

# NextSeq 550Dx в изследователски режим

Наръчник за справка за инструмента



Настоящият документ и съдържанието му са собственост на Illumina, Inc. и нейните филиали („Illumina“) и са предназначени само за употреба по силата на договор от страна на клиента и във връзка с използването на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ, и с никаква друга цел. Този документ и съдържанието му не трябва да се използват или разпространяват за никаква друга цел и/или по друг начин да бъдат съобщавани, разкривани или възпроизвеждани по какъвто и да е начин без предварителното писмено съгласие от страна на Illumina. Illumina не предоставя посредством този документ никакъв лиценз за свой патент, търговска марка, авторско право или права по силата на общото право, нито подобни права на която и да е трета страна.

Инструкциите в този документ трябва да се следват строго и изрично от страна на квалифициран и правилно обучен персонал, за да се гарантират правилната и безопасната употреба на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ. Цялото съдържание на този документ трябва да бъде прочетено и разбрано напълно, преди да се използва(т) такъв(таква) продукт(и).

АКО ВСИЧКИ ИНСТРУКЦИИ, СЪДЪРЖАЩИ СЕ В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ, НЕ БЪДАТ НАПЪЛНО ПРОЧЕТИ И ИЗРИЧНО СПАЗВАНИ, ТОВА МОЖЕ ДА ДОВЕДЕ ДО ПОВРЕДА НА ПРОДУКТ(ИТЕ), НАРАНЯВАНЕ НА ЛИЦАТА, ВКЛЮЧИТЕЛНО НА ПОТРЕБИТЕЛИТЕ ИЛИ ДРУГИ ЛИЦА, И УВРЕЖДАНЕ НА ДРУГО ИМУЩЕСТВО, И ЩЕ ОТМЕНИ ВСЯКАКВА ГАРАНЦИЯ, ПРИЛОЖИМА ЗА ПРОДУКТ(ИТЕ).

ILLUMINA НЕ ПОЕМА НИКАКВА ОТГОВОРНОСТ В РЕЗУЛТАТ НА НЕПРАВИЛНАТА УПОТРЕБА НА ПРОДУКТА (ИТЕ), ОПИСАН(И) В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ (ВКЛЮЧИТЕЛНО ТЕХНИ ЧАСТИ ИЛИ СОФТУЕР).

© 2021 Illumina, Inc. Всички права запазени.

Всички търговски марки са собственост на Illumina, Inc. или съответните им притежатели. За специфична информация относно търговските марки посетете [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Хронология на редакциите

Документ	Дата	Описание на промяната
Документ № 1000000041922 v03	Октомври 2021 г.	Добавено е известие за 7-дневния таймер в Checks for Sequencing Runs (Проверки за изпълняване на секвениране) Актуализиран работен поток за Sequencing (Секвениране) чрез добавяне на раздел за създаване на изпълняване с помощта на софтуера Local Run Manager. Променена граница на стабилността Добавен Infinium Methylation EPIC към видовете BeacchChip Актуализирани изображения на икони, за да отразяват промените в потребителския интерфейс.
Документ № 1000000041922 v02	Ноември 2020 г.	Актуализирана фигура в Perform a Manual Wash (Извършване на ръчно промиване), за да отрази нови касети за промиване с реагент и промиване с буфер. Актуализирана информация на лента на състоянието с допълнителни цветове.
Документ № 1000000041922 v01	Март 2018 г.	Добавена е информация за услугата за проактивен мониторинг на Illumina в раздел „Конфигуриране на настройките на системата“.
Документ № 1000000041922 v00	Ноември 2017 г.	Първоначална версия.

# Съдържание

Глава 1 Общ преглед .....	1
За това ръководство .....	1
Въведение .....	1
Допълнителни ресурси .....	2
Компоненти на инструмента .....	3
Общ преглед на комплекта с реагенти .....	6
Общ преглед на консумативи за секвениране .....	6
Глава 2 Първи стъпки .....	11
Стартиране на инструмента .....	11
Персонализиране на настройките на системата .....	12
Консумативи и оборудване, които се набавят от потребителя .....	13
Глава 3 Секвениране .....	15
Въведение .....	15
Работен процес за секвениране .....	16
Приготвяне на касетата с реагенти .....	16
Подготвяне на поточната клетка .....	17
Приготвяне на библиотеките за секвениране .....	17
Конфигуриране на изпълняване на секвениране .....	18
Следене на напредъка на изпълняването на дейност .....	26
Автоматично измиване след изпълняване .....	27
Глава 4 Сканиране .....	29
Въведение .....	29
Работен процес на сканиране .....	30
Изтегляне на DMAP папката .....	30
Зареждане на BeadChip на адаптера .....	31
Конфигуриране на сканиране .....	32
Мониториране на напредъка на сканирането .....	34
Глава 5 Поддръжка .....	37
Въведение .....	37
Извършване на ръчно измиване .....	37
Подмяна на въздушен филтър .....	40
Софтуерни актуализации .....	41
Опции за рестартиране и изключване .....	43
Приложение А Отстраняване на неизправности .....	45
Въведение .....	45
Файлове за отстраняване на неизправности .....	45
Разрешаване на грешки при автоматична проверка .....	46
Контейнерът за изразходвани реагенти е пълен .....	49

Работен процес за рехибридизация .....	49
BeadChIP и грешки при сканиране .....	51
Персонализирани рецепти и папки с рецепти .....	53
Съобщение за грешка в RAID .....	53
Конфигуриране на настройките на системата .....	54
Приложение В Анализ в реално време .....	57
Общ преглед на анализа в реално време .....	57
Работен процес на анализа в реално време .....	58
Приложение С Изходни файлове и папки .....	63
Изходни файлове за секвениране .....	63
Структура на изходната папка .....	66
Сканиране на изходни файлове .....	67
Структура на изходна папка за сканиране .....	67
Индекс .....	69
Техническа помощ .....	73

# Глава 1 Общ преглед

За това ръководство .....	1
Въведение .....	1
Допълнителни ресурси .....	2
Компоненти на инструмента .....	3
Общ преглед на комплекта с реагенти .....	6
Общ преглед на консумативи за секвениране .....	6

## За това ръководство

Този наръчник за справка за инструмента предоставя инструкции за използването на инструмента NextSeq 550Dx в режим на изследване (RUO).

