

NextSeq 550Dx i forskningsmodus

Referanseveiledning for instrumentet



Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKkelig FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

© 2021 Illumina, Inc. Med enerett.

Alle varemerker tilhører Illumina, Inc. eller deres respektive eiere. Ytterligere informasjon om varemerker finner du på www.illumina.com/company/legal.html.

Revisjonshistorikk

Dokument	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 1000000041922_nor v03	Oktober 2021	La til en merknad om sju dagers-tidsuret i Kontroller for sekvenseringskjøringer. Oppdaterte Arbeidsprosess for sekvensering ved å legge til avsnitt om å opprette kjøring ved hjelp av Local Run Manager-programvare. Endret stabilitetsgrense. La til Infinium Methylation EPIC til BeadChip-typer. Oppdaterte ikonbilder for å gjenspeile endringer i grensesnittet.
Dokumentnr. 1000000041922 v02	November 2020	Oppdaterte figur i Utføre en manuell vask for å gjenspeile nye reagensvaskekassetter og buffervaskkassetter. Oppdaterte statusfeltinformasjon med flere farger.
Dokumentnr. 1000000041922 v01	Mars 2018	La til informasjon om Illumina Proactive-overvåkningstjenesten i delen Konfigurere systeminnstillinger.
Dokumentnr. 1000000041922 v00	November 2017	Første versjon.

Innholdsfortegnelse

Kapittel 1 Oversikt	1
Om denne veiledningen	1
Innledning	1
Tilleggsressurser	2
Instrumentkomponenter	3
Oversikt over reagenssett	6
Oversikt over forbruksmaterieell for sekvensering	6
Kapittel 2 Komme i gang	11
Starte instrumentet	11
Tilpasse systeminnstillinger	12
Brukerlevert forbruksmaterieell og utstyr	13
Kapittel 3 Sekvensering	15
Innledning	15
Arbeidsprosess for sekvensering	16
Klargjøre reagenskassetten	16
Klargjøre strømningscellen	17
Klargjøre biblioteker for sekvensering	17
Konfigurere en sekvenseringskjøring	18
Overvåke kjøringens fremdrift	24
Automatisk etter kjøring-vask	26
Kapittel 4 Skanne	27
Innledning	27
Arbeidsprosess for skanning	28
Laste ned DMAP-mappen	28
Laste BeadChip-en på adapteren	29
Konfigurere en skanning	30
Overvåke skannefremdrift	32
Kapittel 5 Vedlikehold	35
Innledning	35
Utføre en manuell vask	35
Skifte ut luftfilter	38
Programvareoppdateringer	39
Alternativer for omstart og å slå av	41
Vedlegg A Feilsøking	43
Innledning	43
Feilsøkingfiler	43
Løse feil under den automatiske kontrollen	44
Brukt reagensbeholder er full	46

Arbeidsprosess for rehybridisering	46
BeadChip og skannefeil	48
Tilpasse oppskrifter og oppskriftsmapper	49
RAID-feilmelding	50
Konfigurere systeminnstillinger	50
Vedlegg B Sanntidsanalyse	53
Oversikt over sanntidsanalyse	53
Arbeidsprosess for sanntidsanalyse	54
Vedlegg C Utgangsfiler og -mapper	57
Sekvenseringsutdatafiler	57
Utdatamappens struktur	60
Skanne utdatafiler	61
Skanne utdatamappens struktur	61
Indeks	63
Teknisk hjelp	67

Kapittel 1 Oversikt

Om denne veiledningen	1
Innledning	1
Tilleggsressurser	2
Instrumentkomponenter	3
Oversikt over reagenssett	6
Oversikt over forbruksmaterieell for sekvensering	6

Om denne veiledningen

Denne referanseveiledningen for instrumentet inneholder instruksjoner om hvordan du bruker NextSeq 550Dx-instrumentet i forskningsmodus (RUO).

Innledning

Sekvenseringsfunksjoner

- ▶ **High-throughput sequencing** (Sekvensering med høy gjennomstrømning) – NextSeq™ 550Dx-instrumentet gjør det mulig å sekvensere DNA-biblioteker.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** (Sanntidsanalyse (RTA)) – Utfører bildebehandling og basebetegnelse. Du finner mer informasjon under *Sanntidsanalyse på side 53*.
- ▶ **On-instrument data analysis capability** (Dataanalysefunksjonalitet på instrumentet) – Programvareanalysemoduler for analyseprogramvare som er spesifisert for kjøringen, kan analysere kjøringens data.
- ▶ **Dual Boot** (Dobbeltoppstart) – NextSeq 550Dx-instrumentet inneholder egne harddisker som støtter diagnostisk modus (Dx) og forskningsmodus (RUO).

Arrayskannefunksjoner

- ▶ **Integrert arrayskanning i kontrollprogramvare** – NextSeq 550Dx-instrumentet muliggjør en overgang mellom arrayskanning og sekvensering med høy gjennomstrømning på det samme instrumentet med samme kontrollprogramvare.
- ▶ **Utvidet avbildningsfunksjonalitet** – NextSeq 550Dx-instrumentet inneholder programvare og stadiendringer som muliggjør avbildning av et større område for å gjøre plass til BeadChip-skanning.
- ▶ **BeadChip-typer** – BeadChip-typer omfatter CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC og Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip-adapter** – En gjenbrukbar BeadChip-adapter muliggjør enkel lasting av en BeadChip på instrumentet.
- ▶ **Dataanalyse** – Bruk BlueFuse® Multi-programvaren til analyse av arraydata.

Tilleggsressurser

Følgende dokumentasjon er tilgjengelig for nedlasting fra Illuminas nettsted.

Ressurs	Beskrivelse
<i>Veiledning for klargjøring av stedet for NextSeq 550Dx-instrumentet (dokumentnr. 100000009869)</i>	Gir spesifikasjoner for laboratorieplass, elektriske krav og miljømessige hensyn.
<i>Sikkerhets- og samsvarsveiledning for NextSeq 550Dx-instrumentet (dokumentnr. 100000009868)</i>	Gir informasjon om operative sikkerhetshensyn, samsvarserklæringer og instrumentdokumentasjon.
<i>Samsvarsveiledning for RFID-leser (dokumentnr. 1000000030332)</i>	Gir informasjon om RFID-leseren i instrumentet, samsvarssertifiseringer og sikkerhetshensyn.
<i>Referanseveiledning for NextSeq 550Dx-instrumentet i forskningsmodus (dokumentnr. 1000000041922)</i>	Gir instruksjoner om bruk av instrumentet og prosedyrer for feilsøking. Benyttes når NextSeq 550Dx-instrumentet brukes i forskningsmodus med NextSeq-kontrollprogramvare (NCS) v3.0.
<i>Veiledning for NextSeq 550-systemet (dokumentnr. 15069765)</i>	Gir instruksjoner om bruk av instrumentet og prosedyrer for feilsøking. Benyttes når NextSeq 550Dx-instrumentet brukes i forskningsmodus med NextSeq-kontrollprogramvare (NCS) v4.0 eller nyere.
<i>Veiledning for NextSeq 550-systemet</i>	Gir en oversikt over instrumentkomponenter, instruksjoner for bruk av instrumentet samt prosedyrer for vedlikehold og feilsøking.
<i>Hjelp for BaseSpace</i>	Gir informasjon om hvordan du bruker BaseSpace™ Sequence Hub og tilgjengelige analysealternativer.

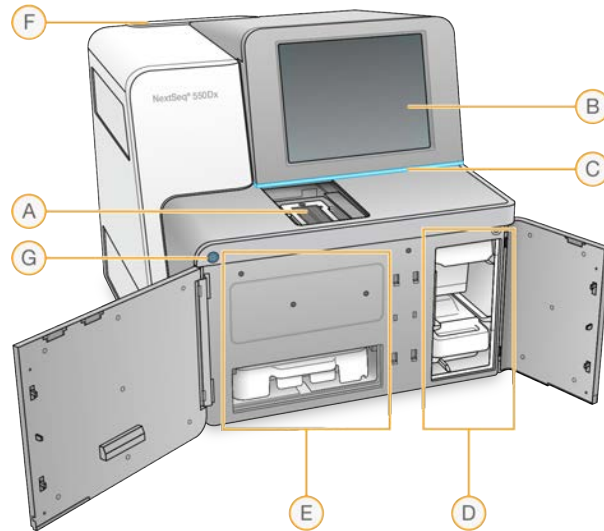
Gå inn på [NextSeq 550Dx-instrumentets støtteside](#) på Illuminas nettsted hvis du vil ha tilgang til dokumentasjon, programvarenedlastinger, opplæring på Internett og ofte stilte spørsmål.

Gå inn på [NextSeq 550Dx-støttesidene](#) på Illuminas nettsted hvis du vil ha tilgang til dokumentasjon, programvarenedlastinger, opplæring på Internett og ofte stilte spørsmål.

Instrumentkomponenter

NextSeq 550Dx-instrumentet omfatter en berøringskjermmonitor, en statuslinje og 4 kamre.

Figur 1 Instrumentkomponenter



- A **Avbildningskammer** – Inneholder strømningscellen under en sekvenseringskjøring.
- B **Berøringskjermmonitor** – Gjør konfigurasjon og oppsett mulig på instrumentet ved hjelp av operativprogramvarens grensesnitt.
- C **Statusfelt** – Angir instrumentstatus som prosesserer (blå), krever tilsyn (oransje), klar for sekvensering (grønn), initialiserer (vekslende blå og hvit), ikke ennå initialisert (hvit) eller krever vask innen de neste 24 timene (gul).
- D **Bufferkammer** – Inneholder bufferkassetten og den brukte reagensbeholderen.
- E **Reagenskammer** – Inneholder reagenskassetten.
- F **Luftfilterkammer** – Inneholder luftfilteret. Du oppnår tilgang til filteret fra baksiden av instrumentet.
- G **Av/på-knapp** – Slår instrumentet og instrumentdatamaskinen på eller av.

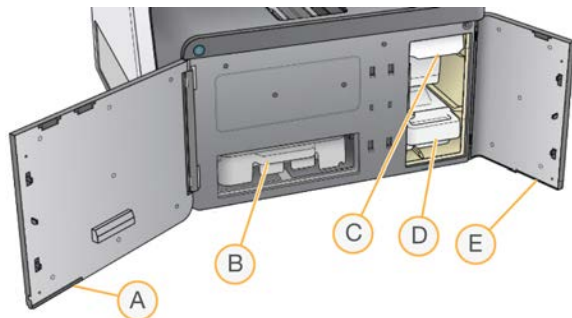
Avbildningskammer

Avbildningskammeret rommer stadiet, som omfatter tre innrettingspinner for posisjonering av strømningscellen. Når strømningscellen er lastet, lukker avbildningskammerdøren seg automatisk og flytter komponenter i stilling.

Reagens- og bufferkamre

Å konfigurere en sekvenseringskjøring på NextSeq 550Dx-instrumentet krever tilgang til reagenskammeret og bufferkammeret for å laste forbruksmaterieell for kjøring og tømme den brukte reagensbeholderen.

Figur 2 Reagens- og bufferkamre



- A **Reagenskammerdør** – Lukker reagenskammeret med en sperre under døren nederst til høyre. Reagenskammeret rommer reagenskassetten.
- B **Reagenskasset** – Reagenskassetten er forhåndsfylt forbruksmaterieell til engangsbruk.
- C **Bufferkasset** – Bufferkassetten er forhåndsfylt forbruksmaterieell til engangsbruk.
- D **Brukt reagensbeholder** – Brukte reagenser blir samlet for avhending etter hver kjøring.
- E **Bufferkammerdør** – Lukker bufferkammeret med en sperre under dørens nedre venstre hjørne.

Luftfilterkammer

Luftfilterkammeret rommer luftfilteret, og er plassert på baksiden av instrumentet. Skift ut luftfilteret hver 90. dag. Du finner informasjon om å skifte ut filteret under [Skifte ut luftfilter på side 38](#).



NextSeq 550Dx-programvare




Instrumentprogramvaren inneholder integrerte applikasjoner som utfører sekvenseringskjøringer.

- ▶ **NextSeq-kontrollprogramvare (NCS)** – Kontrollprogramvaren veileder deg gjennom trinnene for å konfigurere en sekvenseringskjøring.
- ▶ **Programvare for sanntidsanalyse (RTA)** – RTA utfører bildeanalyse og basebetegnelse under kjøringen. NextSeq 550Dx-instrumentet bruker RTA v2, som inneholder viktig arkitektur- og funksjonsforskjeller i forhold til tidligere versjoner. Du finner mer informasjon under [Sanntidsanalyse på side 53](#).

Statusikoner

Et statusikon øverst i høyre hjørne av NCS signaliserer eventuelle tilstandsendringer under kjøringssoppsett eller under kjøringen.

Statusikon	Statusnavn	Beskrivelse
	Status OK	Systemet er normalt.
	Behandler	Systemet behandler.

Statusikon	Statusnavn	Beskrivelse
	Advarsel	Det har oppstått en advarsel. Advarsler stopper ikke en kjøring eller krever tiltak før du fortsetter.
	Feil	Det har oppstått en feil. Feil krever tiltak før du fortsetter med kjøringen.
	Behov for service	Det har oppstått en varsling som krever oppmerksomhet. Du finner mer informasjon i meldingen.

Når det oppstår en tilstandsendring, blinker ikonet for å varsle deg. Velg ikonet for å vise en beskrivelse av tilstanden. Velg **Acknowledge** (Godta) for å akseptere meldingen og **Close** (Lukk) for å lukke dialogboksen.

MERK

Hvis du kvitterer for en melding, tilbakestilles ikonet, og meldingen blir utilgjengelig. Meldingen er fortsatt synlig for brukeren hvis ikonet velges, men den forsvinner når NCS startes på nytt.

Av/på-knapp

Av/på-knappen foran på NextSeq 550Dx slår på strømmen til instrumentet og instrumentdatamaskinen. Av/på-knappen utfører følgende handlinger avhengig av strømtilstanden til instrumentet. NextSeq 550Dx starter som standard i diagnostisk modus.

Du finner informasjon om første oppstart av instrumentet under *Starte instrumentet på side 11*.

Du finner informasjon om å slå av instrumentet under *Slå av instrumentet på side 41*.

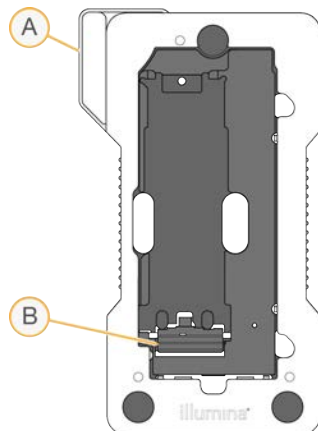
Strømtilstand	Tiltak
Instrumentet er slått av	Trykk på knappen for å slå på strømmen.
Instrumentet er slått på	Trykk på knappen for å slå av strømmen. En dialogboks vises i skjermbildet for å bekrefte at instrumentet slås av.
Instrumentet er slått på	Trykk på og hold inne av/på-knappen i 10 sekunder for å slå instrumentet og instrumentdatamaskinen brått av. Instrumentet skal kun slås av på denne måten hvis det ikke svarer.

MERK Hvis instrumentet slås av under en sekvenseringskjøring, avsluttes kjøringen umiddelbart. Å avslutte en kjøring, er endelig. Forbruksmaterieell for kjøring kan ikke brukes på nytt, og sekvenseringsdata fra kjøringen lagres ikke.

Oversikt over gjenbrukbar BeadChip-adapter

Den gjenbrukbare BeadChip-adapteren rommer BeadChip-en under skanning. BeadChip-en holdes på plass i den forsenkede hyllen i adapteren av festeklipsen. Deretter lastes BeadChip-en på stadiet i avbildningskammeret.

Figur 3 Gjenbrukbar BeadChip-adapter



- A BeadChip-adapter
- B Festeklips

Oversikt over reagenssett

Oversikt over forbruksmaterieell for sekvensering

Forbruksmaterieellet for sekvensering som er nødvendig for å kjøre NextSeq 550Dx leveres som et eget sett til engangsbruk. Hvert sett inneholder én strømningsselle, en reagenskassett, en bufferkassett og bibliotekfortynningsbuffer. Du finner mer informasjon i pakningsvedlegget for *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 sykluser)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 sykluser)* eller *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 sykluser)*.

Strømningssellen, reagenskassetten og bufferkassetten bruker radiofrekvensidentifikasjon (RFID) for nøyaktig sporing og kompatibilitet for forbruksmaterieell.

FORSIKTIG

Settene NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 krever NOS 1.3 eller nyere for at instrumentet skal godta v2.5-strømningssellekassetten. Fullfør programvareoppdateringer før du klargjør prøver og forbruksmaterieell slik at du unngår at reagenser og/eller prøver går til spille.



MERK

Oppbevar forbruksmaterieell for sekvensering i de respektive eskene frem til de skal brukes.

Settcompatibilitetsmerking

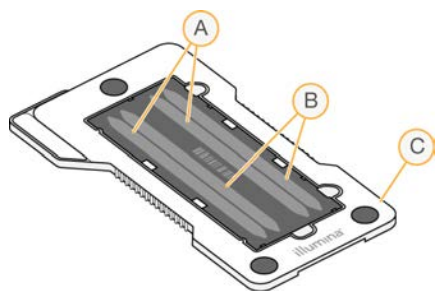
Settkomponenter er merket med fargekodede indikatorer for å vise kompatibilitet mellom strømningsseller og reagenskassetter. Du må alltid bruke en kompatibel reagenskassett og strømningsselle. Bufferkassetten er universell.

Hver strømningsselle og reagenskassett er merket med **High** (Høy) eller **Mid** (Middels). Du må alltid kontrollere etiketten når du klargjør forbruksmaterieell for en kjøring.

Setttype	Merking på etikett
Settkomponenter med høy ytelse	
Settkomponenter med middels ytelse	

Strømningscelleoversikt

Figur 4 Strømningscellekasset



- A Banepar A – bane 1 og 3
- B Banepar B – bane 2 og 4
- C Strømningscellekassettramme

Strømningscellen er et glassbasert substrat der klynger genereres og sekvenseringsreaksjonen utføres. Strømningscellen er innkapslet i en strømningscellekasset.

Strømningscellen inneholder 4 baner som avbildes parvis.

- ▶ Bane 1 og 3 (banepar A) avbildes samtidig.
- ▶ Bane 2 og 4 (banepar B) avbildes når avbildning av banepar A er fullført.

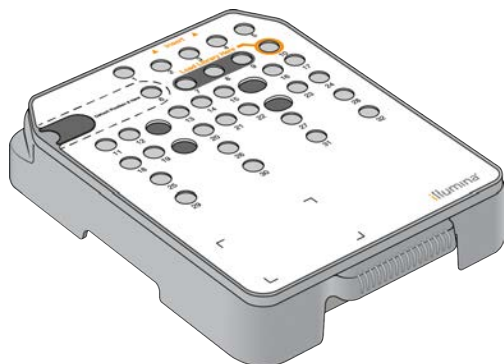
Selv om strømningscellen har 4 baner, sekvenseres kun et enkelt bibliotek eller sett med sammenslåtte biblioteker på strømningscellen. Biblioteker lastes på reagenskassetten fra en enkelt brønn, og overføres automatisk til strømningscellen til alle 4 baner.

