmistuskomplekti kasutusjuhendi jaotisest. Vajalik on klasteri tiheduse optimeerimine seadmes NextSeq 550Dx.

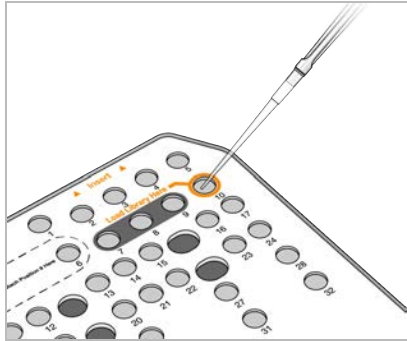
Teekide denatureerimine ja lahjendamine

Denatureerige ja lahjendage oma teegid laadimismahuni 1,3 ml ja laadimiskontsentratsioonini 1,8 pM. Praktikas võib laadimiskontsentratsioon olenevalt teegi ettevalmistamise ja kvantifitseerimise meetoditest erineda. Juhiseid vaadake teegi ettevalmistamise pakendi teabelehel.

Teekide laadimine reaktiivikassetti

- 1 Puhastage ebemevaba salvrätiga fooliumtihend, mis katab mahutit nr 10 sildiga **Load Library Here** (Laadige teek siia).
- 2 Läbistage tihend puhta 1 ml pipeti otsakuga.
- 3 Laadige 1,3 ml valmistatud teeke mahutisse nr 10 sildiga **Load Library Here** (Laadige teek siia). Teekide laadimisel vältige fooliumtihendi katsumist.

Joonis 10 Teekide laadimine



Sekveneerimiskäituse seadistamine

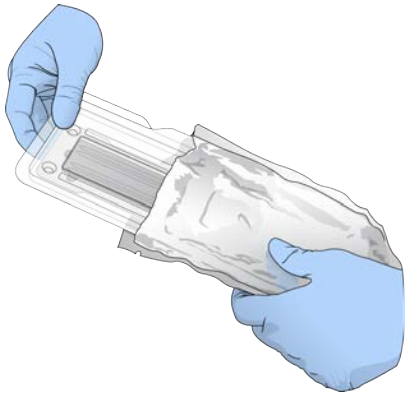
BaseSpace'i sisselogimine

- 1 Sisestage oma BaseSpace'i kasutajanimi ja parool.
- 2 Valige nupp **Next** (Edasi).

Läbivooluküveti laadimine

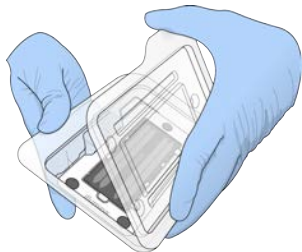
- 1 Eemaldage eelmises käituses kasutatud läbivooluküvett.
- 2 Eemaldage läbivooluküvett fooliumpakendist.

Joonis 11 Fooliumpakendist eemaldamine



- 3 Avage läbipaistev kaanega plastkarp ja võtke läbivooluküvett välja.

Joonis 12 Kaanega pakendist eemaldamine

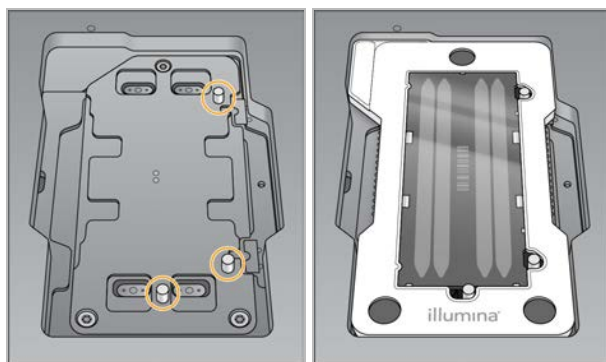


- 4 Puhastage läbivooluküveti klaaspinda ebamevaba alkoholilapiga. Kuivatage klaas ebamevaba laboripaberiga.

MÄRKUS. Veenduge, et läbivooluküveti klaaspind oleks puhas. Vajaduse korral puhastage uuesti.

- 5 Joondage läbivooluküvett üle joondustihvtide. Pange läbivooluküvett alusele.

Joonis 13 Läbivooluküveti laadimine



- 6 Valige nupp **Load** (Laadi).
Uks sulgub automaatselt, ekraanil kuvatakse läbivooluküveti ID ja kontrollitakse andureid.

MÄRKUS. Hoidke käed läbivooluküveti luugist sulgumise ajal eemale, et vältida nende vahelejäämist.

- 7 Valige nupp **Next** (Edasi).

Kasutatud reaktiivide mahuti tühjendamine

- 1 Avage puhvrisektsiooni luuk alumise vasakpoolse nurga all oleva lukuga.
- 2 Eemaldage kasutatud reaktiivide mahuti ja visake sisu vastavalt kehtivatele standarditele ära.

Joonis 14 Kasutatud reaktiivide mahuti eemaldamine



MÄRKUS. Pange mahuti liigutamise ajal oma teine käsi toetamiseks mahuti alla.

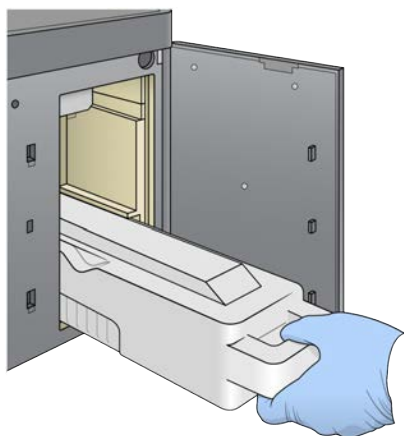


HOIATUS

See reaktiivide komplekt sisaldab potentsiaalselt ohtlikke kemikaale. Sissehingamine, allaneelamine ning kokkupuude naha ja silmadega võivad tekitada kehavigastusi. Kandke isikukaitsevahendeid, sealhulgas kaitseprille, kindaid ja laborikiltit, mis on kokkupuuteohuks sobilikud. Käsitsege kasutatud reaktiive keemiliste jäätmetena ja kõrvaldage need kohalduvate piirkondlike, riiklike ning kohalike seaduste ja määruste alusel. Täiendavat keskkonna-, tervise- ja ohutusteavet vaadake ohutuskaardilt (SDS) veebilehel support.illumina.com/sds.html.

- 3 Libistage tühi kasutatud reaktiivide mahuti puhvrisektsiooni, kuni see peatub. Kostuv klõpsatus annab teada, et mahuti on paigas.

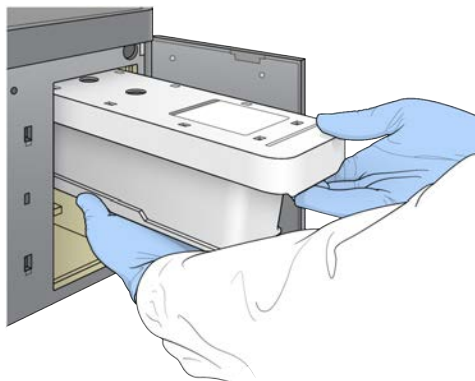
Joonis 15 Tühja reaktiivimahuti laadimine



Puhvrikasseti laadimine

- 1 Eemaldage kasutatud puhvrikassett ülemisest sektsioonist. Puhvrikasseti tõstmiseks ja seejärel tõmbamiseks on vaja jõudu.
- 2 Libistage uus puhvrikassett puhvrisektsiooni, kuni see peatub. Kostuv klõps näitab, et kassett on paigas. Ekraanile ilmub puhvrikasseti ID ja andurit kontrollitakse.

Joonis 16 Puhvrikasseti laadimine



- 3 Sulgege puhvrisektsiooni luuk ja valige suvand **Next** (Järgmine).

Reaktiivikasseti laadimine

- 1 BeadChipi adapter
- 2 Eemaldage kasutatud reaktiivikassett reaktiivisektsioonist. Kõrvaldage kasutamata sisu kohaldatavate standardite kohaselt.



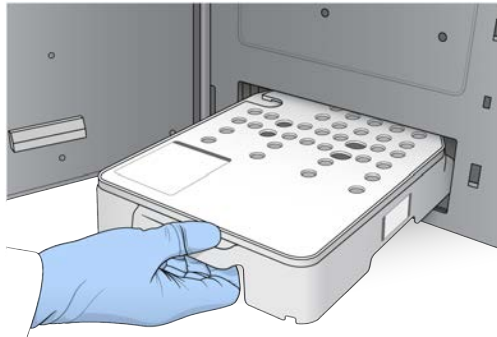
HOIATUS

See reaktiivide komplekt sisaldab potentsiaalselt ohtlikke kemikaale. Sissehingamine, allaneelamine ning kokkupuude naha ja silmadega võivad tekitada kehavigastusi. Kandke isikukaitsevahendeid, sealhulgas kaitseprille, kindaid ja laborikittlit, mis on kokkupuuteohuks sobilikud. Käsitsege kasutatud reaktiive keemiliste jäätmetena ja kõrvaldage need kohalduvate piirkondlike, riiklike ning kohalike seaduste ja määruste alusel. Täiendavat keskkonna-, tervise- ja ohutusteavet vaadake ohutuskaardiit (SDS) veebilehel support.illumina.com/sds.html.

MÄRKUS. Kasutamata reaktiivi ohutu kõrvaldamise hõlbustamiseks on asendis nr 6 olev mahuti eemaldatav. Lisateavet vt jaotisest *Kasutatud mahuti asendist nr 6 eemaldamine* leheküljel 20.

- 3 Libistage reaktiivikassett reaktiivisektsiooni, kuni kassett peatub. Seejärel sulgege reaktiivisektsiooni luuk.

Joonis 17 Reaktiivikasseti laadimine

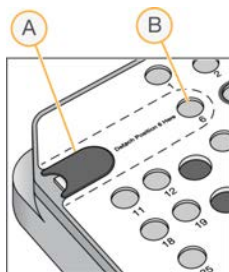


- 4 Valige nupp **Load** (Laadi).
Tarkvara liigutab kassetti automaatselt paika (u 30 sekundit), reaktiivikasseti ID ilmub ekraanile ja andureid kontrollitakse.
- 5 Valige nupp **Next** (Edasi).

Kasutatud mahuti asendist nr 6 eemaldamine

- 1 Pärast **kasutatud** reaktiivikasseti seadme eemaldamist eemaldage asendi nr 6 kõrval olevalt lukult kummist kaitsekate.

Joonis 18 Eemaldatav asend nr 6



- A Kummist kaitsekate
- B Asend nr 6

- 2 Vajutage läbipaistev plastsakk alla ja lükake mahuti väljutamiseks vasakule.
- 3 Kõrvaldage mahuti rakenduvate standardite kohaselt.

Käituse parameetrite määramine

Kuval Run Setup (Käituse seadistus) olevad etapid on olenevalt süsteemi konfiguratsioonist erinevad.

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace või BaseSpace Onsite) – käituse seadistuse kuval loetletakse käitused, mis seadistati BaseSpace'i ettevalmistuse vahekaardi kaudu. Kui soovitud käitust käituse seadistuse kuval ei kuvata, veenduge, et käitus oleks BaseSpace'is sekveneerimiseks märgistatud.
- ▶ **Standalone** (Eraldiseisev) – käituse seadistuse kuval on toodud väljad käituse parameetrite määratlemiseks.


Saadaoleva kaituse valimine (BaseSpace'i konfiguratsioon)

- 1 Valige saadaolevate kaituste loendist kaituse nimi.
Kasutage läbi loendi kerimiseks üles- ja allanooli või sisestage kaituse nimi otsinguväljale.
- 2 Valige nupp **Next** (Edasi).
- 3 Kinnitage kaituse parameetrid.
 - ▶ **Run Name** (Kaituse nimi) – BaseSpace'is määratud kaituse nimi.
 - ▶ **Library ID** (Teegi ID) – BaseSpace'is määratud teegikogumi nimi.
 - ▶ **Recipe** (Moodus) – mooduse nimi, olenevalt kaituses kasutatavast reaktiivikassetist kas **NextSeq High** või **NextSeq Mid**.
 - ▶ **Read Type** (Lugemi tüüp) – üksiklugem või paarisotsaline.
 - ▶ **Read Length** (Lugemi pikkus) – iga lugemi tsüklite arv.
 - ▶ **[Valikuline]** Kohandatud praimerid, kui on kohaldatav.
 - ▶ **Run parameters** (Kaituse parameetrid) – muutke lugemite arvu või tsüklite arvu lugemi kohta.
 - ▶ **Custom primers** (Kohandatud praimerid) – muutke kohandatud praimerite sätteid. Lisateavet lugege *süsteemi NextSeq kohandatud praimerite kasutusjuhendist (dokument nr 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Eemalda selle kaituse kulutarvikud) – muutke sätet kulutarvikute automaatseks eemaldamiseks pärast praegust kaitust.
- 4 Valige nupp **Next** (Edasi).

Kaituse parameetrite sisestamine (eraldiseisev konfiguratsioon)

- 1 Sisestage eelistatav kaituse nimi.
- 2 **[Valikuline]** Sisestage eelistatav teegi ID.
- 3 Valige lugemi tüübiks kas **Single Read** (Üksiklugem) või **Paired End** (Paarisotsaline).
- 4 Sisestage sekveneerimiskaituse iga lugemi tsüklite arv.
 - ▶ **Read 1** (1. lugem) – sisestage väärtus kuni 151 tsükliks.
 - ▶ **Index 1** (1. indeks) – sisestage 1. indeksi (i7) praimeriga jaoks vajalik tsüklite arv.
 - ▶ **Index 2** (2. indeks) – sisestage 2. indeksi (i5) praimeriga jaoks vajalik tsüklite arv.
 - ▶ **Read 2** (2. lugem) – sisestage väärtus kuni 151 tsükliks. See väärtus on tavaliselt sama tsüklite arv nagu 1. lugemi puhul.

Juhtimistarkvara kinnitab teie sisestused järgmiste kriteeriumide alusel:

 - ▶ Tsüklite koguarv ei ületa tsüklite lubatud maksimaalset arvu
 - ▶ 1. lugemi tsüklite arv on suurem kui malli loomisega kasutatud 5 tsükliks
 - ▶ Indeksi lugemi tsüklite arv ei ületa 1. lugemi ja 2. lugemi tsüklite arvu
- 5 **[Valikuline]** Kui kasutate kohandatud praimereid, valige kasutatavate praimerite märkeruut. Lisateavet lugege *süsteemi NextSeq kohandatud praimerite kasutusjuhendist (dokument nr 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** (1. lugem) – 1. lugemi kohandatud praimer.
 - ▶ **Index 1** (1. indeks) – 1. indeksi kohandatud praimer.
 - ▶ **Index 2** (2. indeks) – 2. indeksi kohandatud praimer.
 - ▶ **Read 2** (2. lugem) – 2. lugemi kohandatud praimer.
- 6 **[Valikuline]** Valige kaituse parameetrite muutmiseks nupp **Advanced Settings**  (Täpsemad sätted).
 - ▶ Valige mooduste ripploendist moodus. Loetletakse vaid ühilduvad moodused.