## Въведение

### Функции на секвенирането

- ▶ **High-throughput sequencing** (Секвениране с висока производителност) – инструментът NextSeq™ 550Dx позволява секвениране на ДНК библиотеки.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** (Анализ в реално време (RTA)) – извършва обработка на изображението и обозначаване на бази. За повече информация вижте *Анализ в реално време на страница 57*.
- ▶ **On-instrument data analysis capability** (Възможност за анализ на данни в инструмента) – модулите за анализ на софтуера Analysis Software, посочени за изпълняването на дейност, могат да анализират данни от изпълняването.
- ▶ **Dual Boot** (Стартиране на две операционни системи) – инструментът NextSeq 550Dx съдържа отделни твърди дискове, които поддържат диагностичен (Dx) и изследователски (RUO) режими.

### Функции за сканиране на масив

- ▶ **Integrated array scanning in control software** (Интегрирано сканиране на масив в софтуера за управление) – инструментът NextSeq 550Dx ви позволява да преминавате между сканиране на масив и високопроизводително секвениране на същия инструмент, като използвате същия контролен софтуер.
- ▶ **Extended imaging capability** (Разширена способност за изобразяване) – системата за изображения в инструмента NextSeq 550Dx включва софтуерни и етапни модификации, които позволяват изобразяване на по-голяма повърхност, за да се приспособи сканирането с BeadChip.
- ▶ **BeadChip types** (Типове BeadChip) – съвместимите типове BeadChip включват CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC и Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip adapter** (Адаптер BeadChip) – адаптер за многократна употреба за BeadChip позволява лесно зареждане на BeadChip върху инструмента.
- ▶ **Data Analysis** (Анализ на данни) – използвайте софтуера BlueFuse® Multi за анализ на данни от масив.

## Допълнителни ресурси

Следната документация е достъпна за изтегляне от уебсайта на Illumina.

Ресурс	Описание
<i>Ръководство за подготовка на работното място за инструмента NextSeq 550Dx (документ № 100000009869)</i>	Предоставя спецификации за лабораторното пространство, електрическите изисквания и съображения по отношение на околната среда.
<i>Ръководство за безопасност и съответствие на инструмента NextSeq 550Dx (документ № 100000009868)</i>	Предоставя информация относно съображенията по отношение на работната безопасност, декларации за съответствие и обозначаване на инструмента.
<i>Ръководство за съвместимост за РЧИД четец (документ № 1000000030332)</i>	Дава информация за РЧИД четеща в инструмента, сертификати за съвместимост и съображения за безопасност.
<i>Наръчник за справка на инструмента NextSeq 550Dx в изследователски режим (документ № 1000000041922)</i>	Предоставя инструкции за работа с инструмента и процедури за отстраняване на неизправности. За използване при работа с инструмента NextSeq 550Dx в изследователски режим с NextSeq Control Software (NCS) v3.0.
<i>Ръководство на системата NextSeq 550 (документ № 15069765)</i>	Предоставя инструкции за работа с инструмента и процедури за отстраняване на неизправности. За използване при работа с инструмента NextSeq 550Dx в изследователски режим с NextSeq Control Software (NCS) v4.0 или по-нова.
<i>Ръководство за системата NextSeq 550</i>	Предоставя преглед на компонентите на инструмента, инструкции за работа с инструмента и процедури за поддръжка и отстраняване на неизправности.
<i>Помощ за BaseSpace</i>	Предоставя информация за използването на BaseSpace™ Sequence Hub и налични опции за анализ.

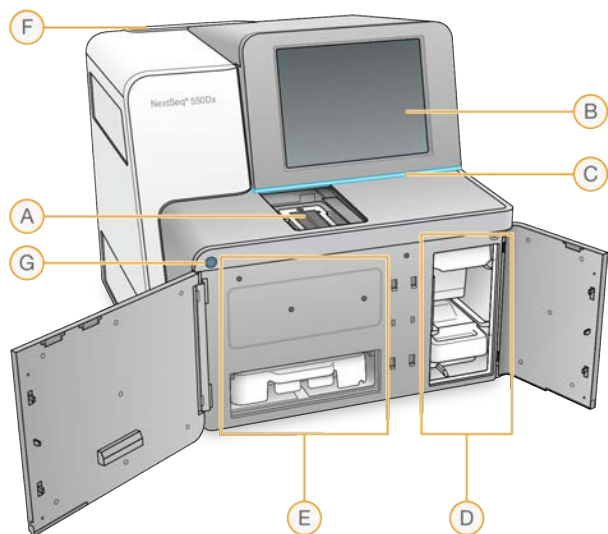
Посетете [страницата за поддръжка на инструмента NextSeq 550Dx](#) на уебсайта на Illumina за достъп до документация, изтегляне на софтуер, онлайн обучение и често задавани въпроси.

Посетете [страниците за поддръжка на NextSeq 550Dx](#) на уебсайта на Illumina за достъп до документация, изтегляне на софтуер, онлайн обучение и често задавани въпроси.