Hver bane avbildes i små avbildningsområder som kalles fliser. Du finner mer informasjon under [Strømningscellefliser på side 57](#).

Oversikt over reagenskasset

Reagenskassetten er forbruksmateriell til engangsbruk med RFID-sporing og folieforseglede brønner som er forhåndsfylte med klynge- og sekvenseringsreagenser.

Figur 5 Reagenskasset



Reagenskassetten omfatter en utpekt brønn for lasting av klargjorte biblioteker. Når kjøringen har begynt, overføres biblioteker automatisk fra brønnen til strømningscellen.

Flere brønner er forbeholdt den automatiske etter kjøring-vasken. Vaskeløsning pumpes fra bufferkassetten til de forbeholdte brønnene gjennom systemet, og deretter til de brukte reagensbeholderne.

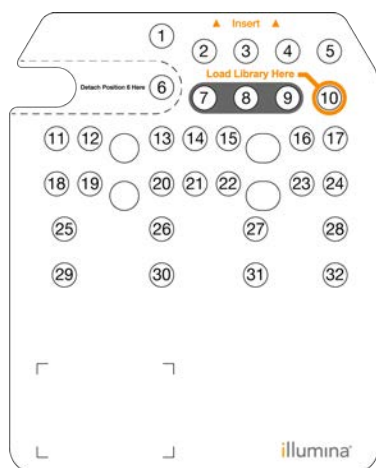


ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Du finner mer informasjon knyttet til helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

Forbeholdte brønner

Figur 6 Nummererte brønner



Posisjon	Beskrivelse
7, 8 og 9	Forbeholdt valgfrie, tilpassede primere
10	Laste inn biblioteker

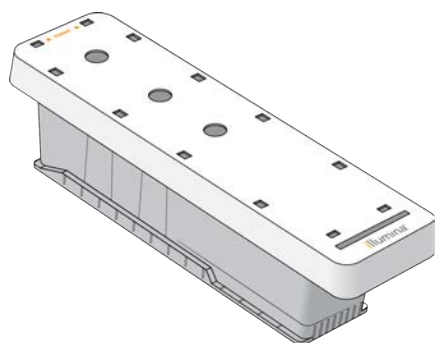
Fjernbar brønn i posisjon nr. 6

Den forhåndsfylte reagenskassetten omfatter en denatureringsreagens i posisjon 6 som inneholder formamid. Brønnen i posisjon 6 kan fjernes for å forenkle sikker avhending av eventuell ubrukt reagens etter sekvenseringskjøringen. Du finner mer informasjon under *Fjerne brukt brønn fra posisjon 6 på side 22*.

Oversikt over bufferkassetten

Bufferkassetten er forbruksmaterieil til engangsbruk, som inneholder tre brønner som er forhåndsfylt med buffere og vaskeløsning. Innholdet i bufferkassetten er tilstrekkelig til å sekvensere én strømningscelle.

Figur 7 Bufferkassetten



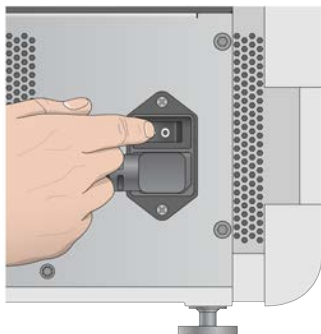
Kapittel 2 Komme i gang

Starte instrumentet	11
Tilpasse systeminnstillinger	12
Brukerlevert forbruksmaterieell og utstyr	13

Starte instrumentet

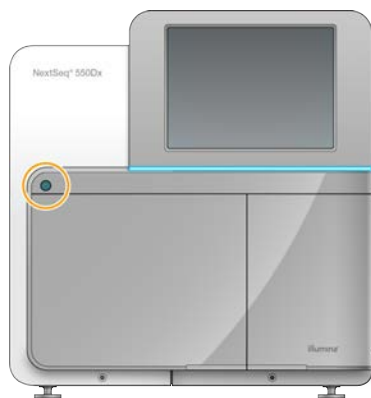
Sett strømvippebryteren i stilling I (på).

Figur 8 Strømbryter på baksiden av instrumentet



- 1 Trykk på av/på-knappen over reagenskammeret. Av/på-knappen slår på strømmen til instrumentet, og starter den integrerte instrumentdatamaskinen og programvaren.

Figur 9 Av/på-knapp på forsiden av instrumentet



- 2 Vent til operativsystemet er ferdig med innlastingen. NextSeq-kontrollprogramvare (NCS) starter og initialiserer systemet automatisk. Når initialiseringstrinnet er fullført, åpnes startskjermbildet.
- 3 Angi brukernavnet og passordet ditt for Local Run Manager. Du finner informasjon om passord under *Brukerpassord på side 1*. Du finner informasjon om å opprette en konto i Local Run Manager under *Administrative innstillinger og oppgaver på side 1*.
- 4 Velg **Login** (Logg på). Startskjermbildet åpnes med ikonene Sequence (Sekvens), Local Run Manager, Manage Instrument (Håndter instrument) og Perform Wash (Utfør vask).

Instrumentmodusindikatorer

Standardmodusen for NextSeq 550Dx er diagnostisk modus. Følgende i NCS-skjermbildet angir modusen til instrumentet.

Modus	Startskjermbilde	Fargelinje	Statusikonets retning
Diagnostisk modus	Velkommen til NextSeqDx	Blå	Horisontal
Forskningsmodus	Velkommen til NextSeq	Oransje	Vertikal

Tilpasse systeminnstillinger

Operativprogramvaren omfatter systeminnstillinger som kan tilpasses for instrumentidentifisering, inndatapreferanser, lydinnstillinger og plassering av utgangsmappe. Informasjon om hvordan du endrer nettverkskonfigurasjonsinnstillinger finnes under *Konfigurere systeminnstillinger på side 50*.

Tilpasningsalternativer:

- ▶ Tilpasse instrumentidentifisering (avatar og kallenavn)
- ▶ Konfigurere inndataalternativ og lydindikator
- ▶ Konfigurere alternativer for kjøringssoppsett
- ▶ Alternativer for å slå av
- ▶ Konfigurere instrumentstart etter før kjøring-kontroll
- ▶ Velge å sende instrumentytelsesdata til Illumina
- ▶ Angi en kjøringssutgangsmappe

Tilpasse avatar og kallenavn for instrumentet

- 1 Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument) i startskjermbildet.
- 2 Velg **System Customization** (Systemtilpasning).
- 3 Hvis du vil tilordne et foretrukket bilde for instrumentet, velger du **Browse** (Bla gjennom) og navigerer til bildet.
- 4 I feltet Nick Name (Kallenavn) angir du et foretrukket navn for instrumentet.
- 5 Velg **Save** (Lagre) for å lagre innstillingene og gå til neste skjermbilde. Bildet og navnet vises øverst i venstre hjørne av hvert skjermbilde.

Konfigurere tastaturalternativ og lydindikator

- 1 Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument) i startskjermbildet.
- 2 Velg **System Customization** (Systemtilpasning).
- 3 Aktiver tastaturet på skjermen for inndata til instrumentet ved å velge avmerkingsboksen **Use on-screen keyboard** (Bruk tastatur på skjermen).
- 4 Slå på lydindikatorerne for følgende hendelser ved å velge avmerkingsboken **Play audio** (Spill av lyd).
 - ▶ Når instrumentet startes
 - ▶ Når en kjøring startes
 - ▶ Når visse feil oppstår
 - ▶ Når brukermedvirkning er nødvendig
 - ▶ Når en kjøring er ferdig

- 5 Velg **Save** (Lagre) for å lagre innstillingene og gå til neste skjermbilde.

Konfigurere alternativer for kjøringssoppsett

- 1 Velg **System Customization** (Systemtilpasning) i skjermbildet Manage Instrument (Håndter instrument).
- 2 Aktiver alternativet for å laste inn alt forbruksmateriell for kjøring fra et enkelt skjermbilde ved å velge avmerkingsboksen **Use Advanced Load Consumables** (Bruk avansert innlasting av forbruksmateriell).
- 3 Hvis du velger **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Hopp over bekreftelse av før kjøring-kontroll), startes en sekvensering automatisk etter en bestått automatisk kontroll.
- 4 Velg **Save** (Lagre) for å lagre innstillingene og avslutte skjermbildet.

Konfigurere alternativet for automatisk skylling

- 1 Velg **System Customization** (Systemtilpasning) i skjermbildet Manage Instrument (Håndter instrument).
- 2 Skyll ubrukte reagenser fra reagenskassetten til den brukte reagensbeholderen automatisk etter hver kjøring ved å velge avmerkingsboksen **Purge Consumables at End of Run** (Skyll forbruksmateriell på slutten av kjøring).

MERK Å skylle forbruksmateriell automatisk gjør at arbeidsprosessen tar lengre tid.

- 3 Velg **Save** (Lagre) for å lagre innstillingene og avslutte skjermbildet.

Brakerlevert forbruksmateriell og utstyr

Følgende forbruksmateriell og utstyr brukes på NextSeq 550Dx-instrumentet. Følgende forbruksmateriell og utstyr brukes til klargjøring av forbruksmateriell, sekvensering og instrumentvedlikehold. Se *veiledning for NextSeq 550-systemet* for mer informasjon.

Forbruksmateriell for sekvensering

Forbruksmateriell	Leverandør	Formål
Spritservietter, 70 % isopropylalkohol eller etanol, 70 %	VWR, katalognr. 95041-714 (eller tilsvarende) Generell laboratorieleverandør	Rengjøring av strømningscelle og generell bruk
Laboratorieklut, lavt loinnhold	VWR, katalognr. 21905-026 (eller tilsvarende)	Rengjøring av strømningscelle og generell bruk

Forbruksmateriell for vedlikehold og feilsøking

Forbruksmateriell	Leverandør	Formål
NaOCl, 5 % (natriumhypokloritt)	Sigma-Aldrich, katalognr. 239305 (eller tilsvarende laboratoriekvalitet)	Vask av instrumentet ved bruk av manuell vask etter kjøring; fortynnet til 0,12 %.
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalognr. P7949	Vask av instrumentet ved bruk av alternativer for manuell vask; fortynnet til 0,05 %.
Vann, laboratoriekvalitet	Generell laboratorieleverandør	Vask av instrumentet (manuell vask)
Luftfilter	Illumina, katalognr. 20022240	Rengjøring av luften instrumentet trekker inn for avkjøling

Retningslinjer for vann av laboratoriekvalitet

Det må alltid brukes vann av laboratoriekvalitet eller deionisert vann for å utføre instrumentprosedyrer. Aldri bruk vann fra springen. Bruk kun vann av følgende kvalitet eller tilsvarende:

- ▶ Deionisert vann
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 Megohm (M Ω) vann
- ▶ Milli-Q-vann
- ▶ Super-Q-vann
- ▶ Vann til molekylærbiologi

Utstyr

Vare	Kilde
Fryser, -25 °C til -15 °C, frostfritt	Generell laboratorieleverandør
Kjøleskap, 2 °C til 8 °C	Generell laboratorieleverandør

Kapittel 3 Sekvensering

Innledning	15
Arbeidsprosess for sekvensering	16
Klargjøre reagenskassetten	16
Klargjøre strømningscellen	17
Klargjøre biblioteker for sekvensering	17
Konfigurere en sekvenseringskjøring	18
Overvåke kjøringens fremdrift	24
Automatisk etter kjøring-vask	26

Innledning

Når du skal utføre en sekvenseringskjøring på NextSeq 550Dx-instrumentet, klargjør du en reagenskassetten og strømningscelle, og deretter følger du meldingene i programvaren for å konfigurere og starte kjøringen. Klyngegenerering og sekvensering utføres på instrumentet. Etter kjøringen begynner en instrumentvask automatisk ved hjelp av komponentene som allerede er lastet på instrumentet.

Klyngegenerering

Under klyngegenereringen blir enkle DNA-molekyler bundet til overflaten på strømningscellen og deretter forsterket for å danne klynger.

Sekvensering

Klynger avbildes ved hjelp av tokenalssekvenseringskjemi og filterkombinasjoner som er spesifikke for hver av de fluorescensmerkede nukleotidene. Når avbildning av en flis på strømningscellen er fullført, avbildes den neste flisen. Prosessen gjentas for hver sekvenseringssyklus. Etter bildeanalysen utfører programvaren basebetegnelse, filtrering og kvalitetsscoring.

Analyse

Mens kjøringen pågår, overfører operativprogramvaren automatisk basebetegnelsesfiler (BCL) til den angitte utdataplasseringen for sekundæranalyse.

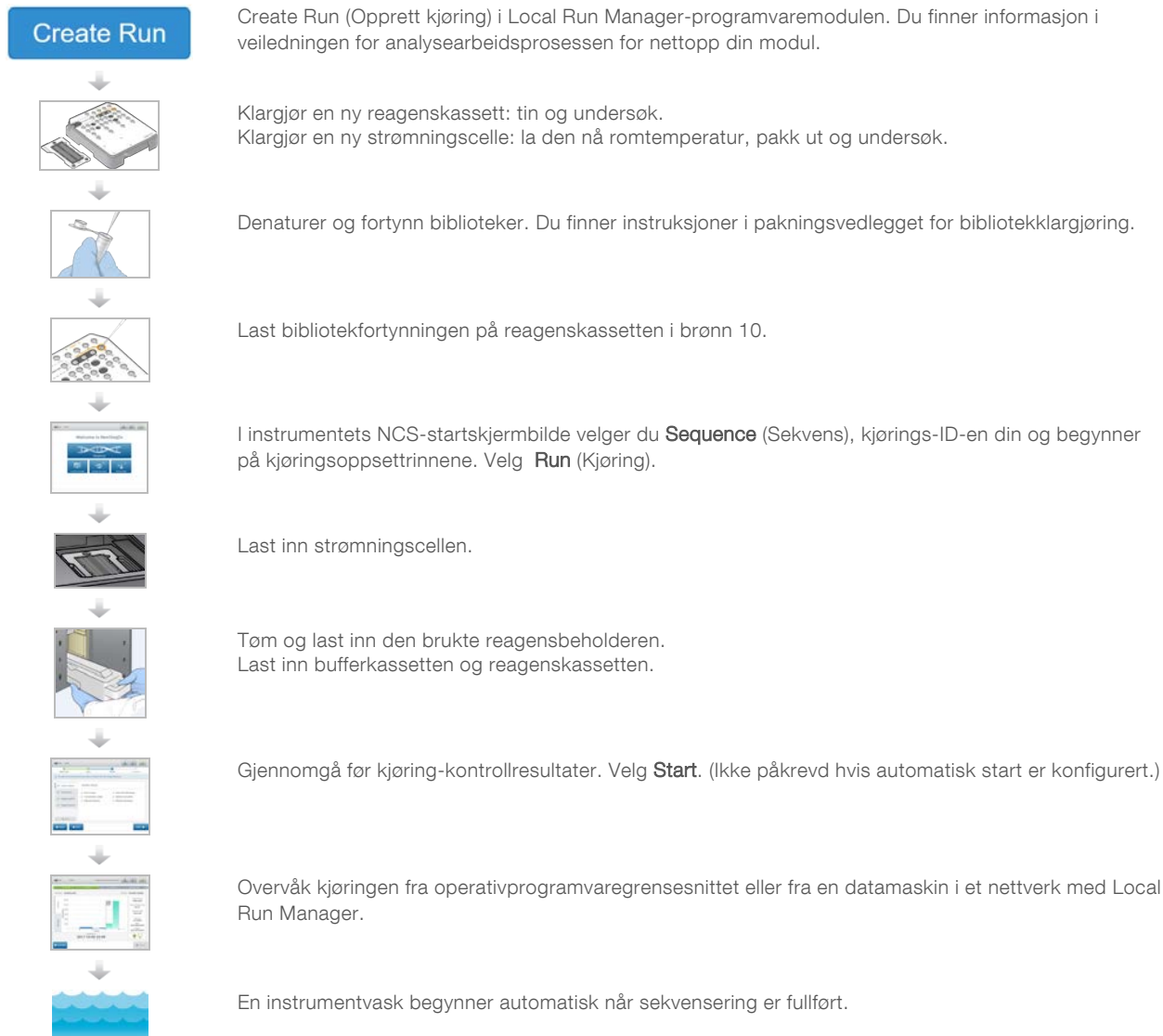
Sekvenseringskjøringens varighet

Sekvenseringskjøringens varighet avhenger av antall sykluser som utføres. Maksimal kjøringsslengde er en paired-end-kjøring på 150 sykluser for hver avlesning (2 x 150), pluss opptil 8 sykluser hver for 2 indeksavlesninger.

Antall sykluser i en avlesning

I en sekvenseringskjøring er antall sykluser som utføres i en avlesning 1 syklus mer enn antall sykluser som analyseres. Eksempel: En paired-end 150-sykluskjøring utfører avlesninger av 151-sykluser (2 x 151) med totalt 302 sykluser. På slutten av kjøringen blir 2 x 150 sykluser analysert. Denne ekstra syklusen kreves til beregninger av faser og forfaser.

Arbeidsprosess for sekvensering



Klargjøre reagenskassetten

Følg retningslinjene for reagenskassetter nøye for vellykket sekvensering.

- 1 Ta reagenskassetten ut fra oppbevaring på $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 2 Velg en av følgende fremgangsmåter for å tine reagensene. Ikke senk kassetten ned i væske. Når kassetten er tint, må den tørkes før du går videre til neste trinn.

Temperatur	Tinetid	Stabilitetsgrense
15 °C til 30 °C vannbad	60 minutter	Skal ikke overskride 6 timer
2 °C til 8 °C	7 timer	Skal ikke overskride 7 dager

MERK Hvis mer enn én kassett tiner i samme vannbad, må du beregne lengre tiningstid.

- 3 Snu kassetten fem ganger for å blande reagensene.
- 4 Inspiser bunnen på kassetten for å kontrollere at reagensene er tint og uten bunnfall. Bekreft at posisjonene 29, 30, 31 og 32 er tint, ettersom de er de største og tar lengst tid å tine.
- 5 Dunk den forsiktig mot benken for å fjerne luftbobler.
De beste resultatene oppnås ved å laste inn prøven og konfigurere kjøringen med en gang.



ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Du finner mer informasjon knyttet til helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

Klargjøre strømningcellen

- 1 Fjern en ny strømningcellerboks fra oppbevaring ved 2 °C til 8 °C.
- 2 Fjern foliepakningen fra boksen, og la den stå i romtemperatur i 30 minutter.

MERK Hvis foliepakningen er intakt, kan strømningcellen oppbevares ved romtemperatur i opptil 12 timer. Unngå gjentatt avkjøling og oppvarming av strømningcellen.