- ▶ **Output folder location** (Väljundkausta asukoht) – muutke praeguse käituse väljundkausta asukohta. Võrguasukohta navigeerimiseks valige nupp **Browse** (Sirvi).
- ▶ **Included file** (Kaasatud fail) – valige väljundkausta kaasatavad failid, mis võivad edasise analüüsi vajaduse korral olla kasulikud. Näiteks manifestifailid ja prooviloendid.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Eemalda selle käituse kulutarvikud) – muutke sätet kulutarvikute automaatseks eemaldamiseks pärast praegust käitust.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Kasuta selle käituse jälgimist) – muutke sätet käituse jälgimiseks BaseSpace'is.

7 Valige nupp **Next** (Edasi).

Käituseelse kontrolli ülevaatamine

Tarkvara teeb automaatse süsteemi käituseelse kontrolli. Kontrolli ajal ilmuvad ekraanile järgmised tähised:

- ▶ **Hall linnuke** 🚫 – kontrolli pole veel tehtud;
- ▶ **Edenemise ikoon** 🔄 – kontroll on pooleli.
- ▶ **Roheline linnuke** ✅ – kontroll on läbitud.
- ▶ **Punane** ❌ – kontrolli ei läbinud. Kõik üksused, mis kontrolli ei läbinud, nõuavad jätkamiseks toimingute tegemist. Vt jaotist *Automaatse kontrolli tõrgete lahendamine* leheküljel 42.

Poolelioleva automaatse käituseelse kontrolli peatamiseks valige nupp **Cancel** (Tühista). Kontrolli taaskäivitamiseks valige nupp **Retry** (Proovi uuesti). Kontroll jätkab esimese lõpetamata või nurjunud kontrolli juurest.

Kategoorias iga individuaalse kontrolli tulemuste vaatamiseks valige vahekaart **Category** (Kategooria).

Kui seade ei ole käituse automaatseks käivitamiseks konfigureeritud, käivitage käitus pärast automaatse käituseelse kontrolli lõpetamist.

Käituse alustamine

Kui automaatne eelkäituse kontroll on lõppenud, valige käsk **Start** (Alusta). Sekveneerimiskäitus algab.

Sellest, kuidas konfigureerida süsteemi käivitama käitust automaatselt pärast edukat kontrolli, vt jaotist *Käituse seadistussuvandite seadistamine* leheküljel 11.



ETTEVAATUST

Veenduge, et jääksite Windowsisse sisselogituks. Kui logite sekveneerimiskäituse ajal Windowsi süsteemist välja, käitus peatub.

MÄRKUS. Reaktiivid ei tohi olla seadmes jõudeolekus kauem kui 24 tundi.

Käituse edenemise jälgimine

1 Jälgige mõõdikute ekraanile ilmumise ajal käituse edenemist, tõhusust ja kvaliteediskoore









MÄRKUS. Pärast avalehe nupu valimist ei ole käituse mõõdikute vaatamiseks võimalik tagasi tulla. Kuid käituse mõõdikud on juurdepääsetavad BaseSpace'is või vaadatavad eraldiseisvast arvutist, kasutades rakendust Sequencing Analysis Viewer (SAV).

Käituse moodsikute tsüklid

Käituse moodsikud ilmuvad käituses erinevates punktides.

- ▶ Klasteri loomise etapis ühtegi moodsikut ei ilmu.
- ▶ Esimesed viis tsüklit on reserveeritud malli loomise jaoks.
- ▶ Käituse moodsikud ilmuvad pärast 25. tsüklit, sh klasteri tihedus, klasteri läbipääsufilter, saagis ja kvaliteediskoorid.

Andmete edastamine

Olek	Tarkvara Local Run Manager	Käituse väljundkaust
Ühendatud		
Ühendatud ja edastab andmeid		
Ühendus katkestatud		
Keelatud		

Kui andmete edastamine käituse ajal katkeb, talletatakse andmed ajutiselt seadme arvutisse. Kui ühendus taastatakse, taastub andmete edastamine automaatselt. Kui ühendust ei taasatata enne käituse lõppemist, edastage andmed seadme arvutist käsitsi enne järgmise käituse algust.

Universaalne kopeerimisteenus

NextSeq 550Dx hõlmab universaalset kopeerimisteenust. RTA2 taotleb teenuselt failide kopeerimist lähteasukohast sihtasukohta ning teenus töötleb kopeerimistaotlusi nende laekumise järjekorras. Erandi korral järjestatakse fail kopeerimiseks uuesti vastavalt koopia järjestuses olevatele failide arvule.

Sequencing Analysis Viewer (Sekvenerimisanalüüsi vaatur)

Tarkvara Sequencing Analysis Viewer esitab käituse ajal loodud sekvenerimise moodsikud. Moodsikud esitatakse diagrammide, graafikute ja tabelitena RTA loodud ja InterOp-failidesse kirjutatud teabe põhjal. Moodsikuid värskendatakse käituse edenedes. Värskendatud moodsikute vaatamiseks valige käituse käigus mistahes ajal nupp **Refresh** (Värskenda). Lisateavet lugege *Sequencing Analysis Vieweri kasutusjuhendist (osa nr 15020619)*.

Sequencing Analysis Viewer on kaasas seadme arvutisse installitava tarkvaraga. Võite tarkvara Sequencing Analysis Viewer installida ka teise arvutisse, mis on ühendatud seadmega samasse võrku, et jälgida moodsikuid kaugasukohast.

Automaatne käitusjärgne pesemine

Sekveneerimiskäituse lõppedes käivitab tarkvara automaatse käitusjärgse pesemise, kasutades puhvrikassetis sisalduvat pesulahust ja reaktiivikassetis sisalduvat naatriumhüpokloriiti.

Automaatne käitusjärgne pesu kestab umbes 90 minutit. Kui pesemine on lõppenud, muutub avalehe nupp aktiivseks. Sekveneerimise tulemused jäävad pesemise ajal ekraanil nähtavaks.

Pärast pesemist

Pärast pesemist jäävad pipetiotsakud alumisse asendisse, et ennetada õhu süsteemi sisenemist. Jätke kassetid kuni järgmise käituseni paigale.

Peatükk 4 Skannimine

Sissejuhatus	25
Skannimise töövoog	26
DMAP-i kausta allalaadimine	26
BeadChipi laadimine adapterisse	27
Skannimise seadistamine	28
Skannimise edenemise jälgimine	30

Sissejuhatus

Seadmes NextSeq 550Dx skannimiseks vajate järgmisi kaituse komponente:

- ▶ Hübridiseeritud ja värvitud BeadChip
- ▶ Korduskasutatav BeadChipi adapter
- ▶ Decode Mapi (DMAP) failid kasutatava BeadChipi jaoks
- ▶ Manifestifail kasutatava BeadChipi tüübi jaoks
- ▶ Klastrifail kasutatava BeadChipi tüübi jaoks

Skannimise ajal luuakse väljundfailid ja pannakse need määratud väljundkausta edastamiseks järjekorda.

Tehke analüüs tarkvaraga BlueFuse Multi, mille jaoks peavad skannimisandmed olema saadaval genotüübi määramise (GTC) failivormingus. Vaikimisi loob seade NextSeq 550Dx normaliseeritud andmed ja seotud genotüübi määramised GTC-failivormingus. Valikuliselt võite seadme konfigureerida looma täiendavaid intensiivsuseandmete (IDAT) faile. Lisateavet lugege jaotisest *BeadChipi skannimise konfiguratsioon* leheküljel 50.

Decode File Client

DMAP-i kaust sisaldab teavet, mis võimaldab tuvastada kerakeste asukohad BeadChipil ja kvantifitseerida iga kerakesega seotud signaali. DMAP-i kaust on igale BeadChipi võotkoodile ainulaadne.

Uutilit Decode File Client võimaldab DMAP-i kaustu alla laadida otse Illumina serveritest, kasutades standardset HTTP protokollit.

Juurdepääsuks utiliidile Decode File Client minge [Decode File Clienti toelehele](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) Illumina veebisaidil (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Installige Decode File Client arvutisse, millel on juurdepääs DMAP-i kausta võrguasukohale.

Lisateavet lugege jaotisest *DMAP-i kausta allalaadimine* leheküljel 26.

Manifesti- ja klastrifailid

Iga BeadChipi korral vajab tarkvara juurdepääsu manifesti- ja klastrifailile. Iga manifesti- ja klastrifail on BeadChipi tüübile ainulaadne. Veenduge, et kasutaksite klastrifaile, mille nimes on NS550. Need failid ühilduvad NextSeq 550Dx-i süsteemiga.

- ▶ **Manifestifail** – manifestifailid kirjeldavad SNP või sondi sisu BeadChipil. Manifestifailid on *.bpm-failivormingus.
- ▶ **Klastrifailid** – klastrifailid kirjeldavad klastrite asukohti Illumina genotüüpimismassiivil, ja neid kasutatakse andmete analüüsimisel genotüübi määramiseks. Klastrifailid on *.egt-failivormingus.

Nende failide asukoht määratakse BeadChipi skannimise konfiguratsiooni kuval. Valige NCS-i avakuval suvand **Manage Instrument** (Seadmehaldus), **System Configuration** (Süsteemi konfiguratsioon) ja seejärel **BeadChip Scan Configuration** (BeadChipi skannimise konfiguratsioon).

Süsteemi NextSeq 550Dx seadme paigaldamisel laadib Illumina esindaja need failid alla ja määrab juhtimistarkvaras nende tee. Neid faile ei ole vaja muuta, välja arvatud siis, kui need lähevad kaduma või saadaval on uus versioon. Lisateavet lugege jaotisest *Manifestifailide ja klastrifailide asendamine* leheküljel 47.

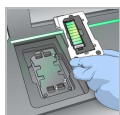
Skannimise töövoog

DMAP

Laadige alla DMAP-i teave ja salvestage see määratud DMAP-i kausta asukohta.



Laadige BeadChip BeadChipi adapterisse.



Laadige BeadChipi adapter seadmesse.



Määrake skannimise parameetrid: DMAP-i kausta asukoht ja väljundi asukoht.



Vaadake üle automaatse kontrolli tulemused.
Valige nupp **Start** (Käivita).



Jälgige skannimist juhtimistarkvara liideses.

DMAP-i kausta allalaadimine

DMAP-i kaustale võite utiliidiga Decode File Client juurde pääseda konto või BeadChipi (vaikevaade) järgi.

Kontoga juurdepääs DMAP-i kaustale

- 1 Valige utiliiidi Decode File Client põhivahekaardilt allalaadimise suvand.
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ All BeadChips not yet downloaded (Kõik veel alla laadimata BeadChipid)
 - ▶ All BeadChips (Kõik BeadChipid)
 - ▶ BeadChips by Purchase Order (BeadChipid ostutellimuse järgi)
 - ▶ BeadChips by barcode (BeadChipid võotkoodi järgi)
- 2 Sisestage nõutud teave.
- 3 Leidke DMAP-i kaust, mida soovite alla laadida.
- 4 Veenduge, et allalaadimise sihtkohas oleks piisavalt vaba ruumi.
- 5 Alustage allalaadimist. Vaadake allalaadimise olekut vahekaardil Download Status and Log (Allalaadimise olek ja logi).

- 6 Salvstage DMAP-i kaust määratud DMAP-i kausta asukohta.

BeadChipiga juurdepääs DMAP-i kaustale

- 1 Tuvastage BeadChipid, valides loetletud võimalustest kaks võimalust:
 - ▶ BeadChipi vöötкод
 - ▶ BeadChipi karbi ID
 - ▶ Ostutellimuse number
 - ▶ Müügitellimuse number
- 2 Leidke DMAP-i kaust, mida soovite alla laadida.
- 3 Veenduge, et allalaadimise sihtkohas oleks piisavalt vaba ruumi.
- 4 Alustage allalaadimist. Vaadake allalaadimise olekut vahekaardil Download Status and Log (Allalaadimise olek ja logi).
- 5 Salvstage DMAP-i kaust määratud DMAP-i kausta asukohta.

BeadChipi laadimine adapterisse

- 1 Vajutage adapteri kinnitusklamber alla. Klamber kaldub avanedes veidi tagasi.
- 2 Hoidke BeadChipi servadest, paigutage BeadChipi vöötкод kinnitusklambri juurde ja asetage BeadChip adapteri süvendisse.

Joonis 19 BeadChipi laadimine adapterisse



- 3 Veenduge et BeadChip asetuks adapteri süvendisse. Kasutage selleks BeadChipi kummalgi küljel olevaid avasid.

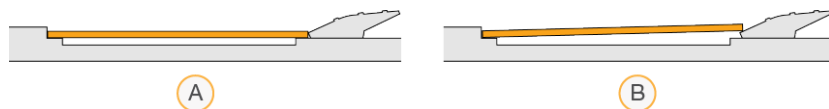
Joonis 20 BeadChipi paigaldamine ja kinnitamine



- 4 BeadChipi kinnitamiseks vabastage ettevaatlikult kinnitusklamber.

- 5 Vaadake BeadChipi küljelt veendumaks, kas BeadChip paikneb adapteris ühetasaselt. Vajadusel muutke BeadChipi asendit.

Joonis 21 BeadChipi asendi kontrollimine



- A Õige asend – BeadChip paikneb klambri vabastamisel adapteris ühetasaselt.
B Vale asend – BeadChip ei ole klambri vabastamisel ühetasaselt.

Skannimise seadistamine

- 1 Valige avakuval nupp **Experiment** (Katse) ja seejärel nupp **Scan** (Skanni). Käsk Scan (Skanni) avab hõivamiseksiooni luugi, vabastab eelmise käituse kulutarvikud (kui need on olemas) ja avab rea skannimise seadistuskavasid. Lühiajaline viivitus on tavapärane.

Sekvenerimise kulutarvikute mahalaadimine

Kui skannimise seadistamisel on seadmes kasutatud sekvenerimise kulutarvikud, palub tarkvara teil reaktiivikasseti ja puhvrikasseti enne järgmise etapiga jätkamist maha laadida.

- 1 Vastava viiba kuvamisel eemaldage eelmise sekvenerimiskäituse kasutatud sekvenerimise kulutarvikud.
 - a Eemaldage reaktiivikassett reaktiiviseksioonist. Kõrvaldage kasutamata sisu kohaldatavate standardite kohaselt.
 - b Eemaldage kasutatud puhvrikassett puhvriseksioonist.