## Компоненти на инструмента

Инструментът NextSeq 550Dx включва монитор със сензорен екран, лента за състояние и 4 отделения.

Фигура 1 Компоненти на инструмента



- A **Отделение за изобразяване** – съдържа поточната клетка по време на изпълняване на секвениране.
- B **Монитор със сензорен екран** – позволява конфигурирането и настройването на инструмента чрез интерфейса на работния софтуер.
- C **Лента за състояние** – указва състоянието на инструмента като в обработка (синьо), изискващо внимание (оранжево), готово за секвениране (зелено), инициализиране (редуващи се синьо и бяло), все още не е инициализирано (бяло) или изискващо измиване в рамките на следващите 24 часа (жълто).
- D **Отделение за буфер** – съдържа касетата с буфер и контейнера за изразходвани реагенти.
- E **Отделение за реагенти** – съдържа касетата с реагенти.
- F **Отделение за въздушен филтър** – съдържа въздушния филтър. Достъпът до филтъра се осъществява от задната страна на инструмента.
- G **Бутон за захранване** – включва или изключва захранването на инструмента и на компютъра на инструмента.

## Отделение за изобразяване

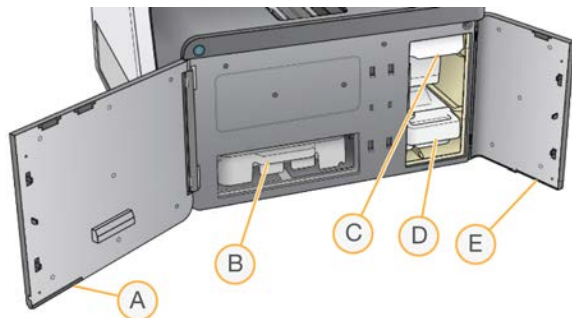
В отделението за изобразяване е разположена станцията, която включва три щифта за подравняване за позициониране на поточната клетка. След зареждане на поточната клетка вратичката на отделението за изобразяване се затваря автоматично и премества компонентите на тяхното място.

## Отделения за реагенти и буфер

Конфигурирането на изпълняване на секвениране на инструмента NextSeq 550Dx изисква достъп до отделението за реагенти и отделението за буфер, за да се заредят консумативи за изпълняването и да се изпразни контейнерът с изразходвани реагенти.



Фигура 2 Отделения за реагенти и буфер



- A **Вратичка на отделението за реагенти** – затваря отделението за реагенти с ключалка под долната дясна зона на вратичката. Отделението за реагенти съдържа касетата с реагенти.
- B **Касета с реагенти** – касетата с реагенти е предварително напълнен консуматив за еднократна употреба.
- C **Касета с буфер** – касетата с буфер е предварително напълнен консуматив за еднократна употреба.
- D **Контейнер за изразходвани реагенти** – изразходваните реагенти се събират за изхвърляне след всяко изпълняване.
- E **Вратичка на отделението за буфер** – затваря отделението за буфер с ключалка под долния ляв ъгъл на вратичката.

## Отделение за въздушен филтър

Отделението за въздушен филтър съхранява въздушния филтър и е разположено в задната част на инструмента. Подменяйте въздушния филтър на всеки 90 дни. За информация относно подмяната на филтъра вижте [Подмяна на въздушен филтър на страница 40](#).






## Софтуер NextSeq 550Dx

Софтуерът на инструмента включва интегрирани приложения, които извършват изпълнявания на секвениране.

- ▶ **NextSeq Control Software (NCS)** – контролният софтуер ви превежда през стъпките за конфигуриране на изпълняване на секвениране.
- ▶ **Софтуер за анализ в реално време (RTA)** – RTA извършва анализ на изображението и обозначаване на бази по време на изпълняването. Инструментът NextSeq 550Dx използва RTA v2, който включва важни архитектурни и функционални разлики от по-ранните версии. За повече информация вижте [Анализ в реално време на страница 57](#).

## Икони за състояние

Икона за състояние в горния десен ъгъл на NCS сигнализира за всяка промяна в състоянието по време на конфигурирането на изпълняване на дейност или по време на изпълняването.

Икона за състояние	Име на състояние	Описание
	Status OK (Състояние ОК)	Системата работи нормално.
	Processing (Обработване)	Системата обработва.
	Warning (Предупреждение)	Появи се предупреждение. Предупрежденията не спират изпълняването на дейност и не изискват действие преди продължаването.
	Error (Грешка)	Възникна грешка. Грешките изискват действие преди продължаването на изпълняването на дейност.
	Service Needed (Необходимо е сервизно обслужване)	Появи се уведомление, което изисква внимание. Вижте съобщението за допълнителна информация.

Когато настъпи промяна в състоянието, иконата мига, да ви уведоми. Изберете иконата, за да прегледате описанието на състоянието. Изберете **Acknowledge** (Приемане), за да приемете съобщението, и **Close** (Затваряне), за да затворите диалоговия прозорец.

#### ЗАБЕЛЕЖКА

Приемането на съобщение нулира иконата и съобщението става сиво. Съобщението все още е видимо за потребителите, ако те изберат иконата, но изчезва след рестартирането на NCS.

## Бутон за захранване

Бутонът за захранване в предната част на NextSeq 550Dx включва захранването на инструмента и на компютъра на инструмента. Бутонът за съхранение извършва следните действия в зависимост от състоянието на захранването на инструмента. По подразбиране NextSeq 550Dx се зарежда в диагностичен режим.

За информация относно първоначалното подаване на захранване към инструмента вижте [Стартиране на инструмента на страница 11](#).

За информация относно изключването на инструмента вижте [Изключване на инструмента на страница 43](#).