Klargjøre biblioteker for sekvensering

Denaturer og fortynn bibliotekene dine til et lastevolum på 1,3 ml. I praksis kan lastekonsentrasjonen variere avhengig av bibliotekklargjøring og kvantifiseringsmetoder. Fortynning av prøvebiblioteker avhenger av kompleksiteten av oligonukleotidsammenslåinger. Hvis du vil ha mer informasjon om hvordan du klargjør prøvebiblioteker for sekvensering, inkludert bibliotekfortynning og -sammenslåing, finner du dette i avsnittet Bruk for gjeldende bibliotekklargjøringssett. Det kreves optimalisering av gruppetetthet på NextSeq 550Dx.

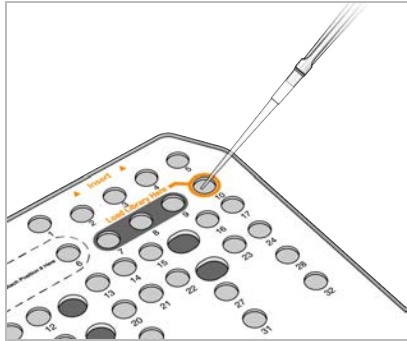
Denaturere og fortynne biblioteker

Denaturer og fortynn bibliotekene dine til et lastevolum på 1,3 ml og en lastekonsentrasjon på 1,8 pM. I praksis kan lastekonsentrasjonen variere avhengig av bibliotekklargjøring og kvantifiseringsmetoder. Du finner instruksjoner i pakningsvedlegget for bibliotekklargjøring.

Laste inn biblioteker på reagenskassetten

- 1 Rengjør folieforseglingen som dekker brønn nr. 10 merket **Load Library Here** (Last inn bibliotek her), med en klut som loer lite.
- 2 Perforer forseglingen med en ren pipettespiss på 1 ml.
- 3 Last 1,3 ml klargjorte biblioteker inn i brønn nr. 10 merket **Load Library Here** (Last inn bibliotek her). Unngå å ta på folieforseglingen mens du pipetterer bibliotekene.

Figur 10 Laste inn biblioteker



Konfigurere en sekvenseringskjøring

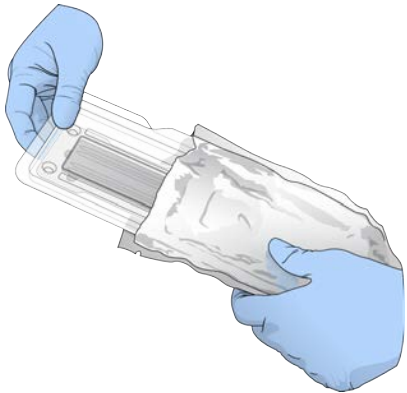
Logge på i BaseSpace

- 1 Angi brukernavnet og passordet ditt for BaseSpace.
- 2 Velg **Next** (Neste).

Laste inn strømningcellen

- 1 Fjern den brukte strømningcellen fra en tidligere kjøring.
- 2 Fjern strømningcellen fra foliepakningen.

Figur 11 Fjerne fra foliepakning



- 3 Åpne den klare plastpakningen, og fjern strømningcellen.

Figur 12 Fjerne fra plastpakning

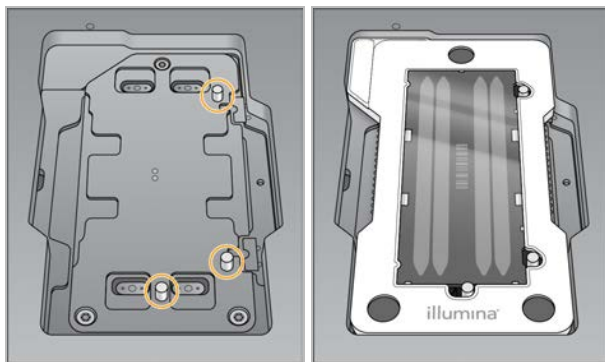


- 4 Rengjør glassoverflaten på strømningcellen med en lofri spritserviett. Tørk glasset med en laboratorieklut med lavt loinnhold.

MERK Kontroller at glassoverflaten på strømningcellen er ren. Gjenta rengjøringstrinnet ved behov.

- 5 Juster strømningcellen over innrettingspinnene, og plasser strømningcellen på stadiet.

Figur 13 Laste inn strømningcellen



- 6 Velg **Load** (Last).
Døren lukkes automatisk, strømningscelle-ID-en vises på skjermbildet, og sensorene kontrolleres.

MERK Hold hendene unna strømningscelledøren mens den lukker seg, slik at du unngår å havne i klem.

- 7 Velg **Next** (Neste).

Tømme den brukte reagensbeholderen

- 1 Åpne bufferkammerdøren med sperren under dørens nedre venstre hjørne.
- 2 Fjern den brukte reagensbeholderen, og kast innholdet i samsvar med gjeldende standarder.

Figur 14 Fjerne den brukte reagensbeholderen



MERK Når du fjerner beholderen, holder du hånden støttende under den.

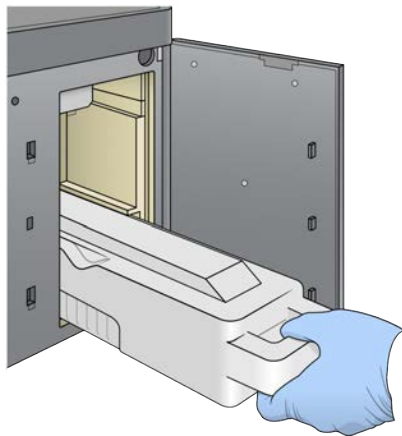


ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Du finner mer informasjon knyttet til helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

- 3 Skyv den tomme, brukte reagensbeholderen inn i bufferkammeret til den stopper. Et hørbart klikk angir at beholderen er i stilling.

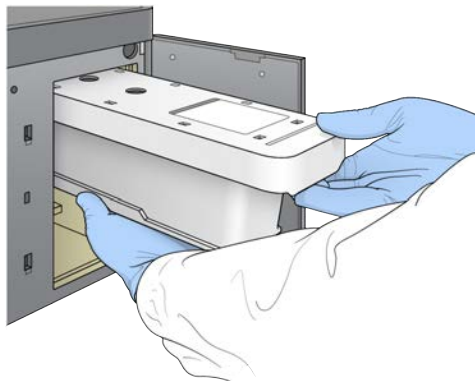
Figur 15 Laste den tomme, brukte reagensbeholderen



Laste inn bufferkassetten

- 1 Fjern den brukte bufferkassetten fra det øvre kammeret.
Du er nødt til å bruke litt kraft for å løfte og deretter trekke ut bufferkassetten.
- 2 Skyv en ny bufferkassett inn i bufferkammeret til den stopper.
Et hørbart klikk angir at kassetten er i stilling, bufferkassett-ID-en vises i skjermbildet, og sensoren kontrolleres.

Figur 16 Laste inn bufferkassetten



- 3 Lukk bufferkammerdøren, og velg **Next** (Neste).

Laste inn reagenskassetten

- 1 Åpne reagenskammerdøren ved hjelp av sperren under dørens nedre høyre hjørne.
- 2 Fjern den brukte reagenskassetten fra reagenskammeret. Kast ubrukt innhold i henhold til gjeldende standarder.



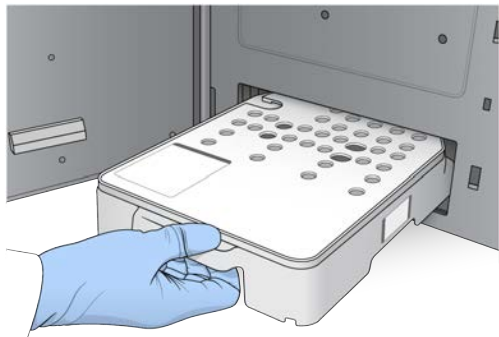
ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Du finner mer informasjon knyttet til helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

MERK Brønnen i posisjon 6 kan fjernes for å forenkle sikker avhending av ubrukt reagens. Du finner mer informasjon under *Fjerne brukt brønn fra posisjon 6* på side 22.

- 3 Skyv reagenskassetten inn i reagenskammeret til kassetten stopper, og deretter lukker du reagenskammerdøren.

Figur 17 Laste inn reagenskassetten

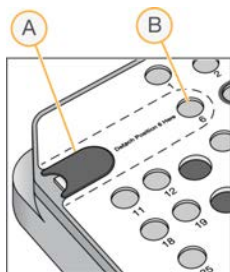


- 4 Velg **Load** (Last).
Programvaren flytter automatisk kassetten i stilling (~30 sekunder), reagenskasset-ID-en vises i skjermbildet, og sensorene kontrolleres.
- 5 Velg **Next** (Neste).

Fjerne brukt brønn fra posisjon 6

- 1 Når du har fjernet den **brukte** reagenskassetten fra instrumentet, fjerner du det beskyttende gummidekselet over sporet ved siden av posisjon 6.

Figur 18 Fjernbar posisjon 6



- A Beskyttende gummideksel
- B Posisjon 6

- 2 Trykk på den klare plasttappen, og skyv mot venstre for å støte ut brønnen.
- 3 Kast brønnen i henhold til gjeldende standarder.

Angi kjøringsparametere

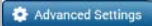
Trinnene i skjermbildet Run Setup (Kjøringsoppsett) varierer basert på systemkonfigurasjon:

- ▶ **BaseSpace eller BaseSpace Onsite** – Skjermbildet Run Setup (Kjøringsoppsett) oppgir kjøring som ble konfigurert ved hjelp av fanen Prep (Klargjøring) for BaseSpace. Hvis den ønskede kjøringen ikke vises i skjermbildet Run Setup (Kjøringsoppsett), kontrollerer du at kjøringen er merket for sekvensering i BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (Frittstående) – Skjermbildet Run Setup (Kjøringsoppsett) inneholder felt for definering i kjøringsparametere.

Velge tilgjengelig kjøring (BaseSpace-konfigurasjon)

- 1 Velg en kjøring i listen over tilgjengelige kjøring.
Bla gjennom listen ved hjelp av pil opp og ned, eller skriv inn et kjøringnavn i feltet Search (Søk).
- 2 Velg **Next** (Neste).
- 3 Bekreft kjøringparametere.
 - ▶ **Run Name** (Kjøringnavn) – Navnet som er tilordnet kjøringen i BaseSpace.
 - ▶ **Library ID** (Bibliotek-ID) – Navnet som er tilordnet de sammenslåtte bibliotekene i BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (Oppskrift) – Navnet på oppskriften, enten **NextSeq High** (NextSeq høy) eller **NextSeq Mid** (NextSeq middels), avhengig av reagenskassetten som brukes til kjøringen.
 - ▶ **Read Type** (Avlesningstype) – Enkeltavlesning eller paired-end.
 - ▶ **Read Length** (Avlesningslengde) – Antall sykluser for hver avlesning.
 - ▶ **[Valgfritt]** Tilpassede primere hvis det er aktuelt.
 - ▶ **Run parameters** (Kjøringparametere) – Endre antall avlesninger eller antall sykluser per avlesning.
 - ▶ **Custom primers** (Tilpassede primere) – Endre innstillingene for tilpassede primere. Du finner mer informasjon i *Veiledning for NextSeq tilpassede primere (dokumentnr. 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Skylle forbruksmaterieell for denne kjøringen) – Endre innstillingen hvis du vil skylle forbruksmaterieell automatisk etter den aktuelle kjøringen.
- 4 Velg **Next** (Neste).

Angi kjøringparametere (frittstående konfigurasjon)





- 1 Skriv inn et kjøringnavn etter ønske.
- 2 **[Valgfritt]** Skriv inn en bibliotek-ID etter ønske.
- 3 Velg en avlesningstype, enten **Single Read** (Enkeltavlesning) eller **Paired End** (Paired-end).
- 4 Angi antall sykluser for hver avlesning i sekvenseringskjøringen.
 - ▶ **Read 1** (Avlesning 1) – Angi en verdi på opptil 151 sykluser.
 - ▶ **Index 1** (Indeks 1) – Angi antall sykluser som kreves for primeren for Index 1 (Indeks 1) (i7).
 - ▶ **Index 2** (Indeks 2) – Angi antall sykluser som kreves for primeren for Index 2 (Indeks 2) (i5).
 - ▶ **Read 2** (Avlesning 2) – Angi en verdi på opptil 151 sykluser. Denne verdien er vanligvis samme antall sykluser som Read 1 (Avlesning 1).Kontrollprogramvaren bekrefter oppføringene dine ved hjelp av følge kriterier:
 - ▶ Totale sykluser overskrider ikke maksimalt tillatte sykluser
 - ▶ Sykluser for Read 1 (Avlesning 1) er større enn de 5 syklusene som brukes til malgenerering
 - ▶ Indeksavlesningssykluser overskrider ikke sykluser for Read 1 (Avlesning 1) og Read 2 (Avlesning 2)
- 5 **[Valgfritt]** Hvis du skal bruke tilpassede primere, velger du avmerkingsboksen for primerne du bruker. Du finner mer informasjon i *Veiledning for NextSeq tilpassede primere (dokumentnr. 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** (Avlesning 1) – Tilpasset primer for Read 1 (Avlesning 1).
 - ▶ **Index 1** (Indeks 1) – Tilpasset primer for Index 1 (Indeks 1).
 - ▶ **Index 2** (Indeks 2) – Tilpasset primer for Index 1 (Indeks 1).
 - ▶ **Read 2** (Avlesning 2) – Tilpasset primer for Read 1 (Avlesning 1).
- 6 **[Valgfritt]** Hvis du vil endre kjøringparametere, velger du knappen **Advanced Settings**  (Avanserte innstillinger).
 - ▶ Velg en oppskrift i rullegardinlisten Recipe (Oppskrift). Kun compatible oppskrifter er oppgitt.

- ▶ **Output folder location** (Utdatamappens plassering) – Endre utdatamappens plassering for den aktuelle kjøringen. Hvis du vil navigere til en nettverksplassering, velger du **Browse** (Bla gjennom).
- ▶ **Included file** (Inkludert fil) – Velg filer som skal inkluderes i utdatamappen som kan være nyttig ved behov for ytterligere analyse. Eksempler er manifestfiler og prøvelister.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Skiyll forbruksmateriell for denne kjøringen) – Endre innstillingen hvis du vil skylle forbruksmateriell automatisk etter den aktuelle kjøringen.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Bruk kjøringsovervåkning for denne kjøringen) – Endre innstillingen for å bruke kjøringsovervåkning i BaseSpace.

7 Velg **Next** (Neste).

Gjennomgå før kjøring-kontroll

Programvaren utfører en automatisert før kjøring-kontroll av systemet. Under kontrollen vises følgende indikatorer på skjermen:

- ▶ **Grå**  **hake** – Kontrollen er ikke utført ennå.
- ▶ **Ikonet Progress**  (**Fremdrift**) – Kontrollen pågår.
- ▶ **Grønn**  **hake** – Kontrollen er bestått.
- ▶ **Rødt**  – Kontrollen er ikke bestått. For elementer som ikke består, kreves det et tiltak før du kan fortsette. Se *Løse feil under den automatiske kontrollen på side 44*.

Hvis du vil stoppe en automatisert før kjøring-kontroll som pågår, velger du knappen **Cancel** (Avbryt). Hvis du vil starte kontrollen på nytt, velger du knappen **Retry** (Prøv på nytt). Kontrollen gjenopptas ved første ufullstendige eller mislykkede kontroll.

Hvis du vil vise resultatene av hver enkeltstående kontroll i en kategori, velger du fanen **Category** (Kategori).

Hvis instrumentet ikke er konfigurert for å starte kjøringen automatisk, starter du kjøringen etter at den automatiserte før kjøring-kontrollen er fullført.

Starte kjøringen

Når den automatiserte før kjøring-kontrollen er fullført, velger du **Start**. Sekvenseringskjøringen begynner.

Du finner ut hvordan du konfigurerer systemet slik at det starter kjøringen automatisk etter en bestått kontroll under *Konfigurere alternativer for kjøringsoppsett på side 13*.



FORSIKTIG

Sørg for å holde deg pålogget i Windows. Hvis du logger deg av Windows-systemet under en sekvenseringskjøring, stopper kjøringen.

MERK Reagenser kan ikke være inaktive på instrumentet i mer enn 24 timer.

Overvåke kjøringens fremdrift

1 Overvåk kjøringens fremdrift, intensiteter og kvalitetsscore når metrikk vises i skjermbildet.









MERK Når du har valg **Home** (Hjem), er det ikke mulig å gå tilbake til å vise kjøringssmetrikk. Du kan imidlertid få tilgang til kjøringssmetrikk på BaseSpace eller vise den fra en frittstående datamaskin ved hjelp av Sequencing Analysis Viewer (SAV).

Sykluser for kjøringmetrikk

Kjøringmetrikk vises på forskjellige tidspunkt under en kjøring.

- ▶ Under klyngegenereringstrinnene vises ingen metrikk.
- ▶ De første 5 syklusene er forbeholdt generering av maler.
- ▶ Kjøringmetrikk vises etter 25 sykluser, inkludert klyngetetthet, klyngepasserende filter, produksjon og kvalitetsscore.

Dataoverføring

Status	Local Run Manager	Utdatamappe
Tilkoblet		
Tilkoblet og overfører data		
Frakoblet		
Deaktivert		

Hvis dataoverføring avbrytes under kjøringen, lagres data midlertidig på instrumentdatamaskinen.

Når tilkoblingen gjenopprettes, gjenopptas dataoverføring automatisk. Hvis tilkoblingen ikke gjenopprettes før kjøringen avsluttes, overfører du data manuelt fra instrumentdatamaskinen før du starter en påfølgende kjøring.

Universal Copy Service

NextSeq 550Dx omfatter en Universal Copy Service. RTA2 ber tjenesten om å kopiere filer fra en kildeplassering til en målplassering, og tjenesten behandler kopieringsforespørsler i rekkefølgen de mottas. Hvis det oppstår et unntak, settes filen tilbake i kø for kopiering basert på antall filer i kopieringskøen.

Sequencing Analysis Viewer

Programvaren for Sequencing Analysis Viewer viser sekvenseringsmetrikk generert under kjøringen. Metrikk vises i form av plotter, grafer og tabeller basert på data generert av RTA og skrevet til InterOp-filer. Metrikk oppdateres mens kjøringen pågår. Du kan vise oppdatert metrikk når som helst under kjøringen ved å velge **Refresh** (Oppdater). Du finner mer informasjon i *Brukerveiledning for Sequencing Analysis Viewer (delnr. 15020619)*.

Sequencing Analysis Viewer er inkludert i programvaren som er installert på instrumentdatamaskinen. Du kan også installere Sequencing Analysis Viewer på en annen datamaskin koblet til samme nettverk som instrumentet hvis du vil overvåke kjøringmetrikk eksternt.

Automatisk etter kjøring-vask

Når sekvenseringskjøringen er fullført, starter programvaren en automatisk etter kjøring-vask ved hjelp av vaskeløsningen i bufferkassetten og NaOCl i reagenskassetten.