HOIATUS

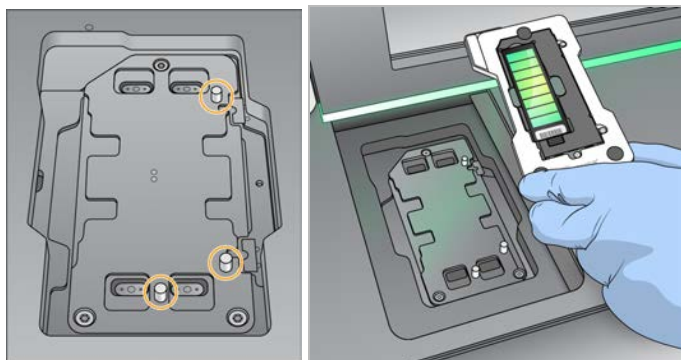
See reaktiivide komplekt sisaldab potentsiaalselt ohtlikke kemikaale. Sissehingamine, allaneelamine ning kokkupuude naha ja silmadega võivad tekitada kehavigastusi. Kandke isikukaitsevahendeid, sealhulgas kaitseprille, kindaid ja laborikiltit, mis on kokkupuuteohuks sobilikud. Käsitsege kasutatud reaktiive keemiliste jäätmetena ja kõrvaldage need kohalduvate piirkondlike, riiklike ning kohalike seaduste ja määruste alusel. Täiendavat keskkonna-, tervise- ja ohutusteavet vaadake ohutuskardilt (SDS) veebilehel support.illumina.com/sds.html.

- 2 Eemaldage hõivamiseksioonist läbivooluküvett.
- 3 Sulgege reaktiiviseksiooni ja puhvriseksiooni luuk.

BeadChipi adapteri laadimine

- 1 Kasutage BeadChipi adapteri alusele paigutamiseks joondustihvte.

Joonis 22 BeadChipi adapteri laadimine



- 2 Valige nupp **Load** (Laadi).
Luuk sulgub automaatselt, ekraanil kuvatakse BeadChipi ID ja kontrollitakse andureid. Lühiajaline viivitus on tavapärane. Kui BeadChipi võtkekoodi ei saa lugeda, kuvatakse dialoogiaken, mis võimaldab teil võtkekoodi käsitsi sisestada. Lugege jaotist *Tarkvara ei saa BeadChipi võtkekoodi lugeda* leheküljel 46.
- 3 Valige nupp **Next** (Edasi).

Skannimise seadistamine

- 1 Kinnitage kuval Scan Setup (Skannimise seadistus) järgmine teave:
 - ▶ **Barcode** (Võtkekood) – tarkvara loeb BeadChipi laadimisel BeadChipi võtkekoodi. Kui võtkekood sisestati käsitsi, kuvatakse edasiste muudatuste tegemiseks redigeerimisnupp.
 - ▶ **Type** (Tüüp) – BeadChipi tüübi väli täidetakse BeadChipi võtkekoodi põhjal automaatselt.
 - ▶ **DMAP Location** (DMAP-i asukoht) – DMAP-i kausta asukoht määratakse kuval BeadChip Scan Configuration (BeadChipi skannimise konfiguratsioon). Asukoha muutmiseks ainult praeguse skannimise jaoks valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige õige asukohani.
 - ▶ **Output Location** (Väljundi asukoht) – väljundi asukoht määratakse kuval BeadChip Scan Configuration (BeadChipi skannimise konfiguratsioon). Asukoha muutmiseks ainult praeguse skannimise jaoks valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige eelistatud asukohani.
- 2 Valige nupp **Next** (Edasi).

Käituseelse kontrolli ülevaatamine

Tarkvara teeb automaatse süsteemi käituseelse kontrolli. Kontrolli ajal ilmuvad ekraanile järgmised tähised:

- ▶ **Hall linnuke** 🚫 – kontrolli pole veel tehtud;
- ▶ **Edenemise ikoon** ⚙️ – kontroll on pooleli.
- ▶ **Roheline linnuke** ✅ – kontroll on läbitud.
- ▶ **Punane** ❌ – kontrolli ei läbinud. Kõik üksused, mis kontrolli ei läbinud, nõuavad jätkamiseks toimingute tegemist. Vt jaotist *Automaatse kontrolli tõrgete lahendamine* leheküljel 42.

Polelioleva automaatse käituseelse kontrolli peatamiseks valige nupp **Cancel** (Tühista). Kontrolli taaskäivitamiseks valige nupp **Retry** (Proovi uuesti). Kontroll jätkab esimese lõpetamata või nurjunud kontrolli juurest.

Kategoorias iga individuaalse kontrolli tulemuste vaatamiseks valige vahekaart Category (Kategooria).

Kui seade ei ole käituse automaatseks käivitamiseks konfigureeritud, käivitage käitus pärast automaatse käituseelse kontrolli lõpetamist.

Skannimise käivitamine

Kui automaatne kontroll on lõppenud, valige nupp **Start** (Käivita). Skannimine algab.

Sellest, kuidas konfigureerida süsteemi käivitama automaatselt skannimist pärast edukat kontrolli, vt jaotist *Käituse seadistussuvandite seadistamine* leheküljel 11.

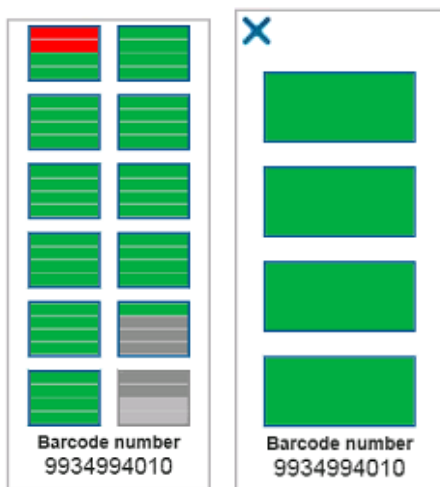
Skannimise edenemise jälgimine

- 1 Jälgige BeadChipi pildi järgi skannimise edenemist. Iga pildil olev värv näitab skannimise olekut.
 - ▶ **Helehall** – skannimata.
 - ▶ **Tumehall** – skannitud, kuid registreerimata.
 - ▶ **Roheline** – edukalt skannitud ja registreeritud.
 - ▶ **Punane** – skannimine ja registreerimine nurjus.

Kui registreerimine nurjub, võite nurjunud jaotisi sisaldavaid proove uuesti skannida. Lugege jaotist *BeadChipi skannimise tõrge* leheküljel 46.

- 2 Valige BeadChipi pilt, et lülituda ümber täisvaate ja valitud proovi üksikasjaliku vaate vahel.
 - ▶ Täisvaade näitab BeadChipil olevaid proove ja iga proovi jaotisi.
 - ▶ Üksikasjalik vaade näitab valitud proovi igat jaotist.

Joonis 23 BeadChipi pilt: täisvaade ja üksikasjalik vaade



MÄRKUS. Skannimise lõpetamine on lõplik. Kui lõpetate skannimise enne selle lõpulejõudmist, siis skannimisandmeid *ei* salvestata.

Andmete edastamine

Kui skannimine jõuab lõpule, pannakse andmed skannimise väljundkausta edastamiseks järjekorda. Andmed kirjutatakse ajutiselt seadme arvutisse. Ajutine kaust kustutatakse seadme arvutist automaatselt pärast järgneva skannimise alustamist.

Andmete edastamiseks vajalik aeg oleneb teie võrguühendusest. Enne järgneva skannimise alustamist veenduge, et andmed oleksid väljundkausta kirjutatud. Kontrollimiseks veenduge, et vöötkoodikaustas oleksid GTC-failid. Lisateabe saamiseks lugege jaotist *Skannimise väljundkaustade struktuur* leheküljel 59.

Kui ühendus katkeb, siis jätkub andmete edastamine ühenduse taastumisel automaatselt. Igal failil on pärast väljundkausta edastamiseks järjekorda panemist 1-tunnine taimer. Kui taimer jõuab enne edastamise lõppu nulli või seade taaskäivitatakse, siis ei kirjutata andmeid väljundkausta.

Peatükk 5 Hooldus

Sissejuhatus	33
Käsitsi pesemine	33
Õhufiltri asendamine	36
Tarkvaravärskendused	37
Algkäivitamise ja väljalülitamise valikud	39

Sissejuhatus

Hooldustoimingud hõlmavad seadme käsitsi pesemist ja õhufiltri asendamist. Samuti kirjeldatakse seadme väljalülitamise ja algladimise valikuid.

- ▶ **Seadme pesemised** – automaatne käitusjärgne pesemine pärast iga sekveneerimiskäitust säilitab seadme jõudluse. Samas on perioodiliselt teatud tingimustes nõutav käsitsi pesemine. Vt jaotist *Käsitsi pesemine* leheküljel 33.
- ▶ **Õhufiltri asendamine** – regulaarne õhufiltri asendamine tagab õhu õige voolamise läbi seadme.

Ennetav hooldus

Illumina soovitab kavandada igal aastal ennetava hoolduse. Kui teil pole hoolduslepingut, võtke ühendust oma piirkonna kontohalduriga või Illumina tehnilise toega, et kokku leppida tasuline ennetav hooldusteenus.

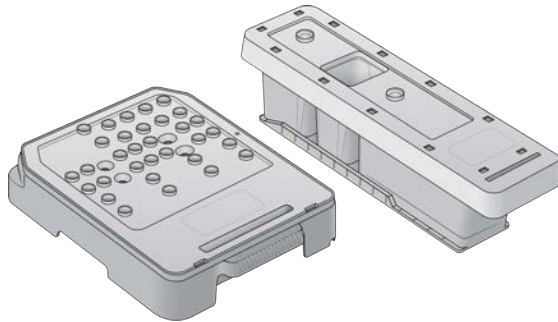
Käsitsi pesemine

Käsitsi pesemised käivitatakse avakuvalt. Pesemise valikud hõlmavad kiirpesemist ja käsitsi käitusjärgset pesemist.

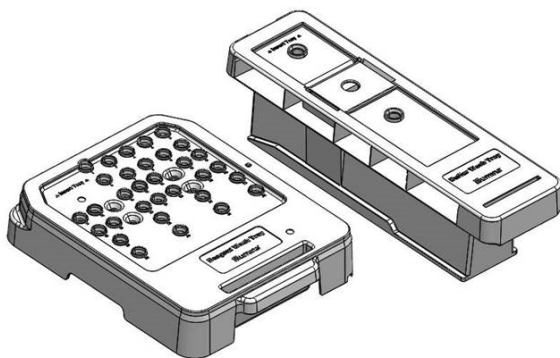
Pesemise tüübid	Kirjeldus
Kiirpesu Kestus: 20 minutit	Loputab süsteemi kasutaja hangitava laborikvaliteediga vee ja Tween 20 pesulahusega (puhvri pesukassett). <ul style="list-style-type: none">• Iga 14 päeva tagant on nõutav, et seade koos paigaldatud reaktiivikasseti ja puhvrikassetiga oleks jõudeolekus.• Iga 7 päeva tagant on nõutav, et seade oleks kuiv (koos eemaldatud reaktiivikasseti ja puhvrikassetiga).
Käsitsi käitusjärgne pesemine Kestus: 90 minutit	Loputab süsteemi kasutaja hangitava laborikvaliteediga vee ja Tween 20 pesulahusega (puhvri pesukassett) ning 0,12% naatriumhüpokloritiga (reaktiivi pesukassett). Nõutav, kui automaatset käitusjärgset pesemist ei toimunud.

Käsitsi pesemiseks on vajalikud seadmega kaasas olevad reaktiivi pesukassett ja puhvri pesukassett ning kasutatud läbivooluküvett. Kasutatud läbivooluküvetti saab kasutada seadme pesemiseks kuni 20 korda.

Joonis 24 Originaaltüüpi reaktiivi pesukassett ja puhvri pesukassett.



Joonis 25 Uut tüüpi reaktiivi pesukassett ja puhvri pesukassett.



Käsitsi käitusjärgseks pesemiseks ettevalmistamine

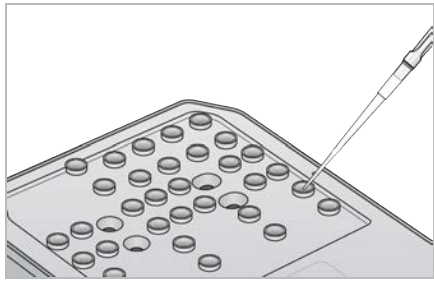
Tehke ettevalmistusi kas käsitsi käitusjärgseks pesemiseks, nagu allpool kirjeldatud, või valmistage ette kiirpesuks (järgmine jaotis). Kui plaanite teha käsitsi käitusjärgse pesu, jätke kiirpesu jaotis vahele ja jätkake jaotisega *Kasutatud läbivooluküveti ja pesukassettide laadimine* leheküljel 35.

Kasutaja hangitavad kulutarvikud	Kogus ja kirjeldus
NaOCl	1 ml, lahjendatud 0,12%-ni Laaditakse reaktiivi pesukassetti (asend nr 28)
100% Tween 20 Laborikvaliteediga vesi	Kasutatakse 125 ml 0,05% Tween 20 pesulahuse valmistamiseks Laaditakse puhvri pesukassetti (keskmine mahuti)

MÄRKUS. Kasutage alati värsket NaOCl lahust, mis on valmistatud viimase **24 tunni** jooksul. Kui valmistate suurema koguse kui 1 ml, hoidke ülejäänud lahust temperatuuril 2 °C kuni 8 °C järgmise 24 tunni jooksul kasutamiseks. Vastasel juhul visake ülejäänud NaOCl lahus ära.

- Ühendage mikrotsentrifuugi katsutis järgmised mahud, et valmistada 1 ml 0,12% NaOCl:
 - ▶ 5% NaOCl (24 µl)
 - ▶ Laborikvaliteediga vesi (976 µl)
- Pöörake segamiseks katsutit.
- Lisage 1 ml 0,12% NaOCl reaktiivi pesukassetti. Õige mahuti on võrdne eeltäidetud kasseti asendiga nr 28.

Joonis 26 NaOCl laadimine



4. Kombineerige järgmised mahud, et saada 0,05% Tween 20 pesulahus.
 - Originaaltüüpi puhvri pesukassett
 - ▶ 100% Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Laborikvaliteediga vesi (125 ml)
 - ▶ Lisage 125 ml pesulahust puhvri pesukasseti keskmisesse mahutisse.
 - Uut tüüpi puhvri pesukassett
 - ▶ 100% Tween 20 (75 µl)
 - ▶ Laborikvaliteediga vesi (150 ml)
 - ▶ Lisage 150 ml pesulahust puhvri pesukasseti keskmisesse mahutisse.
5. Valige suvand **Perform Wash** (Pesemine) ja valige seejärel suvand **Manual Post-Run Wash** (Käsitsi käitusjärgne pesu).

Kiirpesuks ettevalmistamine

Saate teha allpool kirjeldatud viisil kiirpesuks ettevalmistusi alternatiivina jaotises *Käsitsi käitusjärgseks pesemiseks ettevalmistamine* leheküljel 34 kirjeldatule.