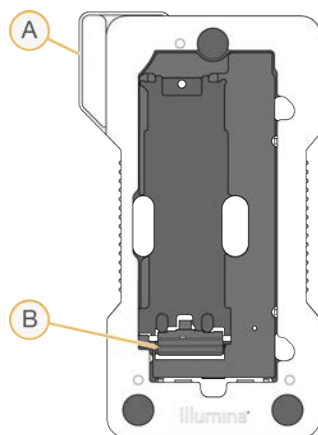
Състояние на захранването	Действие
Захранването на инструмента е изключено	Натиснете бутона, за да включите захранването.
Захранването на инструмента е включено	Натиснете бутона, за да изключите захранването. Появява се диалогов прозорец на екрана, за да се потвърди изключване на инструмента.
Захранването на инструмента е включено	Натиснете и задръжте бутона за захранването за 10 секунди, за да предизвикате твърдо изключване на инструмента и на компютъра на инструмента. Използвайте този метод за изключване на инструмента само ако инструментът не реагира.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Изключването на инструмента по време на изпълняване на секвениране веднага прекратява изпълняването. Прекратяването на изпълняването е окончателно. Консумативите за изпълняването не могат да се използват повторно и данните за секвенирането от изпълняването не се записват.

## Преглед на адаптер BeadChip за многократна употреба

Адаптерът BeadChip за многократна употреба поддържа BeadChip по време на сканиране. BeadChip се закрепва във вдлъбнатия рафт на адаптера със скобата за задържане. След това адаптерът BeadChip се зарежда на станцията в отделението за изобразяване.

Фигура 3 Адаптер BeadChip за многократна употреба



- A Адаптер BeadChip
- B Скоба за задържане

## Общ преглед на комплекта с реагенти

### Общ преглед на консумативи за секвениране

Консумативите за секвениране, необходими за изпълняване на NextSeq 550Dx, са предоставени отделно в комплект за еднократна употреба. Всеки комплект включва една поточна клетка, касета с реагенти, касета с буфер и буфер за разреждане на библиотеки. За повече информация вижте листовката на *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 цикъла)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 цикъла)* или *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 цикъла)*.

Поточната клетка, касетата с реагенти и касетата с буфер използват радиочестотна идентификация (РЧИД) за точно проследяване и съвместимост на консумативи.

#### ВНИМАНИЕ

Комплектите NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 изискват NOS 1.3 или по-нова версия, за да приемат касета с поточни клетки v2.5. Завършете софтуерните актуализации, преди да подготвите проби и консумативи, за да избегнете загубата на реагенти и/или проби.



## ЗАБЕЛЕЖКА

Съхранявайте консумативите за секвениране в техните кутии, докато не са готови за употреба.

## Етикетиране за съвместимост на комплекта

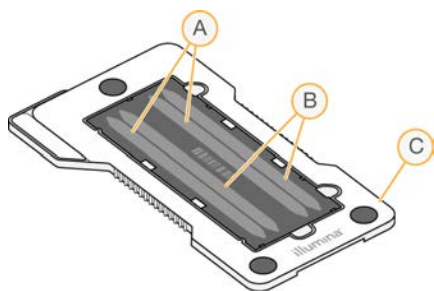
Компонентите на комплекта са етикетираны с цветно кодирани индикатори, за да покажат съвместимостта между поточните клетки и касетите с реагент. Винаги използвайте съвместима касета с реагент и поточна клетка. Касетата с буфер е универсална.

Всяка поточна клетка и касета с реагент се обозначава с **High** (Висока) или **Mid** (Средна). Винаги проверявайте етикета, когато подготвяте консумативите за изпълняване.

Тип комплект	Маркировка на етикета
Компоненти на комплекта с висока производителност	
Компоненти на комплекта със средна производителност	

## Общ преглед на поточна клетка

Фигура 4 Касета с поточни клетки



- A Двойка линии А – Линии 1 и 3
- B Двойка линии В – Линии 2 и 4
- C Рамка на касета с поточни клетки

Поточната клетка е субстрат на базата на стъкло, върху който се генерират клъстери и се извършва реакцията на секвениране. Поточната клетка е обвита в касета с поточни клетки.

Поточната клетка съдържа 4 линии, които се изобразяват по двойки.

- ▶ Линии 1 и 3 (двойка линии А) се изобразяват едновременно.
- ▶ Линии 2 и 4 (двойка линии В) се изобразяват, когато завърши изобразяването на двойка линии А.

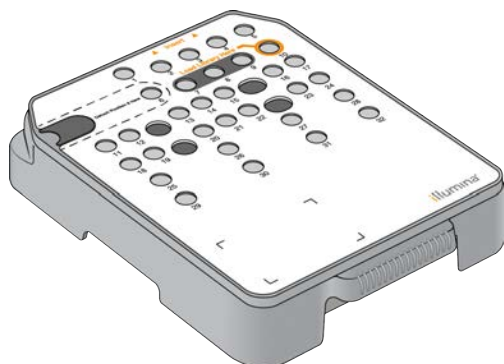
Въпреки че поточната клетка има 4 линии, само единична библиотека или набор от пулирани библиотеки се секвенират в поточната клетка. Библиотеките се зареждат в касетата с реагенти от един единичен резервоар и се прехвърлят автоматично към поточната клетка до всичките 4 линии.

Всяка линия се изобразява в малки зони на изобразяване, наречени плочки. За повече информация вижте *Плочки за поточна клетка на страница 63*.

## Общ преглед на касетата с реагенти

Касетата с реагенти е консуматив за еднократна употреба с проследяване на РЧИД и запечатени с фолио резервоари, които са предварително напълнени с реагенти за клъстериране и секвениране.