Den automatiske etter kjøring-vasken tar cirka 90 minutter. Når vasken er fullført, blir knappen Home (Hjem) aktiv. Sekvenseringsresultater forblir synlige på skjermen under vasken.

Etter vasking

Etter vasking forblir sugeenhetene i nedestilling for å forhindre at det kommer luft inn i systemet. La kassetene stå i til neste kjøring.

Kapittel 4 Skanne

Innledning	27
Arbeidsprosess for skanning	28
Laste ned DMAP-mappen	28
Laste BeadChip-en på adapteren	29
Konfigurere en skanning	30
Overvåke skannefremdrift	32

Innledning

Når du skal utføre en skanning på NextSeq 550Dx-instrumentet, trenger du følgende kjøringskomponenter:

- ▶ En hybridisert og farget BeadChip
- ▶ Den gjenbrukbare BeadChip-adapteren
- ▶ DMAP-filer (Dekodingskart) for BeadChip-en du skal bruke
- ▶ En manifestfil for BeadChip-typen du skal bruke
- ▶ En klyngefil for BeadChip-typen du skal bruke

Utdatafiler genereres under skanningen, og blir deretter satt i kø for overføring til den angitte utdatamappen.

Utfør analysen ved hjelp av BlueFuse Multi-programvaren, som krever at skannedata er tilgjengelige i et GTC-filformat (Genotypebetegnelse). NextSeq 550Dx-instrumentet genererer som standard normaliserte data og tilknyttede genotypebetegnelser i formatet til en GTC-fil. Du kan eventuelt konfigurere instrumentet slik at det genererer ekstra IDAT-filer (intensitetsdata). Du finner mer informasjon under *BeadChip-skannekonfigurasjon* på side 52.

Dekode filklient

DMAP-mappen inneholder informasjon som identifiserer kuleplasseringer på BeadChip og kvantifiserer signalet tilknyttet hver kule. En DMAP-mappe er unik for hver BeadChip-strekkode.

Tilbehøret Decode File Client (Dekode filklient) gjør det mulig å laste ned DMAP-mapper direkte fra Illumina-servere ved hjelp av standard HTTP-protokoll.

Hvis du vil ha tilgang til Decode File Client (Dekode filklient), går du til [støttesiden for Decode File Client \(Dekode filklient\)](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) på Illuminas nettsted (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Installer Decode File Client (Dekode filklient) på en datamaskin med tilgang til nettverkspllasseringen til DMAP-mappen.

Du finner mer informasjon under *Laste ned DMAP-mappen* på side 28.

Manifestfiler og klyngefiler

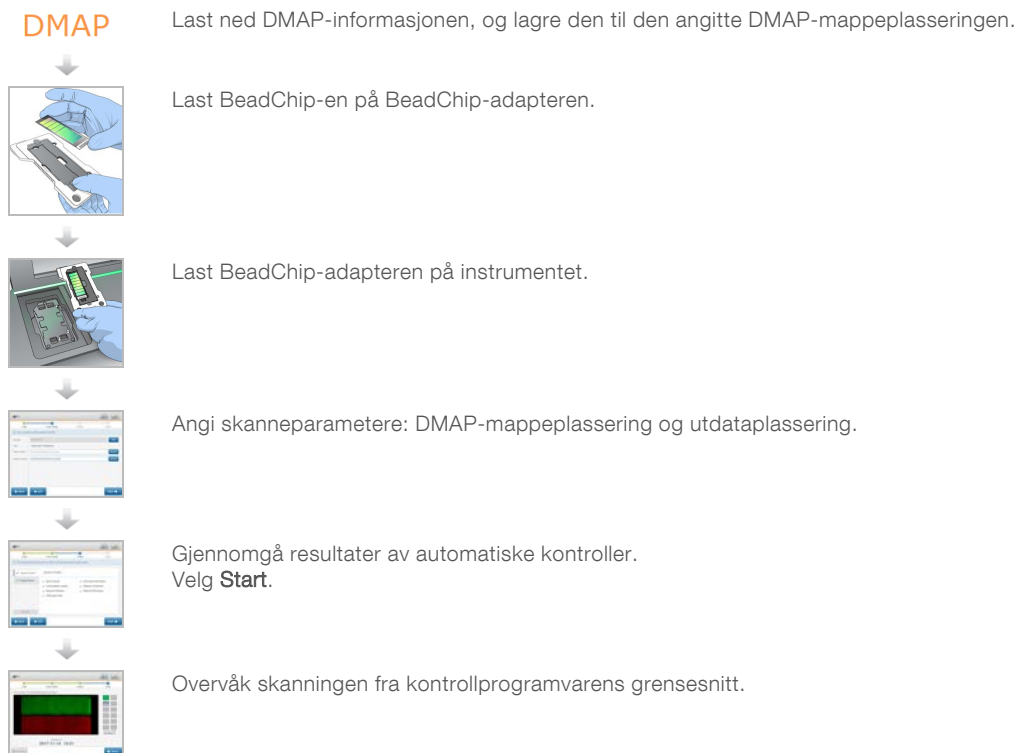
For hver BeadChip krever programvaren tilgang til en manifestfil og klyngefil. Hver manifest- og klyngefil er unik for en BeadChip-type. Sørg for at du bruker klyngefiler som inneholder NS550 i filnavnet. Disse filene er kompatible med NextSeq 550Dx-systemet.

- ▶ **Manifestfil** – Manifestfiler beskriver SNP eller probeinnholdet på en BeadChip. Manifestfiler bruker filformatet *.bpm.
- ▶ **Klyngefiler** – Klyngefiler beskriver klyngeposisjonene for Illuminas genotypingarray, og brukes når du analyserer data for å foreta genotypebetegnelsen. Klyngefiler bruker filformatet *.egt.

Filenes plassering er angitt i skjermbildet **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skannekonfigurasjon). I startskjermbildet for NCS velger du **Manage Instrument** (Håndter instrument), **System Configuration** (Systemkonfigurasjon) og deretter **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skannekonfigurasjon).

Når NextSeq 550Dx-instrumentet installeres, laster Illumina-representanten ned disse filene og angir banen i kontrollprogramvaren. Det er ikke nødvendig å endre disse filene, bortsett fra i tilfelle tap eller hvis en ny versjon er tilgjengelig. Du finner mer informasjon under *Skifte ut manifestfiler og klyngefiler på side 49*.

Arbeidsprosess for skanning



Laste ned DMAP-mappen

Du får tilgang til DMAP-mappen ved hjelp av Decode File Client (Dekode filklient) via konto eller via BeadChip (standardvisning).

Tilgang til DMAP-mappe via konto

- 1 Velg et nedlastingsalternativ på hovedfanen i Decode File Client (Dekode filklient):
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ All BeadChips not yet downloaded (Ikke alle BeadChip-er er nedlastet enda)
 - ▶ All BeadChips (Alle BeadChip-er)
 - ▶ BeadChips by Purchase Order (BeadChip-er etter innkjøpsordre)
 - ▶ BeadChips by barcode (BeadChip-er etter strekkode)
- 2 Angi nødvendig informasjon.
- 3 Finn DMAP-mappen som du vil laste ned.

- 4 Sørg for at du har tilstrekkelig ledig plass på nedlastingsmålet.
- 5 Start nedlastingen. Vis nedlastingsstatusen på fanen Download Status and Log (Nedlastingsstatus og logg).
- 6 Lagre DMAP-mappen til den angitte DMAP-mappeplasseringen.

Tilgang til DMAP-mappe via BeadChip

- 1 Identifiser BeadChip-er ved hjelp av 2 av følgende alternativer:
 - ▶ BeadChip-strekkode
 - ▶ BeadChip-boks-ID
 - ▶ Innkjøpsordrenummer
 - ▶ Salgsordrenummer
- 2 Finn DMAP-mappen som du vil laste ned.
- 3 Sørg for at du har tilstrekkelig ledig plass på nedlastingsmålet.
- 4 Start nedlastingen. Vis nedlastingsstatusen på fanen Download Status and Log (Nedlastingsstatus og logg).
- 5 Lagre DMAP-mappen til den angitte DMAP-mappeplasseringen.

Laste BeadChip-en på adapteren

- 1 Trykk på adapterens festeklips. Klipsen heller litt bakover for å åpne seg.
- 2 Hold BeadChip-en i kantene, posisjoner BeadChip-en med strekkoden nærmest festeklipsen, og plasser BeadChip-en på den forsenkede hyllen i adapteren.

Figur 19 Laste BeadChip på adapter



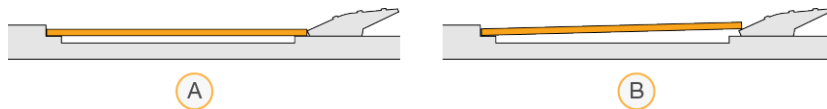
- 3 Bruk åpningene på begge sider av BeadChip-en til å kontrollere at BeadChip-en sitter i den forsenkede hyllen i adapteren.

Figur 20 Sette og holde BeadChip på plass



- 4 Frigjør forsiktig festeklipsen for å holde BeadChip-en på plass.
- 5 Undersøk BeadChip-en fra siden for å kontrollere at BeadChip-en sitter flatt på adapteren. Flytt på BeadChip-en ved behov.

Figur 21 Undersøke BeadChip-stilling



- A Riktig stilling – BeadChip er flat på adapteren når klipsen frigjøres.
B Feil stilling – BeadChip er ikke flat når klipsen frigjøres.

Konfigurere en skanning

- 1 Velg **Experiment** (Eksperiment) i startskjermbildet, og velg deretter **Scan** (Skann). Kommandoen Scan (Skann) åpner avbildningskammerdøren, frigjør forbruksmaterieell fra en tidligere kjøring (hvis dette finnes), og åpner serien med skjermbilder for skanneoppsett. En kort forsinkelse er helt normalt.

Laste ut forbruksmaterieell for sekvensering

Hvis det er forbruksmaterieell for sekvensering til stede når du konfigurerer en skanning, ber programvaren deg om å laste ut reagenskassetten og bufferkassetten før du går videre til neste trinn.

- 1 Hvis du blir bedt om det, fjerner du brukt forbruksmaterieell for sekvensering fra en tidligere sekvenseringskjøring.
 - a Fjern reagenskassetten fra reagenskammeret. Kast ubrukt innhold i henhold til gjeldende standarder.
 - b Fjern den brukte bufferkassetten fra bufferkammeret.



ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Du finner mer informasjon knyttet til helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

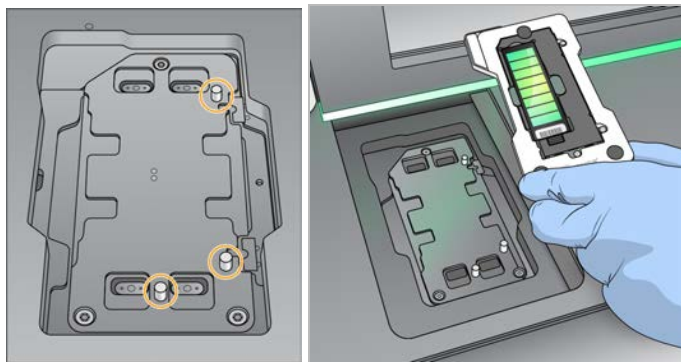
- 2 Fjern strømningcellen fra avbildningskammeret.

- 3 Lukk reagenskammer- og bufferkammerdørene.

Laste inn BeadChip-adapteren

- 1 Bruk innrettingspinnene til å posisjonere BeadChip-adapteren på stadiet.

Figur 22 Laste inn BeadChip-adapteren







- 2 Velg **Load** (Last).
Døren lukkes automatisk, BeadChip-ID-en vises i skjermbildet, og sensorene kontrolleres. En kort forsinkelse er helt normalt. Hvis det ikke er mulig å lese BeadChip-strekkoden, vises en dialogboks som gjør det mulig å angi strekkoden manuelt. Se *Programvaren kan ikke lese BeadChip-strekkoden på side 48*.
- 3 Velg **Next** (Neste).

Skanneoppsett

- 1 Bekreft følgende informasjon i skjermbildet Scan Setup (Skanneoppsett):
 - ▶ **Barcode** (Strekkode) – Programvaren leser BeadChip-strekkoden når BeadChip-en er lastet inn. Hvis strekkoden ble angitt manuelt, vises knappen Edit (Rediger) for ytterligere endringer.
 - ▶ **Type** – BeadChip-typefeltet fylles ut automatisk basert på BeadChip-strekkoden.
 - ▶ **DMAP Location** (DMAP-plassering) – DMAP-mappens plassering er angitt i skjermbildet BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skannekonfigurasjon). Hvis du vil endre plasseringen til kun den aktuelle skanningen, velger du **Browse** (Bla gjennom) og navigerer til den riktige plasseringen.
 - ▶ **Output Location** (Utdataplassering) – Utdataplasseringen er angitt i skjermbildet BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skannekonfigurasjon). Hvis du vil endre plasseringen til kun den aktuelle skanningen, velger du **Browse** (Bla gjennom) og navigerer til den foretrukne plasseringen.
- 2 Velg **Next** (Neste).

Gjennomgå før kjøring-kontroll

Programvaren utfører en automatisert før kjøring-kontroll av systemet. Under kontrollen vises følgende indikatorer på skjermen:

- ▶ **Grå**  **hake** – Kontrollen er ikke utført ennå.
- ▶ **Ikonet Progress**  **(Fremdrift)** – Kontrollen pågår.
- ▶ **Grønn**  **hake** – Kontrollen er bestått.
- ▶ **Rødt**  – Kontrollen er ikke bestått. For elementer som ikke består, kreves det et tiltak før du kan fortsette. Se *Løse feil under den automatiske kontrollen på side 44*.

Hvis du vil stoppe en automatisert før kjøring-kontroll som pågår, velger du knappen **Cancel** (Avbryt). Hvis du vil starte kontrollen på nytt, velger du knappen **Retry** (Prøv på nytt). Kontrollen gjenopptas ved første ufullstendige eller mislykkede kontroll.

Hvis du vil vise resultatene av hver enkeltstående kontroll i en kategori, velger du fanen Category (Kategori).

Hvis instrumentet ikke er konfigurert for å starte kjøringen automatisk, starter du kjøringen etter at den automatiserte før kjøring-kontrollen er fullført.

Starte skanningen

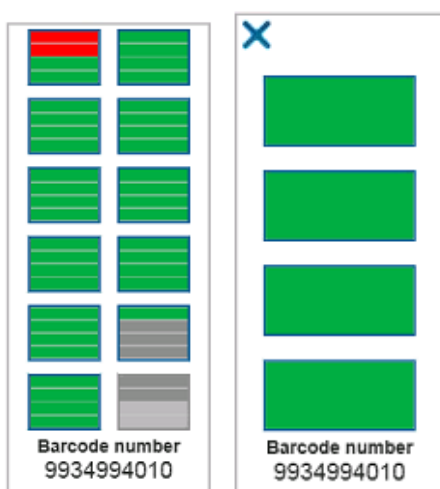
Når den automatiserte kontrollen er fullført, velger du **Start**. Skanningen starter.

Du finner ut hvordan du konfigurerer systemet slik at det starter skanningen automatisk etter en bestått kontroll under *Konfigurere alternativer for kjøringssoppsett* på side 13.

Overvåke skannefremdrift

- 1 Overvåk skannefremdrift ved hjelp av BeadChip-bildet. Hver farge på bildet angir skannestatusen.
 - ▶ **Lysegrå** – Ikke skannet
 - ▶ **Mørkegrå** – Skannet, men ikke registrert.
 - ▶ **Grønn** – Skannet og registrert.
 - ▶ **Rød** – Skanning og registrering mislyktes.Hvis registrering mislykkes, kan du skanne prøver som inneholder mislykkede deler på nytt. Se *Mislykket BeadChip-skanning* på side 48.
- 2 Velg BeadChip-bildet for å veksle mellom full visning og detaljert visning av en valgt prøve.
 - ▶ Full visning viser prøvene på BeadChip-en og delene i hver prøve.
 - ▶ Detaljert visning viser hver enkelt del i den valgte prøven.

Figur 23 BeadChip-bilde: full visning og detaljert visning



MERK Å avslutte en skanning, er endelig. Hvis du avslutter skanningen før skanningen er fullført, lagres *ikke* skannedataene.

Dataoverføring

Data settes i kø for overføring til utdatamappen for skanning når skanningen er fullført. Data skrives midlertidig til instrumentdatamaskinen. Den midlertidige mappen slettes fra instrumentdatamaskinen automatisk når en påfølgende skanning startes.

Hvor lang tid det tar å overføre data avhenger av nettverkstilkoblingen. Før du starter en påfølgende skanning må du kontrollere at data er skrevet til utdatamappen. Dette kontrollerer du ved å sørge for at det er GTC-filer i strekkodemappen. Du finner mer informasjon under *Skanne utdatamappens struktur på side 61*.

Hvis tilkoblingen blir avbrutt, gjenopptas dataoverføring automatisk når tilkoblingen er gjenopprettet. Hver fil har et tidsur på 1 time etter at den er satt i kø for overføring til utdatamappen. Når tidsuret har telt ned, eller hvis instrumentet startes på nytt før overføringen er fullført, skrives ikke data til utdatamappen.

Kapittel 5 Vedlikehold

Innledning	35
Utføre en manuell vask	35
Skifte ut luftfilter	38
Programvareoppdateringer	39
Alternativer for omstart og å slå av	41

Innledning

Vedlikeholdsprosedyrer omfatter manuell vask av instrumentet og å skifte ut luftfilteret. Alternativer for omstart og å slå av instrumentet, beskrives også.

- ▶ **Vask av instrumentet** – En automatisk etter kjøring-vask etter hver sekvenseringskjøring sikrer at instrumentet fungerer som det skal. En manuell vask er imidlertid nødvendig med jevne mellomrom under visse forhold. Se *Utføre en manuell vask* på side 35.
- ▶ **Skifte ut luftfilter** – Jevnlig utskifting av luftfilteret sikrer riktig luftstrømning gjennom instrumentet.

Forebyggende vedlikehold

Illumina anbefaler at du planlegger en forebyggende vedlikeholdsservice hvert år. Hvis du ikke har servicekontrakt, må du kontakte kundekontakten i ditt område eller Illuminas tekniske støtteavdeling for å avtale en fakturerbar forebyggende vedlikeholdsservice.

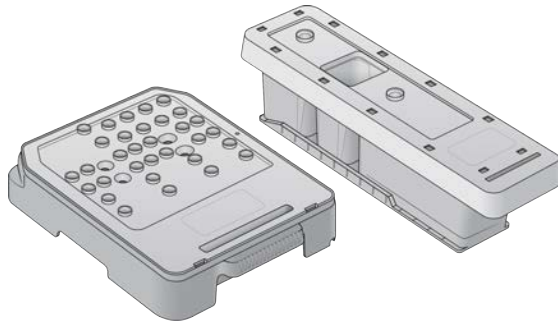
Utføre en manuell vask

Manuelle vasker startes fra startskjermbildet. Vaskealternativer omfatter Quick Wash (Hurtigvask) og Manual Post-Run Wash (Manuell etter kjøring-vask).