Kasutaja hangitavad kulutarvikud	Kogus ja kirjeldus
100% Tween 20 Laborikvaliteediga vesi	Kasutatakse 40 ml 0,05% Tween 20 pesulahuse valmistamiseks Laaditakse puhvri pesukassetti (keskmine mahuti)

1. Kombineerige järgmised mahud, et saada 0,05% Tween 20 pesulahus.
 - ▶ 100% Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Laborikvaliteediga vesi (40 ml)
2. Lisage 40 ml pesulahust puhvri pesukasseti keskmisesse mahutisse.
3. Valige suvand **Perform Wash** (Pesemine) ja valige seejärel suvand **Quick Wash** (Kiirpesu)

Kasutatud läbivooluküveti ja pesukassettide laadimine

1. Kui kasutatavat läbivooluküveti pole, laadige kasutatud läbivooluküvett. Valige suvand **Load** (Laadi) ja valige seejärel **Next** (Järgmine).

- 2 Eemaldage kasutatud reaktiivide mahuti ja visake sisu vastavalt kehtivatele standarditele ära.



HOIATUS

See reaktiivide komplekt sisaldab potentsiaalselt ohtlikke kemikaale. Sissehingamine, allaneelamine ning kokkupuude naha ja silmadega võivad tekitada kehavigastusi. Kandke isikukaitsevahendeid, sealhulgas kaitseprille, kindaid ja laborikitlit, mis on kokkupuuteohuks sobilikud. Käsitsege kasutatud reaktiive keemiliste jäätmetena ja kõrvaldage need kohalduvate piirkondlike, riiklike ning kohalike seaduste ja määruste alusel. Täiendavat keskkonna-, tervise- ja ohutusteavet vaadake ohutuskaardilt (SDS) veebilehel support.illumina.com/sds.html.

- 3 Libistage tühi kasutatud reaktiivide mahuti puhvrisektsiooni, kuni see peatub.
- 4 Eemaldage selle olemasolul eelmise käituse kasutatud puhvrikassett.
- 5 Laadige pesuvahendit sisaldav puhvri pesukassett.
- 6 Eemaldage selle olemasolul eelmise käituse kasutatud reaktiivikassett.
- 7 Laadige reaktiivi pesukassett.
- 8 Valige nupp **Next** (Edasi). Pesemiseelne kontroll algab automaatselt.

Pesemise alustamine

- 1 Valige nupp **Start** (Käivita).
- 2 Kui pesemine on lõppenud, valige suvand **Home** (Kodu).

Pärast pesemist

Pärast pesemist jäävad pipetiotsakud alumisse asendisse, et ennetada õhu süsteemi sisenemist. Jätke kassetid kuni järgmise käituseni paigale.

Õhufiltri asendamine

Uuel süsteemil on kolm varuõhufiltrit. Neid tuleb alles hoida ja kasutada siis, kui seade kuvab viiba filtri vahetamise kohta.

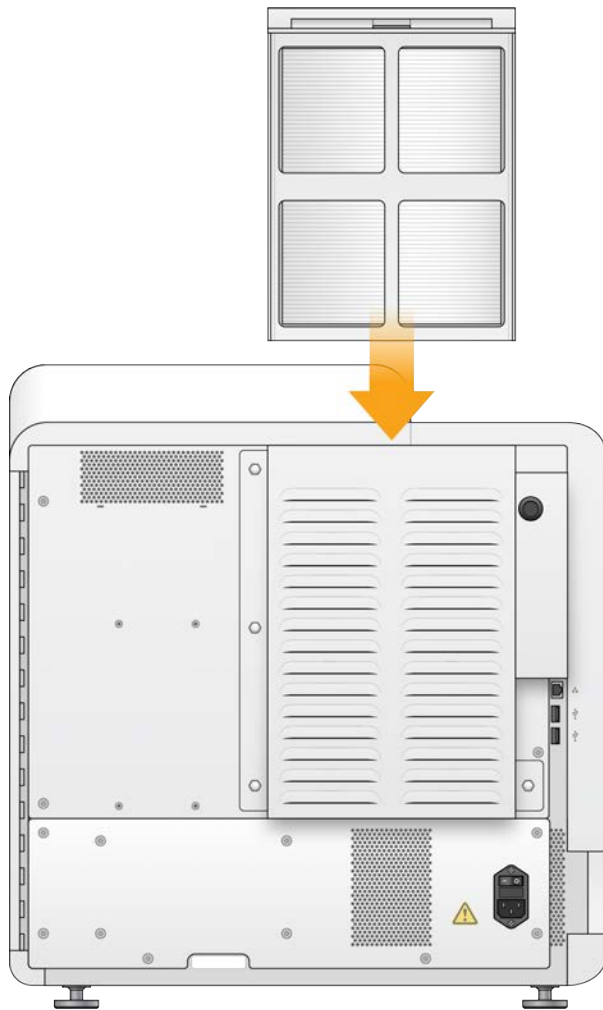
Õhufilter tagab õhuvoolu läbi seadme. Tarkvara kuvab õhufiltri vahetamise teatise iga 90 päeva tagant. Viiba kuvamisel valige suvand **Remind in 1 day** (Tuleta 1 päeva pärast meelde) või järgige järgmist toimingut ja valige **Filter Changed** (Filter vahetatud). 90-päevane mahaloendus lähtestatakse valiku **Filter Changed** (Filter vahetatud) tegemise järel.

- 1 Eemaldage uus õhufilter pakendist ja kirjutage selle paigaldamise kuupäev filtri raamile.
- 2 Vajutage seadme tagaosas filtri aluse pealmine osa alla, et vabastada alus.
- 3 Võtke filtri aluse ülaosast kinni ja tõstke alus täielikult seadmest välja.
- 4 Eemaldage ja visake vana õhufilter ära.
- 5 Sisestage alusesse uus filter.

MÄRKUS. Õhufilter ei tööta õigesti, kui see on tagurpidi. Veenduge, et sisestaksite õhufiltri alusele nii, et näeksite rohelist üles-noolt ja ei näeks hoiatussilti. Nool peaks osutama filtri aluse käepideme suunas.

- 6 Libistage filtri alus instrumenti. Vajutage filtri aluse ülaosa alla, kuni see kohale klõpsatab.

Joonis 27 Õhufiltri sisestamine



Tarkvaravärskendused

Tarkvaravärskendused on ühendatud paketti nimega System Suite (Süsteemipakett), mis sisaldab järgmist tarkvara:

- ▶ Süsteemi NextSeq juhtimistarkvara (NCS)
- ▶ Süsteemi NextSeq moodused
- ▶ RTA2
- ▶ Süsteemi NextSeq hooldustarkvara (NSS)
- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

Võite installida tarkvaravärskendused automaatselt internetiühenduse kaudu või käsitsi võrgu- või USB-asukohast.

- ▶ **Automaatne värskendamine** – internetiühendusega võrku ühendatud seadmete korral kuvatakse saadaoleva värskenduse korral avakuva nupul Manage Instrument (Seadmehaldus) märguandeikoon



- ▶ **Käsitsi värskendamine** – laadige Illumina veebisaidilt, [seadme NextSeq 550Dx toelehelt](#) alla süsteemipaketi installer.

Tarkvara automaatne värskendamine

- 1 Valige nupp **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
- 2 Valige nupp **Software Update** (Tarkvaravärskendus).
- 3 Valige suvand **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Installi juba BaseSpace'ist alla laaditud värskendus).
- 4 Värskendamise alustamiseks valige nupp **Update** (Värskenda). Avaneb dialoogiaken käsu kinnitamiseks.
- 5 Järgige installiviisardi viipasid.
 - a Nõustuge litsentsilepinguga.
 - b Vaadake väljalaskemärkmeid.
 - c Vaadake üle värskendusse kaasatud tarkvara loend.

Kui värskendamine jõuab lõpule, taaskäivitub juhtimistarkvara automaatselt.

MÄRKUS. Kui lisatud on püsivaravärskendus, on pärast püsivara värskendamist vajalik süsteemi automaatne taaskäivitamine.

Tarkvara käsitsi värskendamine

- 1 Laadige Illumina veebisaidilt alla süsteemipaketi installer ja salvestage see võrguasukohta. Teise võimalusena võite kopeerida tarkvara installifaili kaasaskantavale USB-seadmele.
- 2 Valige nupp **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
- 3 Valige nupp **Software Update** (Tarkvaravärskendus).
- 4 Valige suvand **Manually install the update from the following location** (Installi värskendus käsitsi järgmisest asukohast).
- 5 Valige nupp **Browse** (Sirvi), et navigeerida tarkvara installifaili asukohta, ja valige nupp **Update** (Värskenda).
- 6 Järgige installiviisardi viipasid.
 - a Nõustuge litsentsilepinguga.
 - b Vaadake väljalaskemärkmeid.
 - c Vaadake üle värskendusse kaasatud tarkvara loend.

Kui värskendamine jõuab lõpule, taaskäivitub juhtimistarkvara automaatselt.

MÄRKUS. Kui lisatud on püsivaravärskendus, on pärast püsivara värskendamist vajalik süsteemi automaatne taaskäivitamine.

Algkäivitamise ja väljalülitamise valikud

Nupuga Reboot / Shutdown (Algkäivita / lülita välja) pääsete juurde järgmistele funktsioonidele:

- ▶ Reboot to RUO (RUO-le algkäivitamine) – seade avaneb uurimisrežiimis.
- ▶ Restart (Taaskäivitamine) – seade avaneb diagnostikarežiimis.
- ▶ Restart to Dx from RUO (RUO-lt taaskäivitamine Dx-i) – seade avaneb diagnostikarežiimis.
- ▶ Shutdown (Väljalülitamine) – toite uuesti sisselülitamisel avaneb seade diagnostikarežiimis.
- ▶ Exit to Windows (Windowsisse väljumine) – olenevalt õigustest võite sulgeda NCS-i ja näha Windowsi.

Diagnostikarežiimi taaskäivitamine

Kasutage taaskäivitamise käsku, et seade turvaliselt välja lülitada ja algkäivitada diagnostikarežiimi. Diagnostikarežiim on vaikimisi algkäivitamise režiim.

- 1 Valige nupp **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
- 2 Valige **Reboot / Shutdown** (Algkäivita / lülita välja).
- 3 Valige suvand **Restart** (Taaskäivita).

Seadme väljalülitamine

- 1 Valige nupp **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
- 2 Valige **Reboot / Shutdown** (Algkäivita / lülita välja).
- 3 Valige **Shutdown** (Lülita välja).

Käsk Lülita välja lülitab tarkvara ohutult välja ja katkestab seadme toiteühenduse. Oodake enne seadme uuesti sisselülitamist vähemalt 60 sekundit.

MÄRKUS. Vaikimisi algkäivtab seade sisselülitamisel diagnostikarežiimis.



ETTEVAATUST

Ärge paigutage seadet ümber. Seadme valesti liigutamine võib mõjutada optilist joondust ja rikkuda andmete terviklikkust. Kui te peate seadme ümber paigutama, võtke ühendust Illumina esindajaga.

Windowsisse väljumine

Windowsisse väljumise käsk võimaldab juurdepääsu seadme operatsioonisüsteemile ja kõikidele kaustadele seadme arvutis. Käsk lülitab tarkvara turvaliselt välja ja väljub Windowsisse. Ainult administraatorist kasutaja saab väljuda Windowsisse.

- 1 Valige nupp **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
- 2 Valige **Reboot / Shutdown** (Algkäivita / lülita välja).
- 3 Valige **Exit to Windows** (Välju Windowsisse).

Lisa A Tõrkeotsing

Sissejuhatus	41
Tõrkeotsingu failid	41
Automaatse kontrolli tõrgete lahendamine	42
Kasutatud reaktiivide mahuti on täis	44
Rehübridiseerimise töövoog	44
BeadChipi ja skannimise tõrked	46
Kohandatud moodused ja moodusekaustad	47
RAID-i tõrketeadete	48
Süsteemi sätete konfigureerimine	48

Sissejuhatus

Käituse kvaliteedi või jõudluse probleemide korral võtke ühendust Illumina tehnilise toega. Vt jaotist *Tehniline tugi* leheküljel 65.

Tõrkeotsingu failid

Illumina tehnilise toe esindaja võib küsida konkreetse käituse või skannimise failide koopiaid probleemide tõrkeotsinguks. Tavaliselt kasutatakse tõrkeotsinguks järgmisi faile.

Sekvenerimiskäituste tõrkeotsingu failid

Võtmefail	Kaust	Kirjeldus
Käituse teabefail (RunInfo.xml)	Juurkaust	Sisaldab järgmist teavet. <ul style="list-style-type: none">• Käituse nimi• Tsüklite arv käituses• Tsüklite arv igas lugemis• Kas lugem on indekseeritud lugem• Läbivooluküveti vaalude ja paanide arv
Käituse parameetrite fail (RunParameters.xml)	Juurkaust	Sisaldab teavet käituse parameetrite ja käituse komponentide kohta. Teave hõlmab RFID-i seerianumbrit, osa numbrit ja aegumiskuupäeva.
RTA konfiguratsioonifail (RTAConfiguration.xml)	Juurkaust	Sisaldab käituse RTA konfiguratsiooni sätteid. Fail RTAConfiguration.xml luuakse käituse alguses.
InterOp-failid (*.bin)	InterOp	Binaarsed aruandefailid. InterOp-faile värskendatakse kogu käituse jooksul.
Logifailid	Logid	Logifailid kirjeldavad instrumendi iga tsükli jaoks läbitud kõiki etappe ja loetavad käitusega kasutatavad tarkvara ja riistvara versioonid. Fail nimega [InstrumentName]_CurrentHardware.csv loetleb seadme komponentide seerianumbrid.
Tõrkelogi failid (*ErrorLog*.txt)	RTA logid	RTA tõrgete logid. Tõrke logifaile värskendatakse iga kord, kui esineb tõrge.
Globaalsed tõrkefailid (*GlobalLog*.tsv)	RTA logid	Kõikide RTA sündmuste logi. Globaalseid logifaile värskendatakse kogu käituse jooksul.
Raja logifailid (*LaneLog*.txt)	RTA logid	Logi RTA töötlemise sündmused. Raja logifaile värskendatakse kogu käituse jooksul.

RTA tõrked

RTA tõrgete tõrkeotsinguks kontrollige kõigepealt RTA tõrkelogi, mis asub kasutas RTALogs. Õnnestunud käituste korral seda kausta pole. Illumina tehnilisele teabele probleemidest teatamisel lisage tõrkelogi.

Massiivi skannimise tõrkeotsingu failid

Võtmefail	Kaust	Kirjeldus
Skannimisparameetrite fail (ScanParameters.xml)	Juurkaust	Sisaldab teavet skannimisparameetrite kohta. Teave hõlmab skannimise kuupäeva, BeadChipi võotkoodi, klastri- ja manifestifaili asukohta.
Logifailid	Logid	Logifailid kirjeldavad igat etappi, mis on seadmes skannimise ajal tehtud.
Mõõdikute failid	[Võotkood]	Mõõdikud hõlmavad proovi mõõdikuid ja jaotise mõõdikuid. [võotkood]_sample_metrics.csv – iga proovi ja kanali (punane ja roheline) korral on loetletud protsent pildist, protsendi erindid, P05, P50, P95, keskm. FWHM-i keskm., FWHM-i std. hälve ja min registreerimisskoor. [võotkood]_section_metrics.csv – iga jaotise ja paani korral on loetletud laseri Z-asend, läbi fookuse Z-asend, punase FWHM, roheline FWHM, punase keskm. piksli intensiivsus, roheline keskm. piksli intensiivsus, punase registreerimisskoor ja roheline registreerimisskoor.
Uuesti skannimise fail	[Võotkood]	[võotkood]_rescan.flowcell – loetletakse uuesti skannimiseks kohandatud paanide asukohad, mis hõlmavad suuremat paanidevahelist kattuvust.