Фигура 5 Касета с реагенти



Касетата с реагенти включва определен резервоар за зареждане на приготвени библиотеки. След започване на изпълняването на дейност библиотеките се прехвърлят автоматично от резервоара в поточната клетка.

Няколко резервоара са запазени за автоматичното измиване след изпълняване. Разтворът за измиване се изпомпва от касетата с буфер към запазените резервоари, след което през системата и накрая към контейнера за изразходвани реагенти.

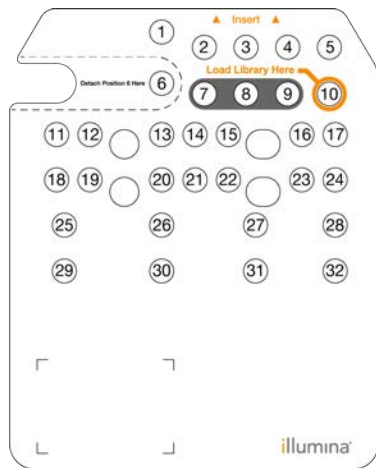


### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

**Този набор от реагенти съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реагенти като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте ИЛБ на адрес [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).**

## Запазени резервоари

Фигура 6 Номерирани резервоари



Позиция	Описание
7, 8 и 9	Запазени за незадължителни персонализирани праймери
10	<b>Зареждане на библиотеки</b>

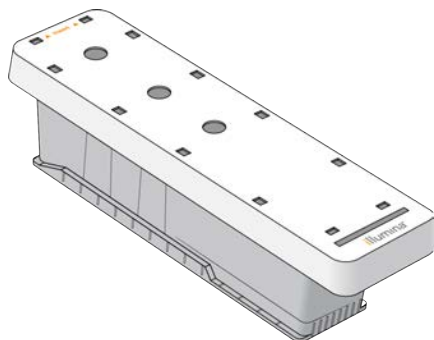
## Сменяем резервоар в позиция № 6

Предварително напълнената касета с реагенти включва реагент за денатуриране в позиция 6, който съдържа формамид. За да се улесни безопасното изхвърляне на неизползвани реагенти след изпълняването на секвениране, резервоарът в позиция 6 може да се изважда. За повече информация вижте *Изваждане на използван резервоар от позиция № 6 на страница 22*.

## Общ преглед на касета с буфер

Касетата с буфер е консуматив за еднократна употреба, който съдържа три резервоара, които се пълнят предварително с буфери и разтвор за измиване. Съдържанието на касетата с буфер е достатъчно за секвениране на една поточна клетка.

Фигура 7 Касета с буфер





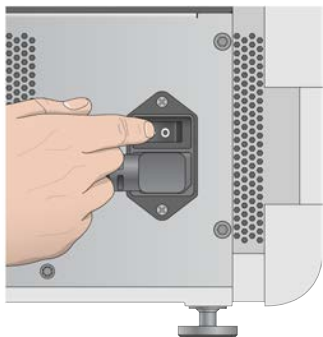
## Глава 2 Първи стъпки

Стартиране на инструмента .....	11
Персонализиране на настройките на системата .....	12
Консумативи и оборудване, които се набавят от потребителя .....	13

### Стартиране на инструмента

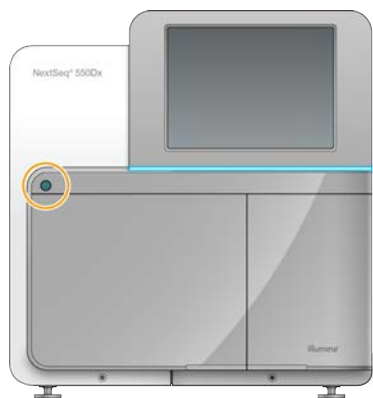
Включете превключвателя на захранването в положение I (вкл.).

Фигура 8 Превключвател на захранване, разположен в задната част на инструмента



- 1 Натиснете бутона за захранването над отделението за реагенти. Бутонът за захранването включва захранването на инструмента и стартира интегрираните в инструмента компютър и софтуер.

Фигура 9 Бутон за захранването, разположен в предната част на инструмента



- 2 Изчакайте, докато операционната система завърши зареждането. Контролният софтуер на NextSeq (NCS) стартира и инициализира системата автоматично. След като стъпката по инициализиране приключи, се отваря екранът Home (Начало).
- 3 Въведете своите потребителско име и парола за Local Run Manager.  
За информация относно паролите вижте *Потребителски пароли на страница 1*.  
За информация относно конфигурирането на акаунт в Local Run Manager вижте *Административни настройки и задачи на страница 1*.
- 4 Изберете **Login** (Влизане).  
Отваря се екранът Home (Начало) с икони Sequence (Секвениране), Local Run Manager, Manage Instrument (Управление на инструмента) и Perform Wash (Извършване на измиване).



## Индикатори за режим на инструмента

Режимът по подразбиране на NextSeq 550Dx е диагностичен режим. Долупосоченото на екрана на NCS указва режима на инструмента.

Режим	Начален екран	Цветна лента	Ориентация на иконата за състояние
Диагностичен режим	Добре дошли в NextSeqDx	Синьо	Хоризонтално
Изследователски режим	Добре дошли в NextSeq	Оранжево	Вертикално

## Персонализиране на настройките на системата

Работният софтуер съдържа персонализируеми настройки на системата за идентифициране на инструмента, предпочитания за въвеждане, аудио настройки и местоположение на изходната папка. За да промените настройките за мрежова конфигурация, вижте *Конфигуриране на настройките на системата на страница 54*.