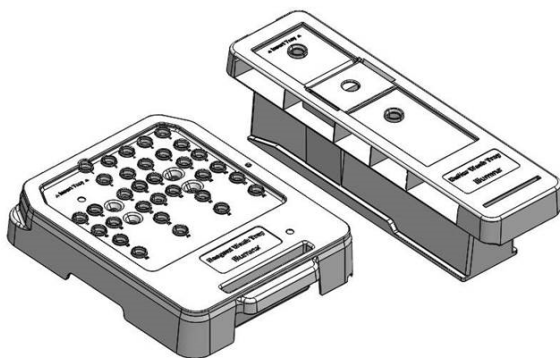
Vasketyper	Beskrivelse
Quick Wash (Hurtigvask) Varighet: 20 minutter	Skyller systemet med en vaskeløsning av vann av laboratorie kvalitet skaffet av brukeren og Tween 20 (buffervaskekassett). <ul style="list-style-type: none">• Nødvendig hver 14. dag som instrumentet er inaktivt mens reagenskassett og bufferkassett står i.• Nødvendig hver 7. dag som instrumentet er i en tørr tilstand (reagenskassett og bufferkassett tatt ut).
Manual Post-Run Wash (Manuell etter kjøring-vask) Varighet: 90 minutter	Skyller systemet med en vaskeløsning av brukerlevert vann av laboratorie kvalitet og Tween 20 (buffervaskekassett), samt 0,12 % natriumhypokloritt (reagensvaskekassett). Nødvendig hvis det ikke ble utført automatisk etter kjøring-vask.

En manuell vask krever reagensvaskekassetten og buffervaskekassetten som fulgte med instrumentet samt en brukt strømningscelle. En brukt strømningscelle kan brukes opptil 20 ganger til instrumentvasker.

Figur 24 Reagensvaskekassetten og buffervaskekassetten i original stil.



Figur 25 Reagensvaskekassetten og buffervaskekassetten i ny stil.



Klargjøre for en manuell etter kjøring-vask

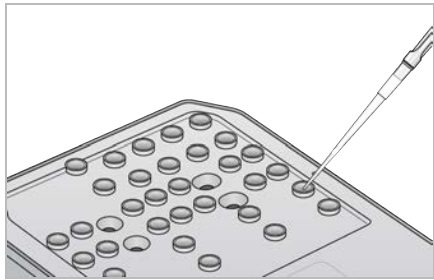
Velg enten å klargjøre for en manuell etter kjøring-vask som beskrevet nedenfor eller å klargjøre for en hurtigvask (neste del). Hvis du har tenkt å utføre en manuell etter kjøring-vask, hopper du over delen om hurtigvask og fortsetter til *Laste inn en brukt strømningscelle og vaskekassetten* på side 37.

Forbruksmaterieell skaffet av brukeren	Volum og beskrivelse
NaOCl	1 ml, fortynnet til 0,12 % Lastet på reagensvaskekassetten (posisjon nr. 28)
100 % Tween 20 Vann av laboratoriekvalitet	Brukes til å lage 125 ml 0,05 % Tween 20-vaskeløsning. Lastet på buffervaskekassetten (midterste brønn)

MERK Bruk alltid en ny fortynning av NaOCl som er klargjort i løpet av de siste **24 timene**. Hvis du lager et volum større enn 1 ml, oppbevares den resterende fortynningen ved 2 °C til 8 °C for bruk innen de neste 24 timene. Ellers kastes den resterende fortynningen av NaOCl.

- Kombiner følgende volumer i et mikrosentrifugerør for å oppnå 1 ml 0,12 % NaOCl.
 - ▶ 5 % NaOCl (24 µl)
 - ▶ Vann av laboratoriekvalitet (976 µl)
- Bland ved å snu røret.
- Tilsett 1 ml 0,12 % NaOCl i reagensvaskekassetten. Riktig brønn er tilsvarende posisjon nr. **28** på den forhåndsfylte kassetten.

Figur 26 Laste inn NaOCl



- 4 Kombiner følgende volumer for å oppnå en 0,05 % Tween 20-vaskeløsning:
 - Buffervaskekassetter i original stil
 - ▶ 100 % Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Vann av laboratoriekvalitet (125 ml)
 - ▶ Tilsett 125 ml vaskeløsning i den midterste brønnen i buffervaskekassetten.
 - Buffervaskekassetter i ny stil
 - ▶ 100 % Tween 20 (75 µl)
 - ▶ Vann av laboratoriekvalitet (150 ml)
 - ▶ Tilsett 150 ml vaskeløsning i den midterste brønnen i buffervaskekassetten.
- 5 Velg **Perform Wash** (Utfør vask), og deretter velger du **Manual Post-Run Wash** (Manuell etter kjøring-vask).

Klargjøre for en hurtigvask

Du kan klargjøre for en hurtigvask som beskrevet nedenfor som et alternativ til *Klargjøre for en manuell etter kjøring-vask på side 36*.

Forbruksmaterieill skaffet av brukeren	Volum og beskrivelse
100 % Tween 20 Vann av laboratoriekvalitet	Brukes til å lage 40 ml 0,05 % Tween 20-vaskeløsning. Lastet på buffervaskekasset (midterste brønn)

- 1 Kombiner følgende volumer for å oppnå en 0,05 % Tween 20-vaskeløsning:
 - ▶ 100 % Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Vann av laboratoriekvalitet (40 ml)
- 2 Tilsett 40 ml vaskeløsning i den midterste brønnen i buffervaskekassetten.
- 3 Velg **Perform Wash** (Utfør vask), og deretter velger du **Quick Wash** (Hurtigvask).

Laste inn en brukt strømningscelle og vaskekassetene

- 1 Hvis det ikke allerede finnes en brukt strømningscelle, laster du inn en brukt strømningscelle. Velg **Load** (Last), og deretter velger du **Next** (Neste).

- 2 Fjern den brukte reagensbeholderen, og kast innholdet i samsvar med gjeldende standarder.



ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Du finner mer informasjon knyttet til helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

- 3 Skyv den tomme, brukte reagensbeholderen inn i bufferkammeret til den stopper.
- 4 Fjern den brukte bufferkassetten fra den forrige kjøringen, hvis den står i.
- 5 Last inn buffervaskekassetten, som inneholder vaskeløsning.
- 6 Fjern den brukte reagenskassetten fra den forrige kjøringen, hvis den står i.
- 7 Last inn reagensvaskekassetten.
- 8 Velg **Next** (Neste). Før vask-kontrollen begynner automatisk.

Starte vasken

- 1 Velg **Start**.
- 2 Når vasken er fullført, velger du **Home** (Hjem).

Etter vasking

Etter vasking forblir sugeenhetene i nedestilling for å forhindre at det kommer luft inn i systemet. La kassetten stå i til neste kjøring.

Skifte ut luftfilter

Nye systemer leveres med tre ekstra luftfiltre. Disse skal oppbevares og brukes når en melding om å skifte filteret mottas fra instrumentet.

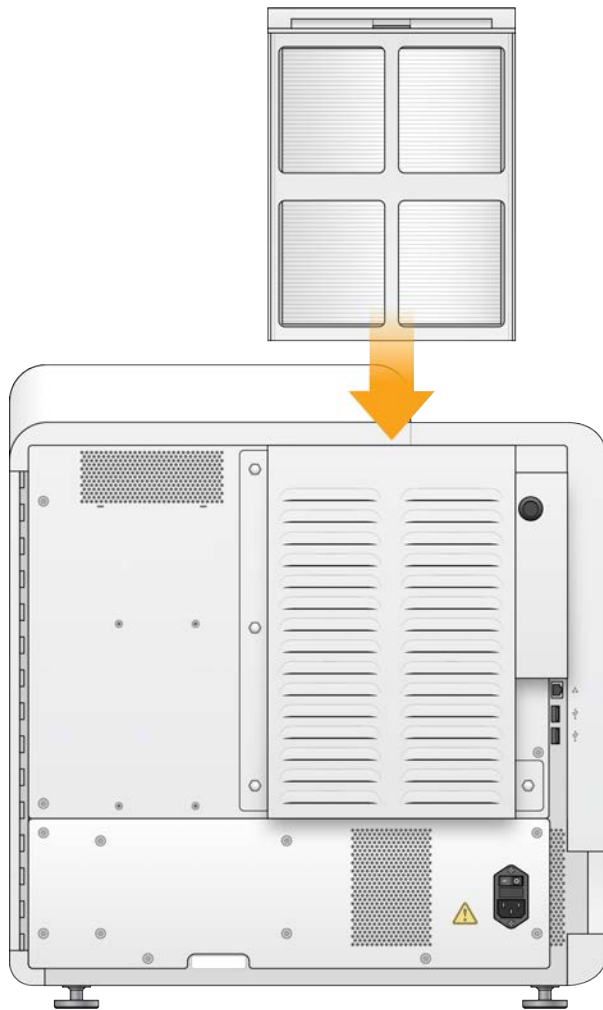
Luftfilteret sikrer luftstrømning gjennom instrumentet. Programvaren viser en varsling om å bytte luftfilteret hver 90. dag. Når du blir bedt om det, velger du **Remind in 1 day** (Påminn om 1 dag) eller følger prosedyren som følger og velger **Filter Changed** (Filter byttet). Nedtellingen på 90 dager tilbakestilles når **Filter Changed** (Filter byttet) er valgt.

- 1 Ta det nye luftfilteret ut av pakningen, og skriv installasjonsdatoen på filterrammen.
- 2 På baksiden av instrumentet trykker du på toppen av filterbrettet slik at brettet frigjøres.
- 3 Grip tak i toppen av filterbrettet, og dra oppover slik at brettet løftes helt ut av instrumentet.
- 4 Fjern og kast det gamle luftfilteret.
- 5 Sett det nye luftfilteret i brettet.

MERK Luftfilteret fungerer ikke som det skal hvis det står i feil vei. Sørg for at du setter luftfilteret i brettet slik at du kan se den grønne pilen «Opp» og ikke kan se advarselsetiketten. Pilen skal peke mot håndtaket på filterbrettet.

- 6 Skyv filterbrettet inn i instrumentet. Trykk ned på toppen av filterbrettet til det klikker på plass.

Figur 27 Sette inn luftfilter




Programvareoppdateringer

Programvareoppdateringer er pakket i en programvaresamling kalt System Suite, som inkluderer følgende programvare:

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

Du kan installere programvareoppdateringer automatisk ved hjelp av en Internett-tilkobling eller manuelt fra et nettverk eller en USB-plassering.

- ▶ **Automatiske oppdateringer** — For instrumenter koblet til et nettverk med Internett-tilgang vises et varselikon  på knappen **Manage Instrument** (Håndter instrument) i startskjermbildet når en oppdatering er tilgjengelig.
- ▶ **Manuelle oppdateringer** – Last ned installasjonsprogrammet for System Suite fra [NextSeq 550Dx-instrumentets støtteside](#) på Illuminas nettsted.

Automatisk programvareoppdatering

- 1 Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument).
- 2 Velg **Software Update** (Programvareoppdatering).
- 3 Velg **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Installer oppdateringen som allerede er lastet ned fra BaseSpace).
- 4 Start oppdateringen ved å velge **Update** (Oppdater). En dialogboks åpnes for å bekrefte kommandoen.
- 5 Følg meldingene i installasjonsveiviseren:
 - a Godta lisensavtalen.
 - b Gjennomgå versjonsmerknadene.
 - c Gjennomgå listen over programvare som er inkludert i oppdateringen.

Når oppdateringen er fullført, starter kontrollprogramvaren på nytt automatisk.

MERK Hvis en fastvareoppdatering er inkludert, må systemet startes på nytt automatisk etter at fastvaren er oppdatert.

Manuell programvareoppdatering

- 1 Last ned installasjonsprogrammet for System Suite fra Illuminas nettsted, og lagre det til en nettverksplassering.
Alternativt kan du kopiere programvareinstallasjonsfilen til en bærbar USB-stasjon.
- 2 Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument).
- 3 Velg **Software Update** (Programvareoppdatering).
- 4 Velg **Manually install the update from the following location** (Installer oppdateringen manuelt fra følgende plassering).
- 5 Naviger til programvareinstallasjonsfilens plassering ved å velge **Browse** (Bla gjennom), og velg deretter **Update** (Oppdater).
- 6 Følg meldingene i installasjonsveiviseren:
 - a Godta lisensavtalen.
 - b Gjennomgå versjonsmerknadene.
 - c Gjennomgå listen over programvare som er inkludert i oppdateringen.

Når oppdateringen er fullført, starter kontrollprogramvaren på nytt automatisk.

MERK Hvis en fastvareoppdatering er inkludert, må systemet startes på nytt automatisk etter at fastvaren er oppdatert.

Alternativer for omstart og å slå av

Oppnå tilgang til følgende funksjoner ved å velge knappen Reboot / Shutdown (Omstart / slå av):

- ▶ Reboot to RUO (Omstart til RUO) – Instrumentet åpnes i forskningsmodus.
- ▶ Restart (Start på nytt) – Instrumentet åpnes i diagnostisk modus.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Start på nytt i Dx fra RUO) – Instrumentet åpnes i diagnostisk modus.
- ▶ Shutdown (Slå av) – Når instrumentet slås på igjen, åpnes det i diagnostisk modus.
- ▶ Exit to Windows (Avslutt til Windows) – Avhengig av tillatelser kan du lukke NCS og vise Windows.

Starte på nytt i diagnostisk modus

Bruk kommandoen Restart (Start på nytt) til å slå av instrumentet på en sikker måte og starte på nytt i diagnostisk modus. Diagnostisk modus er standard startmodus.

- 1 Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument).
- 2 Velg **Reboot / Shutdown** (Omstart / slå av).
- 3 Velg **Restart** (Start på nytt).

Slå av instrumentet

- 1 Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument).
- 2 Velg **Reboot / Shutdown** (Omstart / slå av).
- 3 Velg **Shutdown** (Slå av).

Kommandoen Shutdown (Slå av) slår trygt av programvaren, og slår av strømmen til instrumentet. Vent i minst 60 sekunder før du slår på instrumentet igjen.

MERK Instrumentet starter som standard i diagnostisk modus når det slås på.



FORSIKTIG

Ikke flytt instrumentet. Flytting av instrumentet kan ha innvirkning på den optiske innrettingen og ødelegge dataintegriteten. Hvis du må flytte instrumentet, skal du kontakte Illumina-representanten.

Avslutte til Windows

Kommandoen Exit to Windows (Avslutt til Windows) gir tilgang til instrumentets operativsystem og mapper på instrumentdatamaskinen. Kommandoen slår trygt av programvaren, og avslutter til Windows. Kun en bruker med administratorrettigheter kan avslutte til Windows.

- 1 Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument).
- 2 Velg **Reboot / Shutdown** (Omstart / slå av).
- 3 Velg **Exit to Windows** (Avslutt til Windows).

Vedlegg A Feilsøking

Innledning	43
Feilsøkingsfiler	43
Løse feil under den automatiske kontrollen	44
Brukt reagensbeholder er full	46
Arbeidsprosess for rehybridisering	46
BeadChip og skannefeil	48
Tilpasse oppskrifter og oppskriftsmapper	49
RAID-feilmelding	50
Konfigurere systeminnstillinger	50

Innledning

Ved problemer med kjøringskvalitet eller -ytelse kontakter du Illuminas tekniske støtte. Se [Teknisk hjelp](#) på side 67.

Feilsøkingsfiler

Det kan hende at en representant for Illuminas tekniske støtte ber om kopier av kjøringsspesifikke eller skannespesifikke filer for å feilsøke problemer. Vanligvis brukes følgende filer til feilsøking.

Feilsøkingsfiler for sekvenseringskjøringer

Nøkkelfil	Mappe	Beskrivelse
Kjøringsinformasjonsfil (RunInfo.xml)	Rotmappe	Inneholder følgende informasjon: <ul style="list-style-type: none">• Kjøringsnavn• Antall sykluser i kjøringen• Antall sykluser i hver avlesning• Om avlesningen er en indeksert avlesning• Antall runder og fliser på strømningcellen
Kjøringsparameterfiler (RunParameters.xml)	Rotmappe	Inneholder informasjon om kjøringssparametere og kjøringsskomponenter. Informasjon omfatter RFID, serienummer, delenummer og utløpsdato.
RTA-konfigurasjonsfil (RTAConfiguration.xml)	Rotmappe	Inneholder RTA-konfigurasjonsinnstillingene for kjøringen. RTAConfiguration.xml-filen opprettes i begynnelsen av kjøringen.
InterOp-filer (*.bin)	InterOp	Binære rapporteringsfiler. InterOp-filer oppdateres gjennom hele kjøringen.
Loggfiler	Logger	Loggfiler beskriver hvert trinn som utføres av instrumentet for hver syklus, og oppgir programvare- og maskinvareversjoner som brukes med kjøringen. Filen som heter [InstrumentName]_CurrentHardware.csv oppgir serienumrene til instrumentkomponenter.
Feilloggfiler (*ErrorLog*.txt)	RTA-logger	Logg over RTA-feil. Feilloggfiler oppdateres når det oppstår en feil.
Globale loggfiler (*GlobalLog*.tsv)	RTA-logger	Logg over alle RTA-hendelser. Globale loggfiler oppdateres gjennom hele kjøringen.
Baneloggfiler (*LaneLog*.txt)	RTA-logger	Logg RTA-behandlingshendelser. Baneloggfiler oppdateres gjennom hele kjøringen.

RTA-feil

Når du skal feilsøke RTA-feil, kontrollerer du først RTA-feilloggen som er lagret i RTALogs-mappen. Denne filen finnes ikke når kjøringene er vellykkede. Ta med feilloggen når du rapporterer om problemer til Illuminas tekniske støtte.

Feilsøkingsfiler for arrayskanninger

Nøkkelfil	Mappe	Beskrivelse
Skanneparameterfiler (ScanParameters.xml)	Rotmappe	Inneholder informasjon om skanneparametere. Informasjon omfatter skannedata, BeadChip-strekkode, klyngefilplassering og manifestfilplassering.
Loggfiler	Logger	Loggfiler beskriver hvert trinn som utføres på instrumentet under skanningen.
Metrikkfiler	[Strekkode]	Metrikk er oppgitt som prøvemetrikk og som delmetrikk. [barcode]_sample_metrics.csv ([strekkode]_prøve_metrikk.csv) – Oppgir Percent Off Image (Prosent av bilde), Percent Outliers (Prosent utestående), P05, P50, P95, Avg FWHM (Gjen. FWHM), Avg FWHM Stddev (Gjen. std.avvik for FWHM) og Min Registration Score (Min. registreringsscore) for hver prøve og kanal (rød og grønn). [barcode]_section_metrics.csv ([strekkode]_del_metrikk.csv) – Oppgir Laser Z-position (Laser Z-posisjon), Through Focus Z-position (Z-posisjon for gjennomgangsfokus), Red FWHM (Rød FWHM), Green FWHM (Grønn FWHM), Red Avg Pixel Intensity (Rød gjen. pikselintensitet), Green Avg Pixel Intensity (Grønn gjen. pikselintensitet), Red Registration Score (Rød registreringsscore) og Green Registration Score (Grønn registreringsscore) for hver del og flis.
Skann fil på nytt	[Strekkode]	[barcode]_rescan.flowcell ([strekkode]_skann på nytt.strømningscelle) – Oppgir flisplasseringene justert for en ny skanning, som omfatter en økt overlapping mellom fliser.