Automaatse kontrolli tõrgete lahendamine

Kui tõrked esinevad automaatse kontrolli ajal, kasutage tõrke lahendamiseks järgmisi soovitatavaid tegevusi.

Sekvenerimiskäituste kontrollid

Kui käituseelne kontroll nurjub, ei ole reaktiivikasseti RFID lukustatud ja seda saab kasutada järgmise käituse jaoks. Kuid läbivooluküveti, reaktiivikasseti ja puhvrikasseti RFID-d lukustatakse juhtimistarkvara lähtestamisel, mis võib olla vajalik tõrke lahendamiseks. Kasutaja peab läbivooluküveti, reaktiivikasseti ja puhvrikasseti enne süsteemi taaskäivitamist seadmest eemaldama. Kui fooliumtihendid on läbistatud, siis lukustatakse lisaks ka kulutarviku RFID-d. Kui tarkvara loeb läbivooluküveti RFID-d, siis käivitub seitsmetunnine taimer, enne kui läbivooluküveti loetakse lukustatuks ja kasutuskõlbmatuks.

Süsteemi kontrollid	Soovitatav tegevus
Luugid suletud	Veenduge, et sektsiooni luugid oleks suletud.
Kulutarvikud on laaditud	Kulutarviku andurid ei registreeri. Veenduge, et iga kulutarvik oleks õigesti laaditud. Valige käituse seadistuskuvadel nupp Back (Tagasi), et naasta laadimisetappi ja korrata käituse seadistamist.
Nõutav tarkvara	Tarkvara kriitilised komponendid puuduvad. Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Seadme kettaruum	Seadme kõvakettal ei ole käitamiseks piisavalt kettaruumi. Võimalik, et eelmise käituse andmeid ei edastatud. Tühjendage seadme kõvakettalt käituse andmeid.
Võrguühendus	Võrguühendus on katkestatud. Kontrollige võrguolekut ja füüsilist võrguühendust.
Võrguketta ruum	Võrguserver on täis

Temperatuur	Soovitav tegevus
Temperatuur	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Temperatuuriandurid	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Ventilaatorid	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.

Hõivamissüsteem	Soovitav tegevus
Hõivamise piirväärtused	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Z-i etapid ja tasakaalustamine	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Bittide tõrkemäär	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Läbivooluküveti registreerimine	Võimalik, et läbivooluküveti ei paikne õigesti. <ul style="list-style-type: none"> Selleks, et naasta läbivooluküveti etappi, valige käituse seadistuskuvadel nupp Back (Tagasi). Hõivamisseksiooni luuk avaneb. Laadige läbivooluküveti maha ja laadige see uuesti veendumaks, et see paikneks korralikult.

Reaktiivi kohaletoimetamine	Soovitav tegevus
Klapi reaktsioon	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Pump	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Puhvermehhanism	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Kasutatud reaktiivide tühjendamine	Tühjendage kasutatud reaktiivide mahuti ja laadige tühi mahuti uuesti.

Massiivi skannimise kontrollid

Süsteemi kontrollid	Soovitav tegevus
Luugid suletud	Veenduge, et seksiooni luugid oleks suletud.
Kulutarvikud on laaditud	Kulutarviku andurid ei registreeri. Veenduge, et iga kulutarvik oleks õigesti laaditud. Valige käituse seadistuskuvadel nupp Back (Tagasi), et naasta laadimisetaapi ja korrata käituse seadistamist.
Nõutav tarkvara	Tarkvara järgmised kriitilised komponendid puuduvad. Värskendage tarkvara käsitsi, et taastada kõik tarkvara komponendid
Sisendfailide kontrollimine	Veenduge, et klastr- ja manifestifaili tee oleks õige ning failid oleksid olemas.
Seadme kettaruum	Seadme kõvakettal ei ole käitamiseks piisavalt kettaruumi. Võimalik, et eelmise käituse andmeid ei edastatud. Tühjendage seadme kõvakettalt käituse andmeid.
Võrguühendus	Võrguühendus on katkestatud. Kontrollige võrguolekut ja füüsilist võrguühendust.
Võrguketta ruum	BaseSpace'i konto või võrguserver on täis.

Hõivamissüsteem	Soovitav tegevus
Hõivamise piirväärtused	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Z-i etapid ja tasakaalustamine	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Bittide tõrkemäär	Pöörduge Illumina tehnilise toe poole.
Automaatne tsentreerimine	Laadige BeadChipi adapter maha. Veenduge, et BeadChip oleks adapteris, ja laadige adapter uuesti.

Kasutatud reaktiivide mahuti on täis

Alustage alati käitust tühja kasutatud reaktiivide mahutiga.

Kui alustate käituse ilma kasutatud reaktiivide mahutit tühjendamata, siis vallandavad süsteemiandurid mahuti täitumisel tarkvara käituse peatamise. Süsteemiandurid ei saa peatada käitust klasterdamise, paarisotsalise resünteesi või automaatse käitusjärgse pesemise ajal.

Kui käitus peatub, avaneb dialoogiaken valikuga tõsta pipetiotsakud ja tühjendada täis konteiner.

Kasutatud reaktiivide mahuti tühjendamine

- 1 Valige suvand **Raise Sippers** (Tõsta pipetiotsakud).
- 2 Eemaldage kasutatud reaktiivide mahuti ja visake sisu vastavalt nõuetele ära.
- 3 Pange tühi mahuti puhvisektsiooni tagasi.
- 4 Valige **Continue** (Jätka). Käitus jätkub automaatselt.

Rehübridiseerimise töövoog

Rehübridiseerimiskäitus võib olla vajalik, kui esimese mõne tsükli jooksul loodud mõõdikud näitavad intensiivsust alla 2500. Mõnede väikese mitmekesisusega teekide puhul võib intensiivsus olla alla 1000, mis on ootuspärane ega ole rehübridiseerimisega lahendatav.

MÄRKUS. Käituse lõpetamise käsk on lõplik. Käitust ei saa jätkata, käituse kulutarvikuid ei saa uuesti kasutada ja käituse sekveneerimisandmeid ei salvestata.

Kui lõpetate käituse, teeb tarkvara enne käituse lõppu järgmised toimingud:

- ▶ Viib läbivooluküveti ohutusse olekusse.
- ▶ Lukustab läbivooluküveti RFID lahti hilisemaks käituseks.
- ▶ Määrab läbivooluküvetile rehübridiseerimise aegumiskuupäeva.
- ▶ Kirjutab käituse logid lõpetatud tsükli kohta. Viivitus on tavapärane.
- ▶ Läheb mööda automaatsest käitusjärgsest pesemisest.

Kui käivitate rehübridiseerimiskäituse, teeb tarkvara käituseks järgmised toimingud:

- ▶ Loob käituse ainulaadse nime põhjal käituse kausta.
- ▶ Kontrollib, et läbivooluküveti rehübridiseerimise aegumiskuupäev ei oleks möödunud.
- ▶ Teeb eeltäitmise reaktiividega. Viivitus on tavapärane.
- ▶ Jätab vahele klasterdamise etapi.
- ▶ Eemaldab eelmise 1. lugemi praimerid.
- ▶ Hübridiseerib värsket 1. lugemi praimerit.
- ▶ Jätkab läbi 1. lugemi ja ülejäänud käituse määratud käituse parameetrite järgi.

Käituse lõpetamise ajahetked rehübridiseerimiseks

Hilisem rehübridiseerimine on võimalik vaid siis, kui lõpetate käituse järgmistel ajahetkedel:

- ▶ **Pärast 5. tsükli** – intensiivsused saadakse pärast malli registreerimist, milleks on vaja esimest viit sekveneerimistsükli. Kuigi käituse lõpetamine pärast 1. tsükli on ohutu, on soovitatav lõpetada pärast 5. tsükli. Ärge lõpetage käitust klatri loomise ajal.
- ▶ **1. lugem või 1. indeksi lugem** – lõpetage käitus **enne** paarisotsalise resünteesi algust. Läbivooluküveti ei saa pärast paarisotsalise resünteesi algust säilitada hilisemaks rehübridiseerimiseks.

Vajalikud kulutarvikud

Rehübridiseerimiskäitus vajab olenemata käituse peatamise ajast uut seadme NextSeq 550Dx reaktiivikassetti ja puhvrikassetti.

Toimuva käituse lõpetamine

- 1 Valige nupp **End Run** (Lõpeta käitus). Kui kuvatakse viip käsu kinnitamiseks, valige nupp **Yes** (Jah).
- 2 Kui kuvatakse viip läbivooluküveti säilitamise kohta, valige nupp **Yes** (Jah). Pange tähele rehübridiseerimise aegumiskuupäeva.
- 3 Eemaldage säilitatav läbivooluküvett ja hoidke seda temperatuuril 2 °C kuni 8 °C seni, kuni olete valmis rehübridiseerimiskäitust seadistama.

MÄRKUS. Lävivooluküveti saab säilitada kaanega plastkarbis *ilma* desikandipakita kuni 7 päeva temperatuuril 2 °C kuni 8 °C. Parimate tulemuste saamiseks rehübridiseerige säilitatud läbivooluküveti 3 päeva jooksul.

Käsitsi pesemine

- 1 Valige avakuval nupp **Perform Wash** (Pesemine).
- 2 Valige kuval Wash Selection (Pesemise valik) suvand **Manual Post-Run Wash** (Käsitsi käitusjärgne pesemine). Vt jaotist *Käsitsi pesemine* leheküljel 33.

MÄRKUS. Kui te ei ole reaktiivikassetti ja puhvrikassetti seisatud käitusest eemaldanud, saate neid kasutada käsitsi pesemiseks. Muul juhul tehke käsitsi pesemine reaktiivi pesukasseti ja puhvri pesukassetiga.

Uue käituse seadistamine BaseSpace'i ettevalmistamise vahekaardil

- 1 Kui seade on konfigureeritud BaseSpace'i või BaseSpace Onsite'i jaoks, seadistage uus käitus vahekaardil Prep (Ettevalmistus), kasutades samu parameetreid, kui algse käitusega.

NÄPUNÄIDE. Klõpsake vahekaarti Pools (Kogumid), valige eelmise käituse sätete säilitamiseks sobiv Pool ID (Kogumi ID) ja seejärel määrake uuele käitusele ainulaadne nimi.

Käituse seadistamine seadmes

- 1 Valmistage ette uus reaktiivikassett.
- 2 Kui on olemas säilitatud läbivooluküvett, siis laske sellel toatemperatuurile jõuda (15–30 minutit).
- 3 Puhastage ja laadige säilitatud läbivooluküvett.

- 4 Eemaldage kasutatud reaktiivide mahuti ja kõrvaldage selle sisu sobival viisil. Seejärel laadige tühi mahuti uuesti.
- 5 Laadige uus puhvrikassett ja reaktiivikassett.
- 6 Valige kuval Run Setup (Käituse seadistus) järgmiste suvandite hulgast:
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace või BaseSpace Onsite) – valige käitus ja kinnitage käituse parameetrid.
 - ▶ **Standalone** (Eraldiseisev) – sisestage käituse nimi ja määrake algse käitusega samad parameetrid.
- 7 Valige nupp **Next** (Edasi), et jätkata käituseelse kontrolliga ja käitus käivitada.

BeadChipi ja skannimise tõrked

Tarkvara ei saa BeadChipi vötkoodi lugeda

Kui kuvatakse vötkoodi tõrke dialoogiaken, valige üks järgmistest suvanditest:

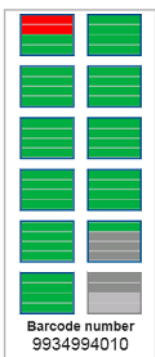
- ▶ Valige nupp **Rescan** (Skanni uuesti). Tarkvara püüab vötkoodi uuesti lugeda.
- ▶ Valige tekstiväli ja sisestage numbriline vötkood nii, nagu joonisel on näidatud. Olenevalt BeadChipist võib vötkoodi number olla kuni 12-kohaline. Valige nupp **Save** (Salvesta). Vötkoodi pilt salvestatakse väljundkausta.
- ▶ Valige nupp **Cancel** (Tühista). BeadChipi adapteri mahalaadimiseks avaneb hõivamissektsiooni luuk.

BeadChipi skannimise tõrge

Pildid registreeritakse pärast nende skannimist. Registreerimisel tuvastatakse kerakesed, korreleerides asukohad skannitud pildil teabega kerakeste kaardil või DMAP-i kaustas.

Jaotised, milles registreerimine nurjub, esitatakse BeadChipi pildil punaselt.

Joonis 28 Nurjunud jaotistega BeadChip



Pärast skannimise lõppu ja skannimisandmete väljundkausta kirjutamist muutub nupp Rescan (Skanni uuesti) aktiivseks.

Nupu Rescan valimisel teeb tarkvara järgmised toimingud.

- ▶ Skannib uuesti proove, mis sisaldasid nurjunud jaotisi, kasutades suuremat paanidevahelist kattuvust.
- ▶ Loob algses väljundkaustas väljundfailid.
- ▶ Kirjutab üle nurjunud jaotiste eelmised väljundfailid.

- ▶ Suurendab skannimisloendurit 1 võrra iga uuesti skannimise kohta, kuid teeb seda taustal. Tarkvara ei nimeta väljundkausta ümber.

Uuesti skannimine või uue skannimise alustamine

- 1 Nurjunud jaotisi sisaldavate proovide skannimiseks valige nupp **Rescan** (Skanni uuesti).
- 2 Kui skannimine nurjub endiselt, lõpetage skannimine.
- 3 Eemaldage BeadChip ja adapter ning kontrollige BeadChipi tolmu või mustuse suhtes. Kasutage mustuse eemaldamiseks suruõhuballooni või muud suruõhu allikat.
- 4 Laadige BeadChip uuesti ja alustage uut skannimist.
Uue skannimise alustamisel teeb tarkvara järgmised toimingud:
 - ▶ Skannib kogu BeadChipi.
 - ▶ Loob uues väljundkaustas uued väljundfailid.
 - ▶ Suurendab skannimisloendurit 1 võrra vastavalt skannimiste arvule viimasel uuesti skannimisel.

Manifestifailide ja klastrifailide asendamine

- 1 Leidke kasutatav BeadChip Illumina toelehelt (support.illumina.com) ja klõpsake vahekaarti **Downloads** (Allalaadimised).
- 2 Laadige asendatavad või värskendatavad failid alla ja kopeerige failid soovitud võrguasukohta.