Опции за персонализиране:

- ▶ Персонализиране на идентифициране на инструмента (аватар и псевдоним)
- ▶ Задаване на опция на въвеждане и аудио индикатор
- ▶ Задаване на опции за конфигуриране на изпълняване на дейност
- ▶ Опции за изключване
- ▶ Конфигуриране на стартиране на инструмент след проверката преди изпълняване на дейност
- ▶ Избиране на изпращане на данни за производителността на инструмента към Illumina
- ▶ Определяне на изходна папка за изпълнявания

## Персонализиране на аватар и псевдоним на инструмента

- 1 От екрана Home (Начало) изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
- 2 Изберете **System Customization** (Персонализиране на система).
- 3 За да зададете предпочитано изображение за вашия инструмент, изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до изображението.
- 4 В полето Nick Name (Псевдоним) въведете предпочитаното име за инструмента.
- 5 Изберете **Save** (Записване), за да запишете настройките и да преминете към екрана. Изображението и името се появяват в горния ляв ъгъл на всеки екран.

## Задаване на опция на клавиатура и аудио индикатор

- 1 От екрана Home (Начало) изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
- 2 Изберете **System Customization** (Персонализиране на система).
- 3 Изберете полето за отметка **Use on-screen keyboard** (Използване на клавиатура на екрана), за да активирате клавиатурата на екрана за входни данни към инструмента.
- 4 Изберете полето за отметка **Play audio** (Възпроизвеждане на аудио), за да включите аудио индикатори за долупосочените събития.
  - ▶ При инициализиране на инструмент

- ▶ Когато се стартира изпълняване на дейност
- ▶ Когато се появи определена грешка
- ▶ Когато се изисква намеса от потребител
- ▶ Когато приключи дадено изпълняване на дейност

5 Изберете **Save** (Записване), за да запишете настройките и да преминете към екрана.

## Задаване на опции за конфигуриране на изпълняване на дейност

- 1 От екрана Manage Instrument (Управление на инструмента) изберете **System Customization** (Персонализиране на системата).
- 2 Поставете отметка в квадратчето **Use Advanced Load Consumables** (Използване на разширено зареждане на консумативи), за да активирате опцията за зареждане на всички експлоатационни консумативи от един екран.
- 3 Изберете полето за отметка **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Прескачане на потвърждение за проверка преди изпълняване), за да започнете автоматично секвениране след успешна автоматична проверка.
- 4 Изберете **Save** (Записване), за да запишете настройките и да излезете от екрана.

## Задаване на опцията за автоматично почистване

- 1 От екрана Manage Instrument (Управление на инструмента) изберете **System Customization** (Персонализиране на системата).
- 2 Поставете отметка в квадратчето **Purge Consumables at End of Run** (Почистване на консумативи в края на изпълняването), за да прочистите неизползваните реагенти от касетата с реагенти в контейнера за отработени реагенти автоматично след всяко изпълняване.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Почистването на консумативите автоматично добавя допълнително време към работния процес.

- 3 Изберете **Save** (Записване), за да запишете настройките и да излезете от екрана.

## Консумативи и оборудване, които се набавят от потребителя

Следните консумативи и оборудване се използват на инструмента NextSeq 550Dx. Долупосочените консумативи и оборудване се използват за приготвяне на консумативи, секвениране и поддръжка на инструмента. За повече информация вижте *Ръководството на системата NextSeq 550*.

## Консумативи за секвениране

Консуматив	Доставчик	Цел
Кърпички с алкохол, 70% изопропилов или Етанол, 70%	VWR, каталожен № 95041-714 (или техен еквивалент) Общ лабораторен доставчик	Почистване на поточната клетка и за общи цели
Лабораторни кърпи, ниска степен на отделяне на мър	VWR, каталожен № 21905-026 (или техен еквивалент)	Почистване на поточната клетка и за общи цели

## Консумативи за поддръжка и отстраняване на неизправности

Консуматив	Доставчик	Цел
NaOCl, 5% (натриев хипохлорит)	Sigma-Aldrich, каталожен № 239305 (или лабораторен клас еквивалент)	Измиване на инструмента с ръчно измиване след изпълняване; разреден до 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, каталожен № P7949	Измиване на инструмента с опциите за ръчно измиване; разреден до 0,05%
Вода, лабораторен клас	Общ лабораторен доставчик	Измиване на инструмента (ръчно измиване)
Въздушен филтър	Illumina, каталожен № 20022240	Почистване на въздуха, който инструментът поема за охлаждане

## Насоки за лабораторен клас вода

Винаги използвайте лабораторен клас вода или дейонизирана вода за извършване на процедури по инструмента. Никога не използвайте чешмяна вода. Използвайте само следните класове вода или еквиваленти:

- ▶ Дейонизирана вода
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 мегаома (MΩ) вода
- ▶ Milli-Q вода
- ▶ Super-Q вода
- ▶ Клас вода за молекулярна биология

## Оборудване

Артикул	Източник
Фризер, от -25°C до -15°C, без замразяване	Общ лабораторен доставчик
Хладилник, от 2°C до 8°C	Общ лабораторен доставчик

# Глава 3 Секвениране

Въведение .....	15
Работен процес за секвениране .....	16
Приготвяне на касетата с реагенти .....	16
Подготвяне на поточната клетка .....	17
Приготвяне на библиотеките за секвениране .....	17
Конфигуриране на изпълняване на секвениране .....	18
Следене на напредъка на изпълняването на дейност .....	26
Автоматично измиване след изпълняване .....	27

## Въведение

За да извършите изпълняване на секвениране в инструмент NextSeq 550Dx, подгответе касета с реагенти и поточна клетка, след което следвайте подканите на софтуера, за да конфигурирате и стартирате изпълняването. Генерирането на клъстер и секвенирането се извършват в инструмента. След изпълняването започва автоматично измиване на инструмента посредством компоненти, които са вече заредени в инструмента.