Løse feil under den automatiske kontrollen

Hvis det oppstår feil under den automatiske kontrollen, bruker du følgende anbefalte handlinger for å løse feilen.

Kontroller for sekvenseringskjøringer

Hvis en før kjøring-kontroll mislykkes, låses ikke reagenskasset-RFID og kan brukes til en påfølgende kjøring. RFID for strømningscellen, reagenskassetten og bufferkassetten vil være låst under en initialisering av kontrollprogramvaren, noe som kan være påkrevd for å løse en feil. Brukeren må fjerne strømningscellen, reagenskassetten og bufferkassetten fra instrumentet før en omstart av systemet. I tillegg er RFID for forbruksvarer låst etter at folieforseglingene er brutt. Når en RFID for strømningscelle er lest av programvaren, starter et sju timers tidsur før strømningscellen anses som låst og ubrukelig.

Systemkontroller	Anbefalt tiltak
Dører lukket	Kontroller at kammerdørene er lukket.
Forbruksmaterieell lastet inn	Sensorer for forbruksmaterieell registrerer ikke. Kontroller at alt forbruksmaterieell er lastet riktig inn. I skjermbildene for kjøringssoppsett velger du Back (Tilbake) for å gå tilbake til lastetrinnet, og gjenta kjøringssoppsett.
Nødvendig programvare	Det mangler kritiske komponenter i programvaren. Kontakt Illuminas tekniske støtte.

Systemkontroller	Anbefalt tiltak
Diskplass på instrumentet	Instrumentets harddisk har ikke tilstrekkelig diskplass til å utføre en kjøring. Det er mulig at data fra en tidligere kjøring ikke ble overført. Fjern kjøningsdata fra instrumentets harddisk.
Nettverkstilkobling	Nettverkstilkoblingen er avbrutt. Kontroller nettverksstatusen og den fysiske nettverkstilkoblingen.
Diskplass i nettverket	Nettverksserveren er full.
Temperatur	Anbefalt tiltak
Temperatur	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Temperatursensorer	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Vifter	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Avbildningssystem	Anbefalt tiltak
Avbildningsgrenser	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Z-trinn-og-stabilisering	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Bitfeilrate	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Strømnings-celleregistrering	Det er mulig at strømningscellen ikke er satt riktig på plass. <ul style="list-style-type: none"> I skjermbildene for kjøningsoppsett velger du Back (Tilbake) for å gå tilbake til strømningscelletrinnet. Avbildningskammerdøren åpner seg. Last ut og last på strømningscellen igjen for å kontrollere at den er satt riktig på plass.
Reagenslevering	Anbefalt tiltak
Ventilrespons	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Pumpe	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Buffermekanisme	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Brukte reagenser tomme	Tøm den brukte reagensbeholderen, og last inn den tomme beholderen på nytt.

Kontroller for arrayskanninger

Systemkontroller	Anbefalt tiltak
Dører lukket	Kontroller at kammerdørene er lukket.
Forbruksmaterieell lastet inn	Sensorer for forbruksmaterieell registrerer ikke. Kontroller at alt forbruksmaterieell er lastet riktig inn. I skjermbildene for kjøningsoppsett velger du Back (Tilbake) for å gå tilbake til lastetrinnet, og gjenta kjøningsoppsett.
Nødvendig programvare	Det mangler kritiske komponenter i programvaren. Utfør en manuell programvareoppdatering slik at alle programvarekomponenter gjenopprettes.
Verifisere inndatafiler	Kontroller at banen til klyngefilen og manifestfilen er riktig, og at filene er der.
Diskplass på instrumentet	Instrumentets harddisk har ikke tilstrekkelig diskplass til å utføre en kjøring. Det er mulig at data fra en tidligere kjøring ikke ble overført. Fjern kjøningsdata fra instrumentets harddisk.
Nettverkstilkobling	Nettverkstilkoblingen er avbrutt. Kontroller nettverksstatusen og den fysiske nettverkstilkoblingen.
Diskplass i nettverket	Enten er BaseSpace-kontoen full, eller nettverksserveren full.

Avbildningssystem	Anbefalt tiltak
Avbildningsgrenser	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Z-trinn-og-stabilisering	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Bitfeilrate	Kontakt Illuminas tekniske støtte.
Automatisk midtstilling	Last ut BeadChip-adapteren. Kontroller at BeadChip-en sitter i adapteren, og deretter laster du adapteren inn på nytt.

Brukt reagensbeholder er full

Begynn alltid en kjøring med en tom, brukt reagensbeholder.

Hvis du begynner en kjøring uten å tømme den brukte reagensbeholderen, får systemsensorer programvaren til å sette kjøringen på pause når beholderen er tom. Systemsensorer kan ikke sette en kjøring på pause under klynging, paired-end-resyntese eller den automatiske etter kjøring-vasken.

Når kjøringen settes på pause, åpnes en dialogboks der du kan velge å heve sugeenhetene og tømme den fulle beholderen.

Tømme brukt reagensbeholder

- 1 Velg **Raise Sippers** (Løft sugeenheter).
- 2 Fjern den brukte reagensbeholderen, og kast innholdet på riktig måte.
- 3 Sett den tomme beholderen tilbake i bufferkammeret.
- 4 Velg **Continue** (Fortsett). Kjøringen gjenopptas automatisk.

Arbeidsprosess for rehybridisering

Det kan være nødvendig med en rehybridiseringskjøring hvis metrikk generert i løpet av de første syklusene viser intensiteter under 2500. Noen biblioteker med lite mangfold kan vise intensiteter under 1000, noe som er forventet og ikke kan løses med rehybridisering.

MERK Kommandoen End Run (Avslutt kjøring) er endelig. Kjøringen kan ikke gjenopptas, forbruksmaterieell kan ikke brukes på nytt, og sekvenseringsdata fra kjøringen lagres ikke.

Når du avslutter en kjøring, utfører programvaren følgende trinn før kjøringen avsluttes:

- ▶ Plasserer strømningscellen i en sikker tilstand.
- ▶ Låser strømningscelle-RFID-en for en senere kjøring.
- ▶ Tilordner strømningscellen en utløpsdato for rehybridisering.
- ▶ Skriver kjøringsloggene for fullførte sykluser. En forsinkelse er helt normalt.
- ▶ Omgår den automatiske etter kjøring-vasken.

Når du starter en rehybridiseringskjøring, utfører programvaren følgende trinn for å utføre kjøringen:

- ▶ Oppretter en mappe basert på et unikt kjøringsnavn.
- ▶ Kontrollerer at strømningscellens rehybridiseringsdato ikke er utløpt.
- ▶ Primer reagenser. En forsinkelse er helt normalt.
- ▶ Hopper over klyngingstrinnet.

- ▶ Fjerner den forrige primeren for Read 1 (Avlesning 1).
- ▶ Hybridiserer en ny primer for Read 1 (Avlesning 1).
- ▶ Fortsetter gjennom Read 1 (Avlesning 1) og resten av kjøringen basert på angitte kjøringsparametere.

Punkter der en kjøring kan avsluttes for rehybridisering

Det er kun mulig å rehybridisere senere hvis du avslutter kjøringen på følgende punkter:

- ▶ **Etter syklus 5** – Intensiteter vises etter malregistrering, noe som krever de første 5 syklusene eller sekvensering. Selv om det er trygt å avslutte en kjøring etter syklus 1, anbefales det å avslutte etter syklus 5. Ikke avslutt en kjøring under klyngegenerering.
- ▶ **Read 1 (Avlesning 1) eller Index 1 Read (Indeks 1-avlesning)** – Avslutt kjøringen *før* paired-end-resyntese starter. Strømningscellen kan ikke lagres for rehybridisering senere når paired-end-resyntese har startet.

Nødvendig forbruksmateriell

En rehybridiseringskjøring krever en ny NextSeq 550Dx-reagenskasset og -bufferkasset uavhengig av når kjøringen ble stoppet.

Avslutte den aktuelle kjøringen

- 1 Velg **End Run** (Avslutt kjøring). Når du blir bedt om å bekrefte kommandoen, velger du **Yes** (Ja).
- 2 Når du blir bedt om å lagre strømningscellen, velger du **Yes** (Ja). Legg merke til utløpsdatoen for rehybridisering.
- 3 Fjern den lagrede strømningscellen, og sett den til side ved 2 °C til 8 °C til du er klar til å konfigurere rehybridiseringskjøringen.

MERK Du kan lagre strømningsceller i opptil 7 dager ved 2 °C til 8 °C i plastesken *uten* tørkemiddelpakken. De beste resultatene oppnås hvis du rehybridiserer den lagrede strømningscellen innen 3 dager.

Utføre en manuell vask

- 1 Velg **Perform Wash** (Utfør vasking) i startskjermbildet.
- 2 Velg **Manual Post-Run Wash** (Manuell etter kjøring-vask) i skjermbildet Wash Selection (Velg vask). Se *Utføre en manuell vask* på side 35.

MERK Hvis du ikke har fjernet reagenskassetten og bufferkassetten fra den stoppede kjøringen, kan du bruke dem til den manuelle vasken. Ellers utfører du den manuelle vasken med reagensvaskekassetten og buffervaskekassetten.

Konfigurere en ny kjøring på fanen Prep (Klargjør) for BaseSpace

- 1 Hvis instrumentet er konfigurert for BaseSpace eller BaseSpace Onsite, konfigurerer du en ny kjøring på fanen Prep (Klargjør) med de samme parameterne som for den opprinnelige kjøringen.

TIPS Klikk på fanen Pools (Sammenslåinger), velg riktig sammenslåings-ID for å beholde de tidligere kjøringstillingene, og deretter tilordner du den nye kjøringen et unikt navn.

Konfigurere en kjøring på instrumentet

- 1 Klargjør en ny reagenskassett.
- 2 Hvis den lagrede strømningscellen ble oppbevart, lar du den nå romtemperatur (15–30 minutter).
- 3 Rengjør og last inn den lagrede strømningscellen.
- 4 Fjern den brukte reagensbeholderen, og kast innholdet på riktig måte før du laster den tomme beholderen inn igjen.
- 5 Last inn den nye bufferkassetten og reagenskassetten.
- 6 Velg blant følgende alternativer i skjermbildet Run Setup (Kjøringsoppsett):
 - ▶ **BaseSpace eller BaseSpace Onsite** – Velg kjøringen, og bekreft kjøringensparametrene.
 - ▶ **Standalone** (Frittstående) – Skriv inn navnet på kjøringen, og angi de samme parameterne som for den opprinnelige kjøringen.
- 7 Gå til før kjøring-kontrollen og start kjøringen ved å velge **Next** (Neste).

BeadChip og skannefeil

Programvaren kan ikke lese BeadChip-strekkoden

Når dialogboksen for strekkodefeil vises, velger du ett av følgende alternativer:

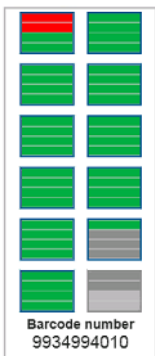
- ▶ Velg **Rescan** (Skann på nytt). Programvaren prøver å lese strekkoden på nytt.
- ▶ Velg tekstfeltet, og angi den numeriske strekkoden som vist på bildet. Avhengig av BeadChip-en kan strekkodenumre ha opptil 12 sifre. Velg **Save** (Lagre). Strekkodebildet lagres i utdatamappen.
- ▶ Velg **Cancel** (Avbryt). Avbildningskammerdøren åpner seg for å laste ut BeadChip-adapteren.

Mislykket BeadChip-skanning

Bilder registreres etter at de er skannet. Registrering identifiserer kuler ved å korrelere plasseringer på det skannede bildet med informasjon som er oppgitt på kulekartet eller i DMAP-mappen.

Deler der registrering mislykkes angis i rødt på BeadChip-bildet.

Figur 28 BeadChip som viser mislykkede deler



Når skanningen er fullført og skannedataene er skrevet til utdatamappen, blir knappen Rescan (Skann på nytt) aktiv.

Når Rescan (Skann på nytt) er valgt, utfører programvaren følgende trinn:

- ▶ Skanner prøver på nytt hvis de inneholder mislykkede deler, ved hjelp av en økt overlapping mellom fliser.
- ▶ Genererer utdatafiler i den opprinnelige utdatamappen.
- ▶ Overskriver tidligere utdatafiler for mislykkede deler.
- ▶ Øker skannetelleren i trinn på 1 for hver ny skanning, men gjør det i bakgrunnen. Programvaren gir ikke utdatamappen nytt navn.

Skanne på nytt eller starte ny skanning

- 1 Hvis du vil skanne prøver som inneholder mislykkede deler, velger du **Rescan** (Skann på nytt).
- 2 Hvis skanningen mislykkes igjen, avslutter du skanningen.
- 3 Ta BeadChip-en og adapteren ut, og undersøk BeadChip-en med tanke på støv eller smuss. Bruk trykkluft på boks eller annen metode med trykkluft for å fjerne støv og smuss.
- 4 Last BeadChip-en inn på nytt, og start en ny skanning.
Når en ny skanning er startet, utfører programvaren følgende trinn:
 - ▶ Skanner hele BeadChip-en.
 - ▶ Genererer utdatafiler i en ny utdatamappe.
 - ▶ Øker skannetelleren i trinn på 1 basert på skannetallet for den siste skanningen.

Skifte ut manifestfiler og klyngefiler

- 1 Gå til Illuminas støtteside (support.illumina.com) for BeadChip-en du bruker, og klikk på fanen **Downloads** (Nedlastinger).
- 2 Last ned filene som skal skiftes ut eller oppdateres, og kopier filene til den foretrukne nettverksplasseringen.

MERK Sørg for at du velger manifest- og klyngefiler som er kompatible med NextSeq 550Dx-instrumentsystemet. Kompatible filer inneholder **NS550** i filnavnet.

- 3 Kun hvis plasseringen er endret, oppdaterer du plasseringen i skjermbildet BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skannekonfigurasjon) på følgende måte:
 - a Velg **Manage Instrument** (Håndter instrument) i startskjermbildet for NSC.
 - b Velg **System Configuration** (Systemkonfigurasjon).
 - c Velg **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skannekonfigurasjon).
- 4 Velg **Browse** (Bla gjennom), og naviger til plasseringen for filene som er skiftet ut eller oppdatert.

Tilpasse oppskrifter og oppskriftsmapper

Du må ikke endre opprinnelige oppskrifter. Lag alltid en kopi av den opprinnelige oppskriften med et nytt navn. Hvis en opprinnelig oppskrift endres, vil ikke programvareoppdateringen lenger gjenkjenne oppskriften for senere oppdateringer, og nyere versjoner installeres ikke.

Lagre tilpassede oppskrifter i den aktuelle oppskriftsmappen. Oppskriftsmapper er organisert på følgende måte.

- 📁 **Custom** (Tilpasset)
 - 📁 **High** (Høy) – Tilpassede oppskrifter som brukes med et sett med høy ytelse.
 - 📁 **Mid** (Middels) – Tilpassede oppskrifter som brukes med et sett med middels ytelse.
- 📁 **High** (Høy) – Opprinnelige oppskrifter som brukes med et sett med høy ytelse.
- 📁 **Mid** (Middels) – Opprinnelige oppskrifter som brukes med et sett med middels ytelse.
- 📁 **Wash** (Vask) – Inneholder oppskriften for manuell vask.

RAID-feilmelding

NextSeq 550Dx-datamaskinen er utstyrt med fire harddisker – to for diagnostisk modus og to for forskningsmodus. Hvis en harddisk begynner å svikte, genererer systemet en RAID-feilmelding og foreslår at du kontakter Illuminas tekniske støtte. Vanligvis må harddisken skiftes ut.

Du kan fortsette med kjøringssoppsettrinnene og normal drift. Formålet med meldingen er å planlegge service på forhånd slik at avbrudd i normal drift, unngås. Kun en administrator kan kvittere for RAID-advarselen. Hvis du bruker instrumentet med kun én harddisk, kan det føre til tap av data.

Konfigurerer systeminnstillinger

Systemet konfigureres under installasjon. Hvis det er behov for en endring, eller hvis systemet må konfigureres på nytt, brukes imidlertid alternativene for systemkonfigurasjon. Kun en Windows-administratorkonto har tillatelse til å oppnå tilgang til alternativer for systemkonfigurasjon.

- ▶ **Network Configuration** (Nettverkskonfigurasjon) – gir alternativer for IP-adresseinnstillinger, adresse for domenenavnserver (DNS), datamaskinnavn og domenenavn.

Angi nettverkskonfigurasjon

- 1 Velg **System Configuration** (Systemkonfigurasjon) i skjermbildet Manage Instrument (Håndter instrument).
- 2 Velg **Obtain an IP address automatically** (Hent inn en IP-adresse) for å hente IP-adressen via DHCP-serveren.

MERK Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) er en standard nettverksprotokoll som brukes på IP-nettverk for dynamisk distribusjon av parametre for nettverkskonfigurasjon.

Alternativt velger du **Use the following IP address** (Bruk følgende IP-adresse) for å koble instrumentet til en annen server manuelt på følgende måte. Kontakt nettverksadministratoren for å få informasjon om adressene som er spesifikke for institusjonen.

- ▶ Skriv inn IP-adressen. IP-adressen består av fire tall atskilt med punktum, f.eks. 168.62.20.37.
- ▶ Skriv inn nettverksmasken, som er en underinndeling av IP-nettverket.
- ▶ Skriv inn standard gateway, som er ruterens på nettverket og koblingen til Internett.

- 3 Velg **Obtain a DNS server address automatically** (Hent inn en DNS-serveradresse automatisk) for å koble instrumentet til domenenavnserveren tilknyttet IP-adressen.
Alternativt velger du **Use the following DNS server addresses** (Bruk følgende DNS-serveradresser) for å koble instrumentet til domenenavnserveren manuelt på følgende måte.

- ▶ Skriv inn foretrukket DNS-adresse. DNS-adressen er servernavnet som brukes til å oversette domenenavn til IP-adresser.
 - ▶ Skriv inn alternativ DNS-adresse. Den alternative adressen brukes hvis foretrukket DNS ikke kan oversette et bestemt domene til en IP-adresse.
- 4 Gå til skjermbildet Computer (Datamaskin) ved å velge **Save** (Lagre).

MERK Instrumentdatamaskinnavnet tilordnes instrumentdatamaskinen under produksjonen. Eventuelle endringer i datamaskinnavnet kan påvirke tilkoblingsevnen, og krever en nettverksadministrator.