MÄRKUS. Veenduge, et valiksite seadmesüsteemiga NextSeq 550Dx ühilduvad manifesti- ja klastrifailid. Ühilduvate failide nimes on **NS550**.

- 3 Värskendage asukohta BeadChipi skannimise konfiguratsiooni kuval järgmiselt ainult muutunud asukoha korral:
 - a Valige NCS-i avakuval suvand **Manage Instrument** (Seadmehaldus).
 - b Valige suvand **System Configuration** (Süsteemi konfiguratsioon).
 - c Valige suvand **BeadChip Scan Configuration** (BeadChipi skannimise konfiguratsioon).
- 4 Valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige asendatud või värskendatud failide asukohta.

Kohandatud moodused ja moodusekaustad

Ärge muutke algseid mooduseid. Tehke algsest moodusest alati uue nimega koopia. Algse mooduse muutmisel ei tunne tarkvara värskendusprogramm hilisemaks värskendamiseks enam mooduse nime ära ja uuemaid versioone ei installita.

Salvestage kohandatud moodused sobivasse moodusekausta. Moodusekaustad korraldatakse järgmiselt.

Custom

 **High** – kohandatud moodused, mida kasutatakse suure väljundiga komplekti korral.

 **Mid** – kohandatud moodused, mida kasutatakse keskmise väljundiga komplekti korral.

 **High** – algsed moodused, mida kasutatakse suure väljundiga komplekti korral.

 **Mid** – algsed moodused, mida kasutatakse keskmise väljundiga komplekti korral.

 **Wash** – sisaldab käsitsi pesemise moodust.

RAID-i tõrketeade

Seadme NextSeq 550Dx arvuti on varustatud nelja kõvakettaga, kaks diagnostikarežiimi ja kaks uurimisrežiimi jaoks. Kui kõvaketas hakkab rikki minema, genereerib süsteem RAID-i tõrketeate ja soovib võtta ühendust Illumina tehnilise toega. Tavaliselt on nõutav kõvaketta asendamine.

Saate jätkata käituse seadistamise ja tavalise kasutamisega. Teate eesmärk on hoolduse ettekavandamine, et vältida katkestusi seadme tavatöös. RAID-i hoiatuse saavad kinnitada ainult administraatorid. Seadme kasutamine ainult ühe kõvakettaga võib põhjustada andmekadu.

Süsteemi sätete konfigureerimine

Süsteem konfigureeritakse paigaldamise ajal. Samas kui vajalik on muutmine või kui süsteem on vaja uuesti konfigureerida, kasutage süsteemi konfigureerimise valikuid. Ainult Windowsi administraatori kontrol on õigus süsteemi konfigureerimise suvanditele juurde pääseda.

- ▶ **Võrgu konfigureerimine** – pakub IP-aadressi seadistamise, domeeni nimeserveri (DNS-i) aadressi, arvuti nime ja domeeninime suvandeid.

Võrgukonfiguratsiooni seadistamine

- 1 Valige kuval Manage Instrument (Seadmehaldus) suvand **System Configuration** (Süsteemi konfiguratsioon).
- 2 Valige suvand **Obtain an IP address automatically** (Hangi IP-aadress automaatselt), et hankida IP-aadress DHCP-serverit kasutades.

MÄRKUS. Dünaamilise hostikonfiguratsiooni protokoll (DHCP) on standardne võrguprotokoll, mida kasutatakse IP-võrkudega võrgukonfiguratsiooni parameetrite dünaamiliseks jaotamiseks.

Teise võimalusena valige suvand **Use the following IP address** (Kasuta järgmist IP-aadressi), et ühendada seade järgmiselt käsitsi muu serveriga. Teie asutuse spetsiifiliste aadresside jaoks võtke ühendust oma võrguadministraatoriga.

- ▶ Sisestage IP-aadress. IP-aadress on punktidega eraldatud neljast arvust koosnev seeria, mis on sarnane näiteks variandile 168.62.20.37.
 - ▶ Sisestage alamvõrgumaks, mis on IP-võrgu alamjaotus.
 - ▶ Sisestage vaikelüüs, mis on internetiga ühendava võrgu ruuter.
- 3 Valige suvand **Obtain a DNS server address automatically** (Hangi DNS-serveri aadress automaatselt), et ühendada IP-aadressiga seostatud seade domeeninime serveriga. Teise võimalusena valige suvand **Use the following DNS server addresses** (Kasuta järgmisi DNS-serveri aadresse), et ühendada seade käsitsi muu serveriga järgmiselt.
 - ▶ Sisestage eelistatud DNS-i aadress. DNS-i aadress on domeeninime IP-aadressideks tõlkimiseks kasutatava serveri nimi.
 - ▶ Sisestage alternatiivne DNS-i aadress. Alternatiivi kasutatakse, kui eelistatud DNS-i ei saa tõlkida konkreetset domeeninime IP-aadressiks.
 - 4 Arvuti ekraanile minemiseks klõpsake nuppu **Save** (Salvesta).

MÄRKUS. Seadme arvuti nimi määratakse seadme arvutile tootmise ajal. Mis tahes arvuti nime muudatused võivad mõjutada ühendust ja nõuda võrguadministraatorit.

- 5 Ühendage seadme arvuti domeeni või tööruhmaga järgmiselt.
 - ▶ **Internetiga ühendatud seadmete korral** – valige suvand **Member of Domain** (Domeeni liige) ja sisestage seejärel teie asutuse internetiühendusega seostatud domeeninimi. Domeeni muudatused nõuavad administraatori kasutajanime ja parooli.
 - ▶ **Internetiga mitte ühendatud seadmete korral** – valige suvand **Member of Work Group** (Töögrupi liige) ja sisestage seejärel töögrupi nimi. Töögrupi nimi on teie asutuse jaoks ainulaadne.
- 6 Valige nupp **Save** (Salvesta).

Analüüsi konfiguratsiooni seadistamine

- 1 Valige kuval Manage Instrument (Seadmehaldus) suvand **System Configuration** (Süsteemi konfiguratsioon).
- 2 Valige suvand **Analysis Configuration** (Analüüsi konfiguratsioon).
- 3 Valige järgmiste suvandite hulgast, et määrata asukoht, kuhu andmed järgnevatks analüüsimiseks edastatakse.
 - ▶ Valige **BaseSpace**, et saata sekveneerimisandmed Illumina BaseSpace'i. **[Valikuline]** Valige märkeruut **Output Folder** (Väljundkaust), valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige sekundaarse võrguasukohani, et salvestada lisaks BaseSpace'ile BCL-failid.
 - ▶ Valige **BaseSpace Onsite**. Sisestage väljale Server Name (Serveri nimi) oma BaseSpace Onsite'i serveri täistee. **[Valikuline]** Valige märkeruut **Output Folder** (Väljundkaust), valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige sekundaarse võrguasukohani, et salvestada lisaks BaseSpace Onsite'i serverile BCL-failid.
 - ▶ Valige **Standalone instrument** (Eraldiseisev seade), et salvestada andmed ainult võrguasukohta. Valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige eelistatud võrguasukohta. Juhtimistarkvara loob väljundkausta nime automaatselt.
 - ▶ **[Valikuline]** Valige suvand **Use Run Monitoring** (Kasuta käituse jälgimist), et jälgida visualiseerimistööriistade abil käitust BaseSpace'is. Vajalik on BaseSpace'i sisselogimine ja internetiühendus.
- 4 Kui valisite BaseSpace'i või BaseSpace Onsite'i, seadistage BaseSpace'i parameetrid järgmiselt.
 - ▶ Seadme registreerimiseks BaseSpace'is sisestage BaseSpace'i **User Name** (Kasutajanimi) ja **Password** (Parool).
 - ▶ Selleks, et seadistada registreeritud kasutajanimi ja parool sisselogimise vaikeandmeteks, valige suvand **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Kasuta sisselogimise vaikeandmeid ja möödu BaseSpace'i sisselogimiskuvast). See säte möödub käituse seadistamise ajal BaseSpace'i kuvast.
- 5 Illumina Proactive jälgimisteenuse lubamiseks valige suvand **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Saada Illuminal seadme jõudlusandmed). Olenevalt kasutatavast NCS-i versioonist võib tarkvara liideses olev sätte nimi erineda selles juhendis toodud nimest. Kui see säte on sisse lülitatud, saadetakse seadme jõudlusandmeid Illuminal. Need andmed hõlbustavad Illuminal tõrkeotsingu tegemist ja võimalike tõrgete tuvastamist, võimaldades ennetavat hooldust ja maksimeerides seadme tööaega. Lisateavet selle teenuse hüvede kohta leiate dokumendist *Illumina Proactive Technical Note (Illumina Proactive'i tehnilised märkmed)* (dokument nr 1000000052503).

See teenus:

 - ▶ ei saada sekveneerimisandmeid;
 - ▶ nõuab, et seade oleks ühendatud internetiühendusega võrku;

- ▶ On vaikumisi välja lülitatud. Selle teenuse valimiseks lubage säte **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Saada Illuminale seadme jõudlusandmeid).

6 Valige nupp **Save** (Salvesta).

BeadChipi skannimise konfiguratsioon

- 1 Valige kuval Manage Instrument (Seadmehaldus) suvand **System Configuration** (Süsteemi konfiguratsioon).
- 2 Valige suvand **BeadChip Scan Configuration** (BeadChipi skannimise konfiguratsioon).
- 3 DMAP-i kausta vaikeasukoha määramiseks valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige oma asutuse võrgus eelistatud kausta asukohta.

MÄRKUS. Enne iga skannimist laadige DMAP-i sisu alla ja kopeerige sellesse asukohta. DMAP-i sisu on vaja iga BeadChipi jaoks, ja see on igale BeadChipi vötkoodile ainulaadne.

- 4 Väljundi vaikeasukoha määramiseks valige nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige oma asutuse võrgus eelistatud asukohta.
- 5 Valige salvestatud piltide jaoks pildifaili vorming. Piltide vaiketüüp on **JPG**.
- 6 Valige skannimisandmete väljundfaili vorming. Väljundfailide vaiketüüp on **GTC only** (Ainult GTC).
- 7 Valige nupp **Save** (Salvesta).
- 8 Määrake iga BeadChipi tüübi jaoks kuval Scan Map (Skannimiskaart) manifestifaili ja klastrifaili täistee. Valige iga failitüübi korral nupp **Browse** (Sirvi) ja navigeerige neid faile sisaldava kausta asukohta.
- 9 **[Valikuline]** Valige suvand **Hide Obsolete BeadChips** (Peida iganenud BeadChipid), et eemaldada iganenud BeadChipid vaatest.
- 10 Valige nupp **Save** (Salvesta).

Lisa B Reaalajas analüüs

Reaalajas analüüsi ülevaade	51
Reaalajas analüüsi töövoog	52

Reaalajas analüüsi ülevaade

Seade NextSeq 550Dx kasutab reaalajas analüüsi (RTA) tarkvara rakendamist, mille nimi on RTA2. RTA2 töötab seadme arvutis ja eraldab intensiivsused piltidest, nimetab alused ja määrab aluse nimetusele kvaliteediskoori. RTA2 ja operatsioonitarkvara suhtlevad veebi HTTP-liidese ja ühiskasutuses mälufailide kaudu. Kui RTA2 katkestatakse, siis töötlemine ei jätku ja käituse andmeid ei salvestata.

RTA2 sisendid

RTA2 nõuab töötlemiseks järgmisi sisendeid.

- ▶ Kohalikus süsteemimälus olevad paanipildid.
- ▶ **RunInfo.xml**, mis luuakse automaatselt käituse alguses ja esitab käituse nime, tsükli arvu, seda, kas lugem on indekseeritud, ja paanide arvu läbivooluküvetil.
- ▶ **RTA.exe.config**, mis on XML-vormingus tarkvara konfiguratsioon.

RTA2 saab operatsioonitarkvaralt käske faili **RunInfo.xml** asukoha kohta ja seda, kas valikuline väljundkaust on määratud.

RTA2 väljundfailid

Iga kanali pildid **läbivad** mälu paanidena. Paanid on väikesed läbivooluküvetil kaamera vaateväljana määratletud hõivamise piirkonnad. Nende piltide põhjal toodab tarkvara väljundi kvaliteediskooriga aluste nimetusfailide ja filtrifailidena. Kõik teised väljundfaile toetavad failid.

Faili tüüp	Kirjeldus
Aluste nimetusfailid	Iga analüüsitud paan kaasatakse iga raja ja iga tsükli jaoks koondatud aluse nimetuse (*.bcl.bgzf) faili. Koondatud aluse nimetuse fail sisaldab aluse nimetust ja sellega seotud kvaliteediskoori iga selle raja klastri kohta.
Filtrifailid	Iga paan esitab filtriteabe, mis koondatakse iga raja jaoks ühte filtrisse (*.filter). Filtrifail määratleb, kas klaster läbib filtrid.
Klastrite asukohafailid	Klastrite asukohafailid (*.locs) sisaldavad iga paani klastri X- ja Y-koordinaate. Klastrite asukohafail luuakse malli loomise ajal iga raja jaoks.
Aluste nimetamise indeksifailid	Iga raja jaoks luuakse aluste nimetamise indeksifail (*.bci), et säilitada algne paani teave. Indeksifail sisaldab iga paani väärtuste paari, mis on paani number ja selle paani klastrite arv.

RTA2 esitab käituse kvaliteedi reaalajas mõõdikud, mis talletatakse InterOp-failidena. InterOp-failid on kahendväljund, mis sisaldab paani, tsükli ja lugemitasemel mõõdikuid.

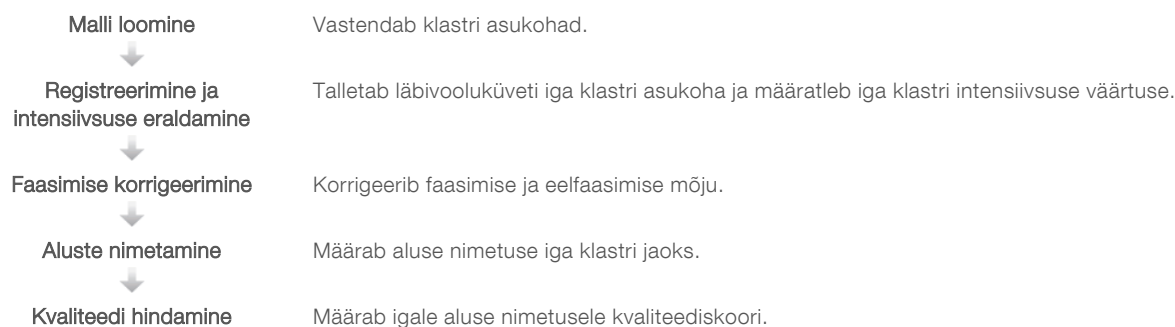
Tõrgete lahendamine

RTA2 loob logifailid ja kirjutab need kausta RTALogs. Vead salvestatakse TSV-failivormingus tõrkefailina.