## Генериране на клъстери

По време на генерирането на клъстери единичните молекули ДНК се свързват с повърхността на поточната клетка и се амплифицират, за да се сформират клъстери.

## Секвениране

Клъстерите се изобразяват посредством двуканални комбинации от химия и филтър за секвениране, специфични за всеки от флуоресцентно етикетирани нуклеотиди. След като изобразяването на една плочка на поточната клетка завърши, се изобразява следващата плочка. Процесът се повтаря за всеки цикъл на секвенирането. След анализа на изображенията софтуерът изпълнява обозначаване на бази, филтриране и изчисляване на резултат за качество.

## Анализ

В хода на изпълняването на дейност работният софтуер автоматично прехвърля файловете за обозначаване на бази (BCL) към посоченото изходно местоположение за вторичен анализ.

## Продължителност на изпълняването на секвениране

Продължителността на изпълняването на секвениране зависи от броя на извършените цикли. Максималната дължина на изпълняване е изпълняване със сдвоени краища от 150 цикъла на всяко разчитане (2 x 150), плюс до 8 цикъла, всеки за 2 индексни разчитания.

## Брой цикли в едно разчитане

При изпълняване на секвениране броят на циклите, извършени в едно разчитане, е с 1 цикъл повече от броя на анализирани цикли. Например сдвоено изпълняване от 150 цикъла извършва разчитания от 151 цикъла (2 x 151) за общо 302 цикъла. В края на сдвояването се анализират 2 x 150 цикъла. Допълнителният цикъл е необходим за изчисляване на фазиране и префазиране.

## Работен процес за секвениране



## Приготвяне на касетата с реагенти

Не забравяйте да следвате внимателно указанията за касета с реагенти за успешно секвениране.

- 1 Извадете касетата с реагенти от мястото на съхранение при температура от  $-25^{\circ}\text{C}$  до  $-15^{\circ}\text{C}$ .
- 2 Изберете един от долупосочените методи за размразяване на реагентите. Не потапяйте касетата под вода. След размразяването на касетата я подсушете, преди да преминете към следващата стъпка.

Температура	Време за размразяване	Граница на стабилността
От 15°C до 30°C на водна баня	60 минути	Да не се надвишават 6 часа
2°C до 8°C	7 часа	Да не се надвишават 7 дни

**ЗАБЕЛЕЖКА** Ако в една и съща водна баня се размразяват повече от една касета, позволете допълнително време за размразяване.

- Обърнете касетата пет пъти, за да смесите реагентите.
- Инспектирайте долната част на касетата, за да се уверите, че реагентите са размразени и няма утайки. Потвърдете, че позиции 29, 30, 31 и 32 са размразени, тъй като те са най-големите и отнемат най-дълго време за размразяване.
- Внимателно почукайте касетата върху масата, за да намалите въздушните мехурчета. За най-добри резултати продължете директно към зареждане на пробата и настройка на изпълняването.



#### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Този набор от реагенти съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реагенти като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте ИЛБ на адрес [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

## Подготвяне на поточната клетка

- Извадете нова кутия с поточна клетка от мястото на съхранение при температура от 2°C до 8°C.
- Извадете опаковката от фолио от кутията и я оставете настрани на стайна температура за 30 минути.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Ако опаковката от фолио е непокътната, поточната клетка може да остане на стайна температура до 12 часа. Избягвайте повтарящи се охлаждане и затопляне на поточната клетка.

## Приготвяне на библиотеките за секвениране

Денатурирайте и разрежете вашите библиотеки до обем на зареждане от 1,3 ml. Концентрацията на зареждане на практика може да варира в зависимост от методите на приготвяне и количествено определяне на библиотеките. Разреждането на библиотеки с проби зависи от комплексността на олигонуклеотидни обединявания. За указания как да пригответе библиотеки с проби за секвениране, включително разреждане и обединяване на библиотеки, вижте раздела „Инструкции за употреба“ за приложимия комплект за приготвяне на библиотеки. Необходимо е оптимизиране на плътността на клъстерите на NextSeq 550Dx.

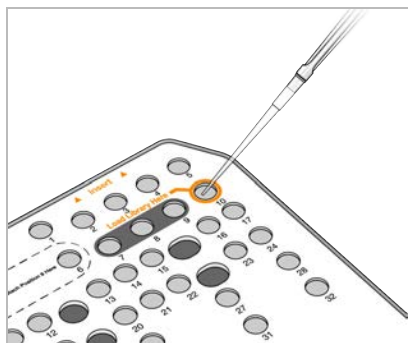
## Денатуриране и разреждане на библиотеки

Денатурирайте и разреждете вашите библиотеки до обем на зареждане от 1,3 ml зареждаща концентрация от 1,8 pM. Концентрацията на зареждане на практика може да варира в зависимост от методите на приготвяне и количествено определяне на библиотеките. За инструкции вижте листовката за приготвяне на библиотеки.

## Зареждане на библиотеки в касетата с реагенти

- 1 Почистете фолиевото запечатване, покриващо резервоар № 10, обозначен с **Load Library Here** (Зареждане на библиотеката тук), посредством кърпа с ниско съдържание на власинки.
- 2 Пробийте запечатването с чист накрайник за пипета от 1 ml.
- 3 Заредете 1,3 ml от подготвените библиотеки в резервоар № 10, обозначен с **Load Library Here** (Зареждане на библиотеката тук). Избягвайте да докосвате фолиевото запечатване, докато дозирате библиотеките.