- 5 Koble instrumentets datamaskin til et domene eller en arbeidsgruppe på følgende måte.
- ▶ **For instrumenter som er tilkoblet Internett** – Velg **Member of Domain** (Medlem av domene) og angi deretter domenenavnet knyttet til Internett-forbindelsen ved institusjonen. Domeneendringer krever en administrators brukernavn og passord.
 - ▶ **For instrumenter som ikke er tilkoblet Internett** – Velg **Member of Work Group** (Medlem av arbeidsgruppe), og angi deretter et arbeidsgruppenavn. Arbeidsgruppenavnet er unikt for institusjonen.
- 6 Velg **Save** (Lagre).

Angi analysekonfigurasjon

- 1 Velg **System Configuration** (Systemkonfigurasjon) i skjermbildet Manage Instrument (Håndter instrument).
- 2 Velg **Analysis Configuration** (Analysekonfigurasjon).
- 3 Velg blant følgende alternativer for å angi en plassering der data overføres for påfølgende analyse.
 - ▶ Send sekvenseringsdata til Illumina BaseSpace ved å velge **BaseSpace**. **[Valgfritt]** Velg avmerkingsboksen **Output Folder** (Utdatamappe), velg **Browse** (Bla gjennom), og naviger til en sekundær nettverksplassering hvis du vil lagre BCL-filer i tillegg til BaseSpace.
 - ▶ Velg **BaseSpace Onsite**. I feltet Server Name (Servernavn) angir du hele banen til BaseSpace Onsite-serveren din. **[Valgfritt]** Velg avmerkingsboksen **Output Folder** (Utdatamappe), velg **Browse** (Bla gjennom), og naviger til en sekundær nettverksplassering hvis du vil lagre BCL-filer i tillegg til BaseSpace Onsite-serveren.
 - ▶ Hvis du kun vil lagre data til en nettverksplassering, velger du **Standalone instrument** (Frittstående instrument). Velg **Browse** (Bla gjennom), og naviger til en foretrukket nettverksplassering. Kontrollprogramvaren genererer utdatamappens navn automatisk.
 - ▶ **[Valgfritt]** Velg **Use Run Monitoring** (Kjøringsovervåkning) hvis du vil overvåke kjøringen ved hjelp av visualiseringsverktøy på BaseSpace. Dette krever BaseSpace-pålogging og Internett-tilkobling.
- 4 Hvis du har valgt BaseSpace eller BaseSpace Onsite, konfigurerer du BaseSpace-parameterne på følgende måte.
 - ▶ Registrer instrumentet med BaseSpace ved å angi et **User Name** (Brukernavn) og **Password** (Passord) for BaseSpace.
 - ▶ Konfigurer registrert brukernavn og passord som standard pålogging ved å velge **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Bruk standard pålogging, og omgå påloggingsskjermbildet for BaseSpace). Denne innstillingen omgår skjermbildet BaseSpace under kjøringssoppsett.

- 5 Aktiver Illumina Proactive-overvåkningstjenesten ved å velge **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Send instrumentytelsesdata til Illumina) (Send informasjon om instrumentets intakthet til Illumina). Navnet på innstillingen i programvaregrensesnittet kan være forskjellig fra navnet i denne håndboken, avhengig av hvilken NCS-versjon som brukes.

Når denne innstillingen er aktivert, sendes instrumentytelsesdata til Illumina. Disse dataene gjør det enklere for Illumina å feilsøke og påvise potensielle feil, slik at proaktivt vedlikehold kan utføres og instrumentets driftstid maksimeres. Du finner mer informasjon om fordelene ved denne tjenesten i *Illumina proaktiv teknisk merknad (dokumentnr. 1000000052503)*.

Denne tjenesten:

- ▶ Sender ikke sekvenseringsdata
- ▶ Krever at instrumentet er koblet til et nettverk med Internett-tilgang
- ▶ Er slått av som standard. Du kan velge denne tjenesten ved å aktivere innstillingen **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Send instrumentytelsesdata til Illumina).

- 6 Velg **Save** (Lagre).

BeadChip-skannekonfigurasjon

- 1 Velg **System Configuration** (Systemkonfigurasjon) i skjermbildet Manage Instrument (Håndter instrument).
- 2 Velg **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skannekonfigurasjon).
- 3 Hvis du vil angi en standardplassering for DMAP-mappe, velger du **Browse** (Bla gjennom) og navigerer til den foretrukne mappeplasseringen i institusjonens nettverk.

MERK Last ned og kopier DMAP-innholdet til denne plasseringen før hver skanning. DMAP-innhold kreves for hver BeadChip, og er unik for hver BeadChip-strekkode.

- 4 Hvis du vil angi en standard utdataplassering, velger du **Browse** (Bla gjennom) og navigerer til den foretrukne plasseringen i institusjonens nettverk.
- 5 Velg et bildefilformat for lagrede bilder. Standard bildetype er **JPG**.
- 6 Velg et utdatafilformat for skannedata. Standard utdatafiltype er **GTC only** (Kun GTC).
- 7 Velg **Save** (Lagre).
- 8 Angi hele banen til manifestfilen og klyngefilen for hver BeadChip-type i skjermbildet Scan Map (Skannekart). Velg **Browse** (Bla gjennom) for hver filtype, og naviger til mappeplasseringen som inneholder disse filene.
- 9 **[Valgfritt]** Hvis du vil fjerne foreldede BeadChip-er fra visning, velger du **Hide Obsolete BeadChips** (Skjul foreldede BeadChip-er).
- 10 Velg **Save** (Lagre).

Vedlegg B Sanntidsanalyse

Oversikt over sanntidsanalyse	53
Arbeidsprosess for sanntidsanalyse	54

Oversikt over sanntidsanalyse

NextSeq 550Dx-instrumentet bruker en implementering av programvare for sanntidsanalyse (RTA) som kalles RTA2. RTA2 kjører på instrumentdatamaskinen og ekstraherer intensiteter fra bilder, utfører basebetegnelse og tilordner en kvalitetsscore til basebetegnelsen. RTA2 og operativprogramvaren kommuniserer gjennom et HTTP-grensesnitt på nettet og delte minnefiler. Hvis RTA2 avsluttes, gjenopptas ikke behandlingen, og kjøringdata lagres ikke.

RTA2-inndata

RTA2 krever følgende inndata for behandling:

- ▶ Flisbilder plassert i et lokalt systemminne.
- ▶ **RunInfo.xml**, som genereres automatisk i begynnelsen av kjøringen og gir kjøringnavnet, antall sykluser, om en avlesning skal indekseres og antall fliser på strømningscellen.
- ▶ **RTA.exe.config**, som er en programvarekonfigurasjonsfil i XML-format.

RTA2 mottar kommandoer fra operativprogramvaren om plasseringen til **RunInfo.xml** og om en valgfri utdatamappe er angitt.

RTA2-utdatafiler

Bilder for hver kanal **passeres** i minne som fliser. Fliser er små avbildningsområder på strømningscellen definert som synsfeltet av kameraet. Programvaren bruker disse bildene til å frembringe primære utdata som et sett med kvalitetsscorede basebetegnelsesfiler og filterfiler. Alle andre filer er støttende utdatafiler.

Filtype	Beskrivelse
Basebetegnelsesfiler	Hver flis som analyseres, inkluderes i en aggregert basebetegnelsesfil (*.bcl.bgzf) for hver bane og for hver syklus. Den aggregerte basebetegnelsesfilen inneholder basebetegnelsen og tilknyttet kvalitetsscore for hver klynge i denne banen.
Filterfiler	Hver flis frembringer informasjon som aggregeres til 1 filterfil (*.filter) for hver bane. Filterfilen angir om en klynge passerer filtre.
Klyngeplasseringsfiler	Klyngeplasseringsfiler (*.locs) inneholder X-,Y-koordinater for hver klynge i en flis. En klyngeplasseringsfil genereres for hver bane under generering av maler.
Basebetegnelsesindeksfiler	En basebetegnelsesindeksfil (*.bci) frembringes for hver bane for å bevare den opprinnelige flisinformatjonen. Indeksfilen inneholder et verdipar for hver flis, som er flisnummer og antall klynger for denne flisen.

RTA2 gir metrikk i sanntid for kjøringkvalitet lagret som InterOp-filer. InterOp-filer er binære utdata som inneholder flis, syklus og metrikk på lesnivå.

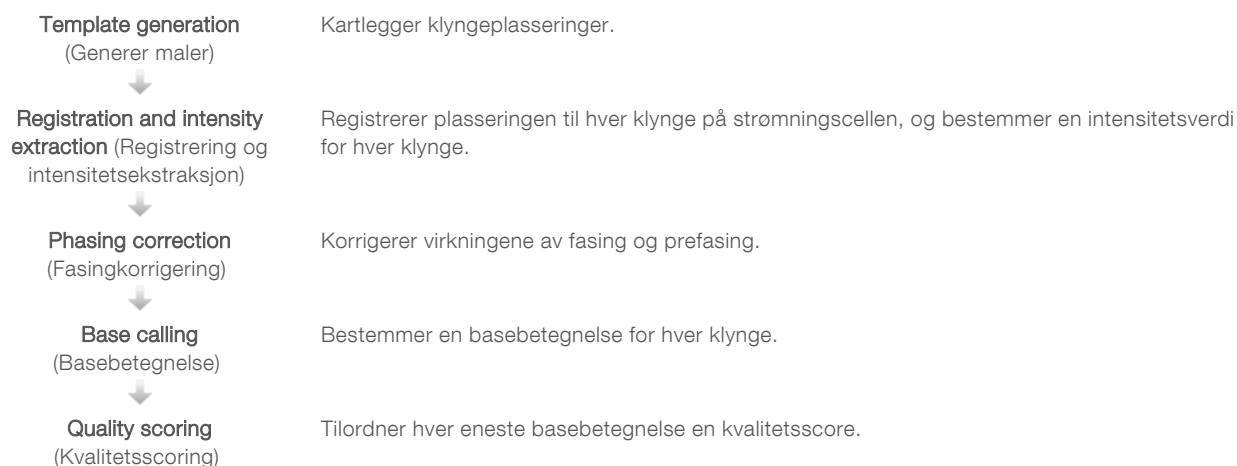
Feilhåndtering

RTA2 oppretter loggfiler og skriver dem til RTALogs-mappen. Feil registreres i en feilfil i *.tsv-filformat.

Følgende logg- og feilfiler overføres til det endelige utdatamålet etter endt behandling:

- ▶ *GlobalLog*.tsv sammenfatter viktige kjøringshendelser.
- ▶ *LaneNLog*.tsv oppgir behandlingshendelser for hver bane.
- ▶ *Error*.tsv oppgir feil som oppsto under en kjøring.
- ▶ *WarningLog*.tsv oppgir advarsler som oppsto under en kjøring.

Arbeidsprosess for sanntidsanalyse



Generere maler

Det første trinnet i RTA-arbeidsprosessen er generering av maler, som definerer posisjonen til hver klynge i en flis ved hjelp av X- og Y-koordinater.

Generering av maler krever billedata fra de første 5 syklusene i kjøringen. Etter at den siste malsyklusen for en flis er avbildet, genereres malen.

MERK Hvis en klynge skal kunne detekteres under generering av maler, må det være minst 1 annen base enn G i de første 5 syklusene. Når det gjelder indekssekvenser, krever RTA2 minst 1 annen base enn G i de første 2 syklusene.

Malen brukes som en referanse for det påfølgende trinnet med registrering og intensitetsekstraksjon. Klyngeposisjoner for hele strømningscellen skrives til klyngeplasseringsfiler (*.locs), 1 fil for hver bane.

Registrering og intensitetsekstraksjon

Registrering og intensitetsekstraksjon starter etter generering av maler.

- ▶ Registrering innretter bilder produsert i løpet av hver påfølgende syklus i avbildningen med malen.
- ▶ Intensitetsekstraksjon bestemmer en intensitetsverdi for hver klynge i malen for et gitt bilde.

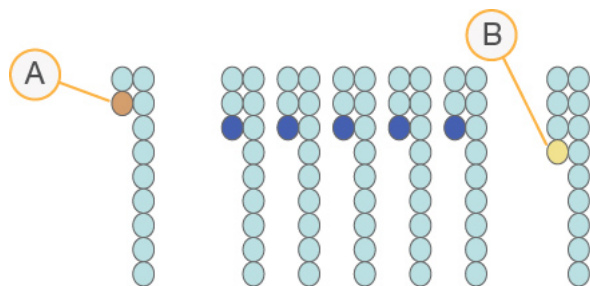
Hvis registrering mislykkes for bilder i en syklus, genereres ingen basebetegnelser for denne flisen i denne syklusen.

Fasingkorrigering

Under sekvenseringsreaksjonen utvides hver DNA-streng i en klynge med 1 base per syklus. Fasing og prefasing forekommer når en streng havner utenfor fase med den aktuelle inkorporasjonssyklusen.

- ▶ Fasing forekommer når en base havner på etterskudd.
- ▶ Prefasing forekommer når en base hopper fremover.

Figur 29 Fasing og prefasing



- A Avles med en base som er fasing.
- B Avles med en base som er prefasing.

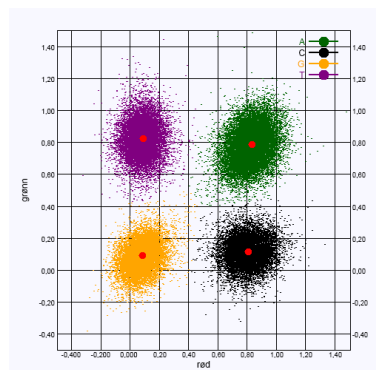
RTA2 korrigerer virkningene av fasing og prefasing, noe som maksimerer datakvaliteten i hver syklus gjennom hele kjøringen.

Basebetegnelse

Basebetegnelse bestemmer en base (A, C, G eller T) for hver klynge for en gitt flis ved en spesifikk syklus. NextSeq 550Dx-instrumentet bruker 2-kanalssekvensering som kun krever 2 bilder for å kode dataene for 4 DNA-baser: 1 fra den røde kanalen og 1 fra den grønne kanalen.

Intensiteter som ekstraheres fra et bilde sammenlignet med et annet bilde, gir 4 distinkte populasjoner som hver tilsvarende en nukleotid. Basebetegnelsesprosessen bestemmer hvilken populasjon hver klynge tilhører.

Figur 30 Visualisering av klyngeintensiteter



Tabell 1 Basebetegnelser i 2-kanalssekvensering

Base	Rød kanal	Grønn kanal	Resultat
A	1 (på)	1 (på)	Klynger som viser intensitet i både de røde og grønne kanalene.
C	1 (på)	0 (av)	Klynger som viser intensitet i kun den røde kanalen.
G	0 (av)	0 (av)	Klynger som ikke viser noen intensitet på en kjent klyngeplassering.
T	0 (av)	1 (på)	Klynger som viser intensitet i kun den grønne kanalen.

Klyngepasserende filter

Under kjøringen filtrerer RTA2 rådata for å fjerne avlesninger som ikke oppfyller datakvalitetsterskelen. Overlappende klynger og klynger av lav kvalitet, fjernes.

Til 2-kanalsanalyse bruker RTA2 et populasjonsbasert system for å bestemme renheten til en basebetegnelse. Klynger passerer filter (PF) når ikke mer enn én basebetegnelse i de første 25 syklusene har en renhet på $< 0,63$. Klynger som ikke passerer filter, basebetegnes ikke.

Hensyn å ta ved indeksering

Prosessen for basebetegnellesindeksavlesninger avviker fra basebetegnelse ved andre avlesninger.

Indeksavlesninger må starte med minst 1 base som ikke er G, i én av de 2 første syklusene. Hvis en indeksavlesning starter med 2 G-basebetegnelser, genereres det ingen signalintensitet. Signalet må være til stede i én av de 2 første syklusene for å kunne sikre demultipleksing.

Hvis du vil øke robustheten til demultipleksingen, velger du indekssekvenser som gir signal i minst 1 kanal, fortrinnsvis begge kanaler, for hver syklus. Følger du denne retningslinjen, unngår du indeksskombinasjoner som fører til kun G-baser i alle sykluser.

- ▶ Rød kanal – A eller C
- ▶ Grønn kanal – A eller T

Denne basebetegnellesprosessen sikrer nøyaktighet ved analysing av få prøver samtidig.

Kvalitetsscoring

En kvalitetsscore, eller Q-score, er en prediksjon av sannsynligheten for en feil basebetegnelse.

En høyere Q-score innebærer at en basebetegnelse har høyere kvalitet og mer sannsynlig å være korrekt.

Q-score er en kompakt måte å kommunisere sannsynligheter for små feil. Kvalitetsscore representeres som $Q(X)$, der X er scoren. Følgende tabell viser forholdet mellom kvalitetsscore og sannsynlighet for feil.

Q-score $Q(X)$	Sannsynlighet for feil
Q40	0,0001 (1 av 10 000)
Q30	0,001 (1 av 1 000)
Q20	0,01 (1 av 100)
Q10	0,1 (1 av 10)

MERK Kvalitetsscoring er basert på en endret versjon av Phred-algoritmen.

Kvalitetsscoring beregner et sett med prediktorer for hver basebetegnelse, og bruker deretter prediktorverdiene for å slå opp Q-scoren i en kvalitetstabell. Kvalitetstabeller opprettes for å gi optimalt nøyaktige kvalitetsprediksjoner for kjøring som er generert av en spesifikk konfigurering av sekvenseringsplattform og kjemiversjon.

Etter at Q-scoren er fastslått, registreres resultater i basebetegnellesfiler (*.bcl.bgzf).

Vedlegg C Utgangsfiler og -mapper

Sekvenseringsutdatafiler	57
Utdatamappens struktur	60
Skanne utdatafiler	61
Skanne utdatamappens struktur	61

Sekvenseringsutdatafiler

Filtype	Filtype, -plassering og -navn
Basebetegnelsesfiler	Hver analyserte flis er inkludert i en basebetegnelsesfil, som er aggregerte i 1 fil for hver bane, for hver syklus. Den aggregerte filen inneholder basebetegnelsen og kodet kvalitetsscore for hver klynge for denne banen. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer lagres i 1 mappe for hver bane. [Cycle].bcl.bgzf, der [Cycle] representerer syklusnummeret med 4 sifre. Basebetegnelsesfiler komprimeres ved hjelp av blokk-GZip-komprimering.
Basebetegnelsesindeksfil	For hver bane oppgir en binær indeksfil den opprinnelige flisinformasjonen i et verdipar for hver flis, som er filnummer og antall klynger for flisen. Basebetegnelsesindeksfiler opprettes den første gangen en basebetegnelsesfil opprettes for denne banen. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer lagres i 1 mappe for hver bane. s_[Lane].bci
Klyngeplasseringsfiler	For hver flis aggregeres XY-koordinatene for hver klynge til 1 klyngeplasseringsfil for hver bane. Klyngeplasseringsfiler er resultatet av generering av maler. Data\Intensities\L00[X] – Filer lagres i 1 mappe for hver bane. s_[lane].locs
Filterfiler	Filterfilen angir om en klynge passerte filtre. Filterinformasjon aggregeres til 1 filterfil for hver bane og avlesning. Filterfiler genereres i syklus 26 med 25 sykluser med data. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer lagres i 1 mappe for hver bane. s_[bane].filter
InterOp-filer	Binære rapporteringsfiler. InterOp-filer oppdateres gjennom hele kjøringen. InterOp-mappe
RTA-konfigurasjonsfil	RTA-konfigurasjonsfilen opprettes i begynnelsen av kjøringen, og oppgir innstillinger for kjøringen. [Root folder], RTAConfiguration.xml
Kjøringsinformasjonsfil	Oppgir kjøringens navn, antall sykluser i hver avlesning, om avlesningen er en indeksert avlesning og antall runder og fliser på strømningscellen. Kjøringsinformasjonsfilen opprettes i begynnelsen av kjøringen. [Root folder], RunInfo.xml

Strømningscellefliser

Fliser er små avbildningsområder på strømningscellen definert som synsfeltet av kameraet. Totalt antall fliser avhenger av antall baner, runder og overflater som avbildes på strømningscellen og hvordan kameraene samarbeider for å samle inn bildene. Strømningsceller med høy ytelse har 864 fliser totalt.