Töötlemise lõpus edastatakse lõplikku väljundsihtkohta järgmised logi- ja tõrkefailid:

- ▶ *GlobalLog*.tsv sisaldab kokkuvõtet olulistest käituse sündmustest.
- ▶ *LaneNLog*.tsv loetleb iga raja töötlemise sündmused.
- ▶ *Error*.tsv sisaldab käituse ajal ilmnenu vigu.
- ▶ *WarningLog*.tsv sisaldab käituse ajal antud hoiatusi.

Reaalajas analüüsi töövoog



Malli loomine

RTA töövoogu esimene etapp on malli loomine, mis määratleb X- ja Y-telje koordinaate kasutades paani iga klasteri asukohta.

Malli loomine vajab käituse esimese viie tsükli pildandiandmeid. Pärast paani malli tsükli viimast hõivamist luuakse mall.

MÄRKUS. Malli loomise ajal klasteri tuvastamiseks peab esimeses viies tsükli olema vähemalt üks muu alus kui G. Mis tahes indeksi sekvents nõuavad RTA2 esimeses kahes tsükli vähemalt ühte muud alust kui G.

Malli kasutatakse registreerimise ja intensiivsuse eraldamise järgmises etapis viitena. Kogu läbivooluküveti klasteri asendid kirjutatakse klasteri asukohta (*.locs) failidesse, üks fail iga raja jaoks.

Registreerimine ja intensiivsuse eraldamine

Registreerimine ja intensiivsuse eraldamine algavad pärast malli loomist.

- ▶ Registreerimine joondab iga järgneva hõivamistsükli ajal loodud pildid malliga.
- ▶ Intensiivsuse eraldamine teeb kindlaks iga antud pildi malli klasteri intensiivsuse väärtuse.

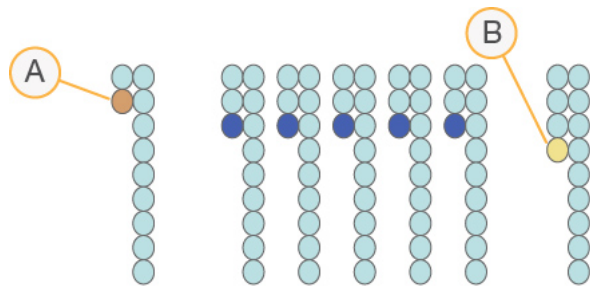
Kui tsükli mõne pildi registreerimine nurjub, siis selle tsükli paani aluse nimetusi ei looda.

Faasimise korrigeerimine

Sekveneerimisreaktsiooni ajal pikeneb iga DNA-ahel klasteris ühe aluse võrra tsükli kohta. Faasimine ja eelfaasimine toimub, kui ahel muutub praeguse kaasamistsükliga faasist väljas olevaks.

- ▶ Faasimine toimub, kui alus jääb maha.
- ▶ Eelfaasimine toimub, kui alus hüppab edasi.

Joonis 29 Faasimine ja eelfaasimine



- A Lugem alusega, mis on faasimises
- B Lugem alusega, mis on eelfaasimises.

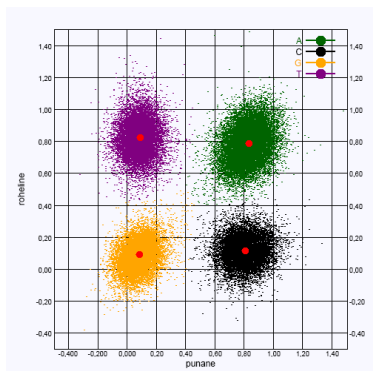
RTA2 korrigeerib faasimise ja eelfaasimise mõju, mis maksimeerib andmete kvaliteeti igas tsükliis kogu kaituse vältel.

Aluste nimetamine

Aluste nimetamine määrab aluse (A, C, G või T) antud paani iga klastriga kindlas tsükliis. Seade NextSeq 550Dx kasutab kahekanalist sekveneerimist, mis nõuab nelja DNA-aluse andmete kodeerimiseks ainult kahte pilti, üks punasest ja teine rohelisest kanalist.

Pildist eraldatud intensiivsused võrrelduna teise pildi tulemusega annavad neli erinevat populatsiooni, millest igaüks vastab nukleotiidile. Aluste nimetamise protsess määrab, millisesse klastrisse iga populatsioon kuulub.

Joonis 30 Klastrite intensiivsuse visualiseerimine



Tabel 1 Aluste nimetused kahekanalises sekveneerimises

Alus	Punane kanal	Roheline kanal	Tulemus
A	1 (sees)	1 (sees)	Klastrid, mis näitavad intensiivsust nii punases kui ka rohelises kanalisis.
C	1 (sees)	0 (väljas)	Klastrid, mis näitavad intensiivsust ainult punases kanalisis.
G	0 (väljas)	0 (väljas)	Klastrid, mis näitavad intensiivsuse puudumist teadolevas klastris asukohas.
T	0 (väljas)	1 (sees)	Klastrid, mis näitavad intensiivsust ainult rohelises kanalisis.

Klastrite läbipääsufilter

Käituse ajal filtreerib RTA2 toorandmeid, et eemaldada lugemid, mis ei vasta andmete kvaliteedikünnisele. Kattuvad ja madala kvaliteediga klastrid eemaldatakse.

Kahekanaliliste analüüside jaoks kasutab RTA2 aluse nimetuse puhtuse määramiseks populatsioonipõhist süsteemi. Klastrite läbipääsufilter (PF), kui 25 esimeses tsüklis pole rohkem kui ühel aluse nimetusel puhtusetase alla 0,63. Klastrid, mis filtrit ei läbi, ei ole aluse nimetusega.

Indekseerimise kaalutlused

Indeksi lugemite aluste nimetamise protsess erineb aluste nimetamisest teiste lugemite ajal.

Indeksi lugemid peavad algama kahes esimeses tsüklis vähemalt ühe G-st erineva alusega. Kui indeksi lugem algab kahe G-aluse nimetamisega, siis signaali intensiivsust ei genereerita. Demultipleksimise toimivuse tagamiseks peab signaal olema ühes kahest esimesest tsüklist.

Demultipleksimise töökindluse suurendamiseks valige indeksi sekvents, mis annavad igas tsüklis signaali vähemalt ühes kanalis, eelistatavalt mõlemas kanalis. Selle juhise järgimine väldib indeksi kombinatsioone, mille tulemuseks on mis tahes tsüklis ainult G-alused.

- ▶ Punane kanal – A või C
- ▶ Roheline kanal – A või T

See aluste nimetamise protsess tagab madala pleksiga proovide analüüsimisel täpsuse.

Kvaliteedi hindamine

Kvaliteediskoor ehk Q-skoor on ebaõige aluse nimetamise tõenäosuse prognoos. Kõrgem Q-skoor näitab, et aluse nimetus on kõrgema kvaliteediga ja tõenäolisemalt õige.

Q-skoor on kompaktne viis väikeste vea tõenäosuste edastamiseks. Kvaliteediskoor on esitatud kujul Q (X), kus X on skoor. Järgmises tabelis on toodud kvaliteediskoori ja vea tõenäosuse seos.

Q-skoor Q (X)	Tõrke tõenäosus
Q 40	0,0001 (1/10 000)
Q 30	0,001 (1/1 000)
Q 20	0,01 (1/100)
Q 10	0,1 (1/10)

MÄRKUS. Kvaliteedi hindamine põhineb Phredi algoritmi modifitseeritud versioonil.

Kvaliteedi hindamine arvutab iga aluse nimetamise jaoks prognoosija komplekti ja seejärel kasutab prognoosija väärtusi kvaliteeditabelist Q-skoori otsimiseks. Kvaliteeditabelid on loodud sekveneerimisplatvormi ja keemiaversiooni kindla konfiguratsiooniga loodud käituste puhul optimaalselt täpsete kvaliteediprognoside pakkumiseks.

Kui Q-skoor on määratud, salvestatakse tulemused aluste nimetusfailidesse (*.bcl.bgzf).

Lisa C Väljundfailid ja -kaustad

Sekveneerimise väljundfailid	55
Väljundkaustade struktuur	57
Skannimise väljundfailid	58
Skannimise väljundkaustade struktuur	59

Sekveneerimise väljundfailid

Faili tüüp	Faili kirjeldus, asukoht ja nimi
Aluste nimetusfailid	Iga analüüsitud paan sisaldub aluse nimetusfaili, mis on koondatud iga tsükli iga rea kohta ühte faili. Koondfail sisaldab aluse nimetust ja kodeeritud kvaliteediskoori iga selle raja klatri kohta. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – failid talletatakse iga raja jaoks ühes kaustas. [Tsükkel].bcl.bgzf, kus [Tsükkel] kujutab tsükli neljakohalist numbrit. Aluste nimetusfailid tihendatakse plokk-gzip-pakkimise abil.
Aluste nimetamise indeksfail	Binaarne indeksfail loetleb iga rea originaalpaani teabe iga paani väärtuste paari jaoks, mis on paani number ja selle paani klatri arv. Aluse nimetuse indeksfailid luuakse selle raja aluse nimetuse faili esmakordsel loomisel. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – failid talletatakse iga raja jaoks ühes kaustas. s_[rada].bci
Klatri asukohafailid	Iga paani puhul koondatakse iga klatri X- ja Y-koordinaadid iga paani ühte klatri asukohafaili. Klatri asukohafailid on malli loomise tulemus. Data\Intensities\L00[X] – failid talletatakse iga raja jaoks ühes kaustas. s_[rada].locs
Filtrifailid	Filtrifail määratleb, kas klaster läbis filtrid. Filtri teave koondatakse iga raja ja lugemi ühte filtrifaili. Filtrifailid luuakse 26. tsükli 25 tsükli andmete põhjal. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – failid talletatakse iga raja jaoks ühes kaustas. s_[lane].filter
InterOp-failid	Binaarsed aruandefailid. InterOp-faile värskendatakse kogu käituse jooksul. Kaust InterOp
RTA konfiguratsioonifail	Käituse alguses loodud RTA konfiguratsioonifail loetleb käituse sätteid. [Juurkaust], RTAConfiguration.xml
Käituse teabefail	Sisaldab käituse nime, tsükli arvu iga lugemi kohta, kas lugemine on indekseeritud lugemine, ning läbivooluküveti vaalude ja paanide arvu. Käituse teabefail luuakse käituse alguses. [Root folder], RunInfo.xml

Läbivooluküveti paanid

Paanid on väikesed läbivooluküvetil kaamera vaateväljana määratletud hõivamise piirkonnad. Paanide koguarv oleneb radade, vaalude ja pindade arvust, mis läbivooluküvetil hõivatakse, ning sellest, milline on kaamerate koostöö piltide kogumisel. Suure väljundiga läbivooluküvetitel on 864 paani.

Tabel 2 Läbivooluküveti paanid

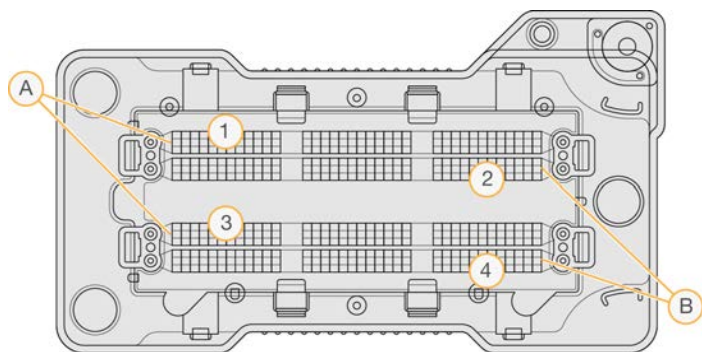
Läbivooluküveti komponendid	Suur väljund	Kirjeldus
Rajad	4	Rada on eriotstarbeliste sisend- ja väljundportidega füüsiline kanal.
Pinnad	2	Läbivooluküvett hõivatakse kahel pinnal, üleval ja all. Ühe paani ülemine pind hõivatakse, seejärel hõivatakse sama paani alumine osa, enne kui liigutakse järgmise paani juurde.
Vaalusid rajas	3	Vaal on paanide veerg rajas.

Läbivooluküveti komponendid	Suur väljund	Kirjeldus
Kaamera segmendid	3	Seade kasutab läbivooluküveti hõivamiseks iga raja jaoks kuut kaamerat kolme segmendiga.
Paanide arv vaalus kaamera segmendi kohta	12	Paan on läbivooluküveti piirkond, mida kaamera näeb ühe pildina.
Hõivatud paanide arv kokku	864	Paanide koguarv võrdub rajad × pinnad × vaalud × kaamerasegmenidid × paanid vaalu kohta segmendi kohta.

Raja nummerdamine

Rajad 1 ja 3, nimetatakse radade paariks A, hõivamine toimub samaaegselt. Rajad 2 ja 4, nimetatakse radade paariks B, hõivamine toimub pärast paari A hõivamise lõpetamist.

Joonis 31 Raja nummerdamine

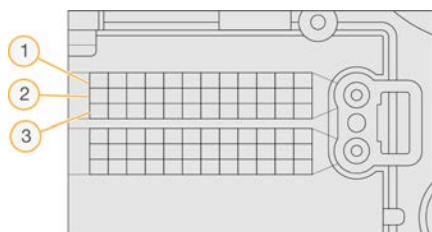


- A Radade paar A – rajad 1 ja 3
- B Radade paar B – rajad 2 ja 4

Vaalude nummerdamine

Iga rada hõivatakse kolmes vaalus. Vaalud on suure väljundiga läbivooluküvetide jaoks nummerdatud järjestuses 1–3.

Joonis 32 Vaalude nummerdamine

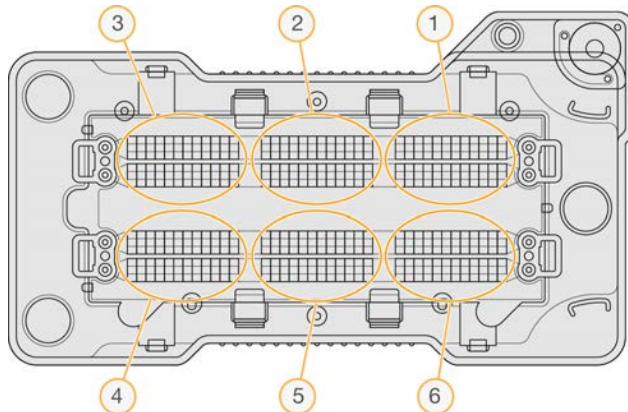


Kaamera nummerdamine

Seade NextSeq 550Dx kasutab läbivooluküveti hõivamiseks kuut kaamerat.

Kaamerad on nummerdatud 1–6. Kaamerad 1–3 hõivamisrajal 1. Kaamerad 4–6 hõivamisrajal 3. Kui radadel 1 ja 3 on hõivamine tehtud, liigub hõivamismoodul X-teljel hõivamisradadele 2 ja 4.

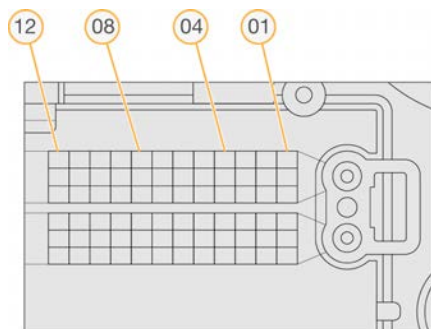
Joonis 33 Kaamera ja segmendi nummerdamine (näidatud on suure väljundiga läbivooluküvett)



Paanide nummerdamine

Igas kaamera segmendis on igas vaalus 12 paani. Paanid on nummerdatud kui 01–12, olenemata vaalu numbrist või kaamera segmendist, ja see on tähistatud kahekohalise arvuga.

Joonis 34 Paani nummerdamine



Kogu paani number koosneb viiest arvust, et tähistada asukohta järgnevalt:

- ▶ **pind** – 1 tähistab ülemist pinda, 2 tähistab alumist pinda;
- ▶ **vaal** – 1, 2 või 3;
- ▶ **kaamera** – 1, 2, 3, 4, 5 või 6;
- ▶ **paan** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 või 12.

Näide: paani number 12508 näitab ülemist pinda, vaalu 2, kaamerat 5 ja paani 8.

Täispikka 5-kohalist paani arvu kasutatakse pisipiltides ja empiirilistes faasimisfailides faili nimena. Lisateavet vaadake jaotisest *Sekveneerimise väljundfailid* leheküljel 55.

Väljundkaustade struktuur

Operatsioonitarkvara loob väljundkausta nime automaatselt.

📁 Data

📁 Intensities

📁 BaseCalls

📁 L001 – raja 1 aluse nimetuse failid, koondatud tsükli ühte faili.

 L002 – raja 2 aluse nimetuse failid, koondatud tsükli ühte faili.

 L003 – raja 3 aluse nimetuse failid, koondatud tsükli ühte faili.

 L004 – raja 4 aluse nimetuse failid, koondatud tsükli ühte faili.

 L001 – raja 1 koondatud *.locs-failid.

 L002 – raja 2 koondatud *.locs-failid.

 L003 – raja 3 koondatud *.locs-failid.

 L004 – raja 4 koondatud *.locs-failid.

 **Images**

 **Focus**

 L001 – raja 1 fookusepildid.

 L002 – raja 2 fookusepildid.


 L003 – raja 3 fookusepildid.

 L004 – raja 4 fookusepildid.

 **InterOp** – kahendfailid.

 **Logs** – valikulisi etappe kirjeldavad logifailid.

 **Recipe** – kätusele spetsiifiline moodusefail, mille nimi on reaktiivikasseti ID.

 **RTALogs** – logifailid, mis kirjeldavad analüüsi etappe.

 RTAComplete.txt

 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

Skannimise väljundfailid

Faili tüüp	Faili kirjeldus, asukoht ja nimi
GTC-failid	Genotüübi määramise fail. GTC-fail luuakse iga BeadChipil skannitud proovi korral. Failinimi sisaldab võotkoodi ja skannitud proovi. [võotkood]_[proov].gtc
Pildifailid	Pildifailid nimetatakse BeadChipil skannitud ala järgi. Nimi sisaldab võotkoodi, proovi ja jaotist BeadChipil, vaalu ja kuvamiskanalit (punane või roheline). [võotkood]_[proov]_[jaotis]_[vaal]_[kaamera]_[paan]_[kanal].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Võotkood – failinimi algab BeadChipi võotkoodiga. • Proov – BeadChipi ala, mis on nummerdatud reana (ROX) ülalt alla ja veeruna (COX) vasakult paremale. • Jaotis – nummerdatud rida proovis. • Vaal – BeadChipid kuvatakse kattuvate paanide kogumina. Seetõttu kasutatakse jaotise kuvamiseks vaid 1 vaalu. • Kaamera – kaamerat kasutatakse pildi tegemiseks. • Paan – kuvamisala, mis on määratletud kaamera vaateväljana. • Kanal – kanal on kas punane või roheline.

Skannimise väljundkaustade struktuur

📁 [Kuupäev]_[seadme nimi]_[skannimise nr]_[vöötкод]

📁 [Vöötкод]

📁 Config

📄 Effective.cfg – salvestab skannimise ajal kasutatud konfiguratsioonisätted.

📁 Focus – sisaldab skannimise fokuseerimiseks kasutatud pildifaile.

📁 Logs – sisaldab logifaile, milles on loetletud skannimise kõik etapid.

📁 PreScanDiagnosticFiles

📁 [Kuupäev_kellaaeg] Barcode Scan

📄 ProcessedBarcode.jpg – BeadChipi vöötкoodi pilt.

📄 Scanning Diagnostics (logifailid)

📄 PreScanChecks.csv – salvestab automaatse kontrolli tulemused.

📄 GTC-failid – genotüübi määramise failid (1 fail proovi kohta).

📄 IDAT-failid – [valikuline] intensiivsuseandmete failid (2 faili proovi kohta; kumbagi 1 kanali kohta).

📄 Pildifailid – skannitud pildid iga proovi, jaotise, vaalu, kaamera, paani ja kanali kohta.

📄 [Vöötкод]_sample_metrics.csv

📄 [Vöötкод]_section_metrics.csv

📄 ScanParameters.xml

Register

A

- abi
 - dokumendid 1
- abi, tehniline 65
- adapter
 - BeadChipi laadimine 28
 - BeadChipi suund 27
 - ülevaade 5
- algkäivitamine
 - seade 39
- algkäivitus
 - seade 39
- aluse nimetuse failid 55
- aluste nimetamine 53
 - indekseerimise kaalutlused. 54
- analüüs
 - väljundfailid 55
- analüüs, esmane 54
- andmete edastamine
 - skannimisandmed 31
 - universaalne kopeerimisteenus 23

B

- BaseSpace 49
 - sisselogimine 16
- BaseSpace'i konfiguratsioon 21
- BeadChip
 - adapter 5, 27
 - analüüs 1
 - laadimine 28
 - registreerimise tõrge 46
 - tüübid 1
 - võotkoodi ei saa lugeda 46
 - võotkoodi suund 27

D

- Decode File Client 25
 - juurdepääs BeadChipiga 27
 - juurdepääs kontoga 26
- DMAP-i kaust
 - allalaadimine 26
 - Decode File Client 25
- dokumendid 1, 65

E

- empiiriline faasimine 52
- ennetav 33
- ennetav hooldus 33
- eraldiseisev konfiguratsioon 21

F

- faasimine, eelfaasimine 52
- failide filtreerimine 55
- formamiid, asend 6 20

G

- GTC-failid 58

H

- heli 10
- hooldus 33
- hõivamiseksioon 3

I

- ikoonid
 - olek 4
 - tõrked ja hoiatused 4
- indekseerimise kaalutlused 54
- intensiivsus 53
- InterOp-failid 41, 55

J

- juhtimistarkvara 3
- jälgimisteenus Illumina Proactive 49

K

- kaamera nummerdamine 56
- kasutaja hangitavad kulutarvikud 11
- kasutajanimi ja parool 9
- kasutatud reaktiivid
 - kasutusest kõrvaldamine 35
 - kõrvaldamine 17
 - mahuti täis 44
- kausta asukoht 21

- klastri asukoht
 - failid 55
 - malli loomine 52
- klastri loomine 13, 23
- klastrite läbipääsufilter 54
- klaviatuur 10
- klienditugi 65
- komponendid
 - hõivamissektsioon 3
 - olekuriba 3
 - puhvrisektsioon 3
 - reaktiivisektsioon 3
- Konfiguratsioon 49
- konfigureerimise sätted 48
- kulutarvik
 - pesemise kulutarvikud 34
- kulutarvikud 5
 - kulutarvikute pesemine 33
 - laborikvaliteediga vesi 12
 - läbivooluküvett 6
 - puhvrikassett 8
 - reaktiivikassett 7
 - seadme hooldus 11
 - sekveneerimiskäitused 11
- kulutarvikute eemaldamine 11
- kuvamine, kahekanaliline sekveneerimine 53
- käituse kestus 13-14
- käituse mõõdikud 22
- käituse parameetrid
 - BaseSpace'i režiim 21
 - eraldiseisev režiim 21
 - parameetrite redigeerimine 21
- käituse seadistus, täpsem suvand 11
- käituseelne kontroll 22, 29
- käituseelsete kontrollide tõrked 42
- käitusjärgne pesemine 24

L

- laborikvaliteediga vee juhised 12
- locs-failid 55
- lugemi pikkus 13-14
- lugemis olevad tsüklid 13
- läbipääsufilter (PF) 54
- läbivooluküvett
 - hõivamine 56
 - joondustihvtid 16
 - paani nummerdamine 57
 - paanid 55
 - pakendamine 15
 - puhastamine 15

- raja nummerdamine 56
- raja paarid 6
- rehübridiseerimine 44
- vaalu number 56
- ülevaade 6

M

- malli loomine 52
- mõõdikud
 - aluste nimetamine 53
 - intensiivsuse tsüklid 23
 - klastri tiheduse tsüklid 23

N

- naatriumhüpoklorit, pesemine 34

O

- olekuriba 3
- olekuteatiseid 4

P

- paani nummerdamine 57
- pesemine
 - automaatne 24
 - kasutaja hangitavad kulutarvikud 33
 - käsitsi pesemine 33
 - pesemise komponendid 33
- Phredi algoritm 54
- praimeri rehübridiseerimine 44
- puhtusetaseme filter 54
- puhvrikassett 8, 19
- puhvrisektsioon 3

Q

- Q-skoorid 54

R

- raalajas analüüsi tarkvara
 - tulemused 55
- RAID-i tõrketeade 48
- raja nummerdamine 56
- rajapaarid 56

reaalajas analüüsi tarkvara 3

faasimine 52

töövoog 52

reaktiivid

komplekteeritud 5

õige kõrvaldamine 19

reaktiivikassett

mahuti nr 28 34

mahuti nr 6 20

ülevaade 7

reaktiivisektsioon 3

rehübridiseerimine, 1. lugem 44

RFID jälgimine 5

RunInfo.xml 41, 55

RUO-režiim 10

S

seade

algkäivitus 39

avatar 10

hüüdnimi 10

konfigureerimise sätted 48

režiimi tähised 10

taaskäivitamine 39

toitenupp 4

väljalülitamine 39

seadme haldamine

väljalülitamine 39

seadme hooldus

kulutarvikud 11

seadme pesemine 33

seadme väljalülitamine 39

seadmehaldus

väljalülitamine 39

sekveneerimine

kasutaja hangitavad kulutarvikud 11

sekveneerimise töövoog 14, 52

seveneerimine

sissejuhatus 13

signaali puhtus 54

sisendfailid, skannimine

DMAP-i kaust 25

DMAP-i kaust, allalaadimine 26

klastrifailid 25, 47

manifestifailid 25, 47

skannimise väljundfailid

GTC, IDAT 58

süsteemi kasutajanimi ja parool 9

süsteemi sätted 10

T

taaskäivitamine 39

käivitamine 9

tarkvara

automaatne värskendamine 38

konfigureerimise sätted 48

käituse kestus 13-14

käsitsi värskendamine 38

pildianalüüs, aluste nimetamine 3

seadme sees 3

taaskäivitamine 9

tarkvara BlueFuse Multi 1

tarkvara värskendamine 37

tehniline abi 65

toitelüliti 9

toitenupp 4, 9

tsükliid lugemis 13

tõrke tõenäosus 54

tõrked ja hoiatused 4, 51

tõrkeotsing

BeadChipi vootkoodi ei saa lugeda 46

kasutatud reaktiivide mahuti 44

käituseelne kontroll 42

käitusespetsiifilised failid 41

madala kvaliteediga mõõdikud 44

manifesti- ja klustrifailide asendamine 47

skannimise registreerimise tõrge 46

skannimisspetsiifilised failid 42

täpsem laadimissuvand 11

töövoog

BaseSpace'i režiim 21

BaseSpace'i sisselogimine 16

BeadChip 28

eraldiseisev režiim 21

indekseerimise kaalutlused 54

kasutatud reaktiivid 17

käituse kestus 13-14

käituse mõõdikud 22

käituseelne kontroll 22, 29

läbivooluküveti ettevalmistamine 15

läbivooluküvett 16

naatriumhüpoklorit 34

puhvrikassett 19

reaktiivikassett 19

sekveneerimine 52

täpsem laadimissuvand 11

ülevaade 14, 26

U

universaalne kopeerimisteenus 23
uurimisrežiimi algkäivitamine 10

V

vaalu nummerdamine 56
veebikoolitus 1

W

Windows
väljumine 39

V

väljundfailid 55

V

väljundfailid, sekveneerimine 55

V

väljundfailid, skannimine
GTC, IDAT 58

Õ

õhufilter 3, 36

Ü

ühildavus
RFID jälgimine 7
ühilduvad
RFID jälgimine 5
ühilduvus
läbivooluküvett, reaktiivikassett 5

Tehniline tugi

Tehnilise abi saamiseks pöörduge Illumina tehnilise toe poole.

Veebisait: www.illumina.com
E-post: techsupport@illumina.com

Illumina klienditoe telefoninumbrid

Piirkond	Tasuta	Piirkondlik
Põhja-Ameerika	+1 800 809 4566	
Austraalia	+1 800 775 688	
Austria	+43 800 006 249	+43 1928 6540
Belgia	+32 8007 7160	+32 3400 2973
Hiina	40 0066 5835	
Hispaania	+34 911 899 417	+34 800 300 143
Holland	+31 800 022 2493	+31 207 132 960
Hongkong, Hiina	800960230	
Iirimaa	+353 1800 936 608	+353 016950506
Itaalia	+39 800 985 513	+39 236 003 759
Jaapan	080 0111 5011	
Lõuna-Korea	+82 80 234 5300	
Norra	+47 8001 6836	+47 2193 9693
Prantsusmaa	+33 805 102 193	+33 170 770 446
Rootsi	+46 850 619 671	+46 200 883 979
Saksamaa	+49 800 101 4940	+49 893 803 5677
Singapur	+1 800 579 2745	
Soome	+358 800 918 363	+358 974 790 110
Šveits	+41 565 800 000	+41 800 200 442
Taani	+45 8082 0183	+45 8987 1156
Taiwan, Hiina	008 0665 1752	
Uus-Meremaa	08 0045 1650	
Ühendkuningriik	+44 800 012 6019	+44 207 305 7197
Muud riigid	+44 179 953 4000	

Ohutuse andmelehed (SDS-id): saadaval Illumina veebisaidil support.illumina.com/sds.html.

Toote dokumendid: allalaaditavad veebisaidilt support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 USA

+ 1 800 809 ILMN (4566)

+1 85 8202 4566 (väljaspool Põhja-Ameerikat)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

**Kasutamiseks ainult teadusuuringutes.
Mitte kasutada diagnostilistes menetlustes.**

© 2021 Illumina, Inc. Kõik õigused on kaitstud.

illumina[®]