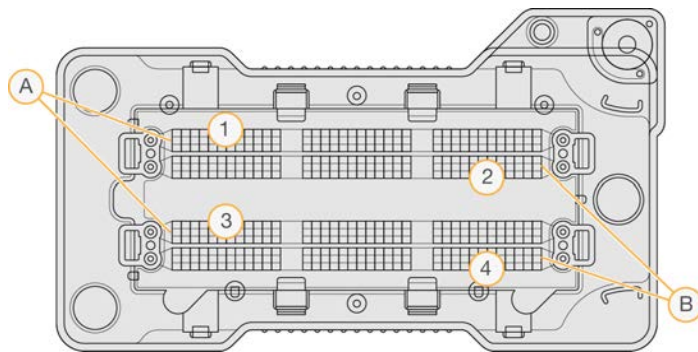
Tabell 2 Strømningscellefliser

Strømningscellekomponent	Høy ytelse	Beskrivelse
Baner	4	En bane er en fysisk kanal med egne innløps- og utløpsporter.
Overflater	2	Strømningscellen avbildes på 2 overflater – oversiden og undersiden. Oversiden av 1 flis avbildes, deretter avbildes undersiden av den samme flisen før det går videre til neste flis.
Runder per bane	3	En runde er en søyle med fliser i en bane.
Kamerasegmenter	3	Instrumentet bruker 6 kameraer for å avbilde strømningscellen i 3 segmenter for hver bane.
Fliser per runde per kamerasegment	12	En flis er i området på strømningscellen som kameraet ser som 1 bilde.
Antall fliser avbildet totalt	864	Det totale antallet fliser er lik baner × overflater × runder × kamerasegmenter × fliser per runde per segment.

Banenummerering

Bane 1 og 3, som kalles banepar A, avbildes samtidig. Bane 2 og 4, som kalles banepar B, avbildes når avbildning av banepar A er fullført.

Figur 31 Banenummerering

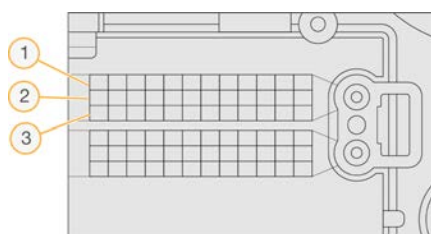


- A Banepar A – bane 1 og 3
- B Banepar B – bane 2 og 4

Rundenummerering

Hver bane avbildes i 3 runder. Runder er nummerert 1–3 for strømningsceller med høy ytelse.

Figur 32 Rundenummerering

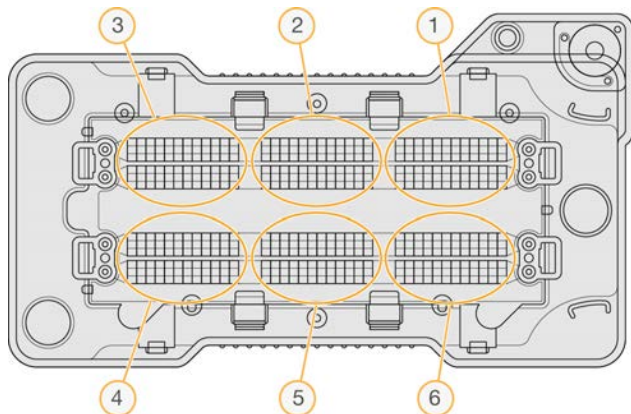


Kameranummerering

NextSeq 550Dx-instrumentet bruker 6 kameraer for å avbilde strømningssellen.

Kameraene er nummerert 1–6. Kamera 1–3 bildebane 1. Kamera 4–6 bildebane 3. Etter at bane 1 og 3 er avbildet, beveger avbildningsmodulen seg på X-aksen for å avbilde bane 2 og 4.

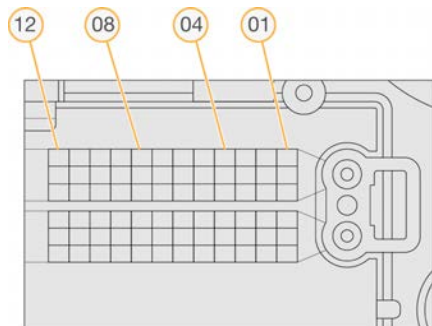
Figur 33 Kamera- og segmentnummerering (strømningsselle med høy ytelse vises)



Flisnummerering

Det er 12 fliser i hver runde for hvert kamerasegment. Fliser er nummerert 01–12 uavhengig av rundenummer eller kamerasegment, og er representert i 2 sifre.

Figur 34 Flisnummerering



Hele flisnummeret inneholder 5 sifre for å representere plasseringen på følgende måte:

- ▶ **Surface** (Overflate) – 1 representerer oversiden; 2 representerer undersiden
- ▶ **Swath** (Runde) – 1, 2 eller 3
- ▶ **Camera** (Kamera) – 1, 2, 3, 4, 5 eller 6
- ▶ **Tile** (Flis) – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 eller 12

Eksempel: Flisnummer 12508 angir overside, runde 2, kamera 5 og flis 8.

Hele det 5-sifrede nummeret brukes i filnavnet til miniatyrbilder og empiriske fasingsfiler. Du finner mer informasjon under [Sekvenseringsutdatafiler på side 57](#).

Utdatamappens struktur


Operativprogramvaren genererer utdatamappens navn automatisk.


Data


Intensities (Intensiteter)

BaseCalls (Basebetegnelser)

 L001 – Basebetegnelsesfiler for bane 1, aggregert i 1 fil per syklus.

 L002 – Basebetegnelsesfiler for bane 2, aggregert i 1 fil per syklus.

 L003 – Basebetegnelsesfiler for bane 3, aggregert i 1 fil per syklus.

 L004 – Basebetegnelsesfiler for bane 4, aggregert i 1 fil per syklus.

 L001 – En aggregert *.locs-fil for bane 1.

 L002 – En aggregert *.locs-fil for bane 2.

 L003 – En aggregert *.locs-fil for bane 3.

 L004 – En aggregert *.locs-fil for bane 4.

Images (Bilder)


Focus (Fokus)


 L001 – Fokusbilder for bane 1.

 L002 – Fokusbilder for bane 2.

 L003 – Fokusbilder for bane 3.

 L004 – Fokusbilder for bane 4.

 InterOp – Binærfiler.

 Logs (Logger) – Loggfiler som beskriver operative trinn.

 Recipe (Oppskrift) – Kjøringsspesifikk oppskriftsfil navngitt med reagenskasset-ID.

 RTALogs – Loggfiler som beskriver analysetrinn.

 RTAComplete.txt

 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

Skanne utdatafiler

Filtype	Filtype, -plassering og -navn
GTC-filer	Genotypebetegnelsesfil. Det genereres en GTC-fil for hver prøve som skannes på BeadChip-en. Filnavnet inneholder den skannede strekkoden og prøven. [strekkode]_[prøve].gtc
Bildefiler	Bildefiler får navn i henhold til området som skannes på BeadChip-en. Navnet inneholder strekkoden, prøven og delen på BeadChip-en, runden og avbildningskanalen (rød eller grønn). [strekkode]_[prøve]_[del]_[runde]_[kamera]_[flis]_[kanal].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Strekkode – Filnavnet starter med BeadChip-strekkoden. • Prøve – Et område av BeadChip-en, som er nummerert som en rad (ROX), fra øverst til nederst, og kolonne (COX) fra venstre mot høyre. • Del – En nummerert del i en prøve. • Runde – BeadChip-er avbildes som en samling overlappende fliser. Det brukes derfor kun 1 runde for å avbilde denne delen. • Kamera – Kameraet som brukes til å ta bildet. • Flis – Et bildeområde definert som synsfeltet av kameraet. • Kanal – En kanal er enten rød eller grønn.

Skanne utdatamappens struktur

- 📁 [Dato]_[Instrumentnavn]_[Skanning nr.]_[Strekkode]
 - 📁 [Strekkode]
 - 📁 Config (Konfig.)
 - 📄 Effektiv konfigurasjon – Registrerer konfigurasjonsinnstillinger som brukes under skanningen.
 - 📁 Focus (Fokus) – Inneholder bildefiler som brukes til å fokusere skanningen.
 - 📁 Logs (Logger) – Inneholder loggfiler som oppgir hvert trinn som utføres under skanningen.
 - 📁 PreScanDiagnosticFiles
 - 📁 [Dato_klokkeslett] Barcode Scan (Strekkodeskanning)
 - 📄 ProcessedBarcode.jpg – Bilde av BeadChip-strekkode.
 - 📄 Skannediagnostikk (loggfiler)
 - 📄 PreScanChecks.csv – Registrerer resultater av den automatiske kontrollen.
 - 📄 GTC-filer – Genotypebetegnelsesfiler (1 file per prøve).
 - 📄 IDAT-filer – [Valgfritt] Intensitetsdatafiler (2 filer per prøve; 1 hver per kanal).
 - 📄 Bildefiler – Skannebilder for hver prøve, del, runde, kamera, flis og kanal.
 - 📄 [Strekkode]_prøve_metrikk.csv
 - 📄 [Strekkode]_del_metrikk.csv
 - 📄 ScanParameters.xml

Indeks

A

- adapter
 - BeadChip-retning 29
 - laste inn BeadChip 31
 - oversikt 5
- alternativ for avansert innlasting 13
- analyse
 - utdatafiler 57
- analyse, primær 56
- arbeidsflyt
 - kjøringsvarighet 15-16
- arbeidsprosess 21
 - alternativ for avansert innlasting 13
 - BaseSpace-modus 23
 - BaseSpace-pålogging 18
 - BeadChip 31
 - brukte reagenser 19
 - bufferkassett 21
 - frittstående modus 23
 - før kjøring-kontroll 24, 31
 - hensyn å ta ved indeksering 56
 - kjøringsmetrikk 24
 - natriumhypokloritt 36
 - oversikt 16, 28
 - sekvensering 54
 - strømningscelle 18
 - strømningscelleklargjøring 17
- arbeidsprosess for sekvensering 16, 54
- av/på-knapp 5, 11
- avbildning, 2-kanalssekvensering 55
- avbildningskammer 3
- avlesningslengde 15-16

B

- banenummerering 58
- banepar 58
- basebetegnelse 55
 - hensyn å ta ved indeksering 56
- basebetegnelsesfiler 57
- BaseSpace 51
 - pålogging 18
- BaseSpace-konfigurasjon 23
- BeadChip
 - adapter 5, 29
 - analyse 1
 - laste inn 31
 - mislykket registrering 48
 - strekkode kan ikke leses 48

- strekkoderetning 29
- typer 1
- BlueFuse Multi-programvare 1
- brukerlevert forbruksmaterieell 13-14
- brukernavn og passord 11
- brukt reagensbeholder 46
- brukte reagenser
 - avhending 19, 37
 - beholder full 46
- bufferkammer 3
- bufferkassett 9, 21

D

- dataoverføring
 - skannedata 33
 - universal copy service 25
- dekoder filklient 27
- Dekoder filklient
 - tilgang via BeadChip 29
 - tilgang via konto 28
- DMAP-mappe
 - dekoder filklient 27
 - nedlasting 28
- dokumentasjon 2, 67

E

- empirisk fasing 54
- etter kjøring-vask 26

F

- fasing, prefasing 54
- feil og advarsler 4, 53
- feil under før kjøring-kontroller 44
- feilsøking 46
 - før kjøring-kontroll 44
 - kan ikke lese BeadChip-strekkode 48
 - kjøringsspesifikke filer 43
 - metrikk av lav kvalitet 46
 - mislykket skanneregistrering 48
 - skannespesifikke filer 44
 - skifte ut manifest- og klyngefiler 49
- filterfiler 57
- flisnummerering 59
- forbruksartikler
 - vann av laboratoriekvalitet 14

- forbruksmaterieill 6, 36
 - bufferkassett 9
 - instrumentvedlikehold 14
 - reagenskassett 8
 - sekvenseringskjøringer 13
 - strømningscelle 7
 - vaskeforbruksmaterieill 35
- forebyggende vedlikehold 35
- formamid, posisjon 6 22
- frittstående konfigurasjon 23
- før kjøring-kontroll 24, 31

G

- generere maler 54
- GTC-filer 61

H

- hensyn å ta ved indeksering 56
- hjelp 67
 - dokumentasjon 2
- håndtere instrument
 - slå av 41

I

- ikoner
 - feil og advarsler 4
 - status 4
- Illumina Proactive-overvåkningstjeneste 51
- inndatafiler, skanne
 - DMAP-mappe 27
 - DMAP-mappe, laste ned 28
 - klyngefiler 27, 49
 - manifestfiler 27, 49
- instrument
 - av/på-knapp 5
 - avatar 12
 - kallenavn 12
 - konfigurasjonsinnstillinger 50
 - modusindikatorer 12
 - omstart 41
 - oppstart 11
 - slå av 41
 - start på nytt 41
- instrumentvask 35
- instrumentvedlikehold
 - forbruksmaterieill 14
- intensiteter 55

- InterOp-filer 43, 57

K

- kameranummerering 59
- kjøringsmetrikk 24
- kjøringsoppsett, alternativ for avansert 13
- kjøringsparametere
 - BaseSpace-modus 23
 - frittstående modus 23
 - rediger parametere 23
- kjøringsvarighet 15-16
- klyngegenerering 15, 25
- klyngepasserende filter 56
- klyngeplassering
 - filer 57
 - generere maler 54
- kompatibilitet
 - RFID-sporing 6, 8
 - strømningscelle, reagenskassett 6
- komponenter
 - avbildningskammer 3
 - bufferkammer 3
 - reagenskammer 3
 - statuslinje 3
- konfigurasjon 51
- konfigurasjonsinnstillinger 50
- kontrollprogramvare 4
- kundestøtte 67

L

- locs-filer 57
- luftfilter 4, 38
- lyd 12

M

- mappeplassering 23
- metrikk
 - basebetegnelse 55
 - intensitetssykluser 25
 - klyngetetthetssykluser 25

N

- natriumhypokloritt, vask 36

O

- omstart
 - instrument 41
- oppdatere programvare 39
- opplæring på Internett 2

P

- passerende filter (PF) 56
- Phred-algoritme 56
- primerrehybridisering 46
- programvare
 - automatisk oppdatering 40
 - bildeanalyse, basebetegnelse 4
 - initialisering 11
 - kjøringsvarighet 15-16
 - konfigurasjonsinnstillinger 50
 - manuell oppdatering 40
 - på instrument 4
- programvare for sanntidsanalyse 4
 - arbeidsprosess 54
 - fasing 54
 - resultater 57

Q

- Q-score 56

R

- RAID-feilmelding 50
- reagenser
 - i sett 6
 - riktig avhending 21
- reagenskammer 3
- reagenskasset 21
 - brønn 6 22
 - brønn nr. 28 36
 - oversikt 8
- rehybridisering, avlesning 1 46
- renhetsfilter 56
- retningslinjer for vann av laboratorie kvalitet 14
- RFID-sporing 6
- rundenummerering 58
- RunInfo.xml 43, 57
- RUO-modus 12

S

- sannsynlighet for feil 56
- sekvensering
 - brukerlevert forbruksmateriell 13
 - innledning 15
- signalrenhet 56
- skanne utdatafiler
 - GTC, IDAT 61
- skylle forbruksmateriell 13
- slå av instrumentet 41
- start på nytt 41
- starte på nytt i forskningsmodus 12
- statuslinje 3
- statusvarsler 4
- strømbryter 11
- strømningscelle
 - avbildning 59
 - banenummerering 58
 - banepar 7
 - fliser 57
 - flisnummerering 59
 - forpakning 17
 - innrettingspinner 18
 - oversikt 7
 - rehybridisering 46
 - rengjøring 17
 - rundenummer 58
- sykluser i en avlesning 15
- systemets brukernavn og passord 11
- systeminnstillinger 12

T

- tastatur 12
- teknisk 67
- teknisk hjelp 67

U

- Universal Copy Service 25
- utdatafiler 57
- utdatafiler, sekvensering 57
- utdatafiler, skanne
 - GTC, IDAT 61

V

- vask
 - automatisk 26

- forbruksmateriell skaffet av brukeren 35
- manuell vask 35
- vaskekomponenter 35
- vaskeforbruksmateriell 36
- vedlikehold, forebyggende 35

W

- Windows
- avslutte 41

Teknisk hjelp

Kontakt teknisk støtte hos Illumina for teknisk hjelp.

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

Telefonnumre til Illuminas kundestøtte

Region	Gratis	Regionalt
Nord-Amerika	+1.800.809.4566	
Australia	+1.800.775.688	
Belgia	+32 80077160	+32 34002973
Danmark	+45 80820183	+45 89871156
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrike	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong, Kina	800960230	
Irland	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Kina	400.066.5835	
Nederland	+31 8000222493	+31 207132960
New Zealand	0800.451.650	
Norge	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Singapore	+1.800.579.2745	
Spania	+34 911899417	+34 800300143
Storbritannia	+44 8000126019	+44 2073057197
Sveits	+41 565800000	+41 800200442
Sverige	+46 850619671	+46 200883979
Sør-Korea	+82 80 234 5300	
Taiwan, Kina	00806651752	
Tyskland	+49 8001014940	+49 8938035677
Østerrike	+43 800006249	+43 19286540
Andre land	+44.1799.534000	

Sikkerhetsdatablad – Tilgjengelige på Illuminas nettsted på support.illumina.com/sds.html.

Produktdokumentasjon – Tilgjengelig for nedlasting fra support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California, 92122 USA

+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Kun til forskningsbruk. Ikke for bruk ved diagnostiske prosedyrer.

© 2021 Illumina, Inc. Med enerett.

illumina®