Фигура 10 Зареждане на библиотеки



## Конфигуриране на изпълняване на секвениране

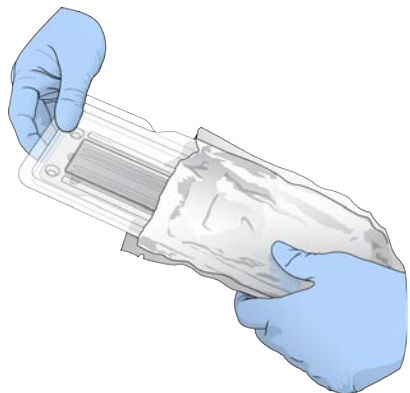
### Влизане в BaseSpace

- 1 Въведете вашето потребителско име и парола в BaseSpace.
- 2 Изберете **Next** (Напред).

### Зареждане на поточната клетка

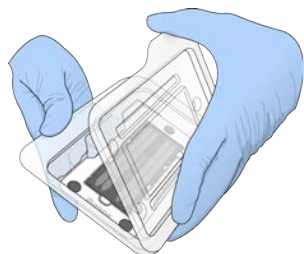
- 1 Извадете използваната поточна клетка от предходно изпълняване на дейност.
- 2 Извадете поточната клетка от опаковката от фолио.

Фигура 11 Изваждане от опаковка от фолио



- 3 Отворете прозрачната пластмасова опаковка тип „мида“ и извадете поточната клетка.

Фигура 12 Изваждане от опаковка тип „мида“

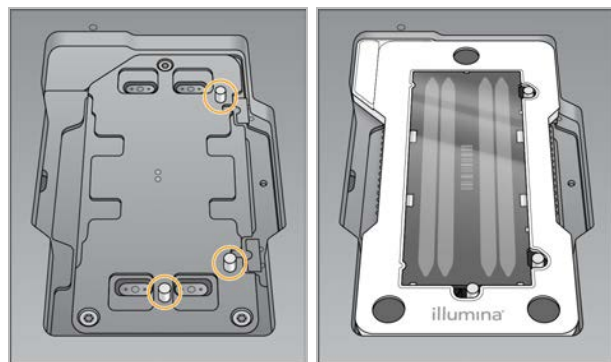


- 4 Почистете стъклената повърхност на поточната клетка с кърпичка без власинки със спирт. Подсушете стъклото с лабораторна кърпа с ниско съдържание на власинки.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Уверете се, че стъклената повърхност на поточната клетка е чиста. Ако е необходимо, повторете стъпката за почистване.

- 5 Подравнете поточната клетка над щифтовете за подравняване и поставете поточната клетка в станцията.

Фигура 13 Зареждане на поточната клетка



- 6 Изберете **Load** (Зареждане).



Вратичката се затваря автоматично, на екрана се появява идентификатора на поточната клетка и сензорите се проверяват.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Дръжте ръцете си далеч от вратичката на поточната клетка, докато тя се затваря, за да избегнете заципване.

7 Изберете **Next** (Напред).

## Изпразване на контейнера за изразходвани реагенти

- 1 Отворете вратичката на отделението за буфер с ключалката под долния ляв ъгъл на вратичката.
- 2 Отстранете контейнера за изразходвани реагенти и изхвърлете съдържанието съгласно приложимите стандарти.

Фигура 14 Изваждане на контейнера за изразходвани реагенти



**ЗАБЕЛЕЖКА** Докато изваждате контейнера, поставете другата си ръка под него за опора.

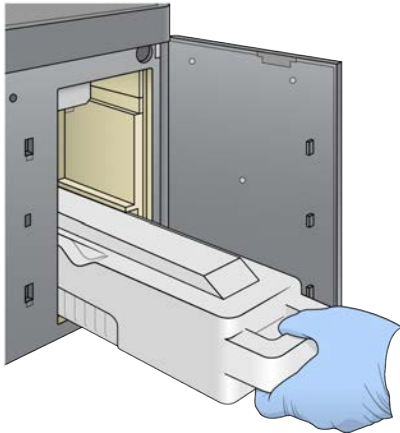


### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Този набор от реагенти съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реагенти като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте ИЛБ на адрес [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

- 3 Плъзнете празния контейнер за изразходвани реагенти в отделението за буфер, докато не спре. Чува се щракване, което указва, че контейнерът е на мястото си.

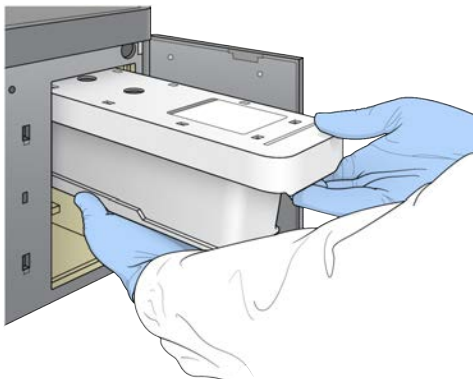
Фигура 15 Зареждане на празния контейнер за изразходвани реагенти



## Зареждане на касетата с буфер

- 1 Извадете използваната касета с буфер от горното отделение.  
Изисква се прилагане на известна сила, за да повдигнете и след това да извадите касетата с буфер.
- 2 Плъзнете нова касета с буфер в отделението за буфер, докато не спре.  
Чува се щракване, което указва, че касетата е на мястото си, на екрана се появява идентификаторът на касетата с буфер и сензорът се проверява.

Фигура 16 Зареждане на касетата с буфер



- 3 Затворете вратичката на отделението за буфер и изберете **Next** (Напред).

## Зареждане на касетата с реагенти

- 1 Отворете вратичката на отделението за реагенти с ключалката под долния десен ъгъл на вратичката.
- 2 Извадете използваната касета с реагенти от отделението за реагенти. Изхвърлете неизползваното съдържание съгласно приложимите стандарти.



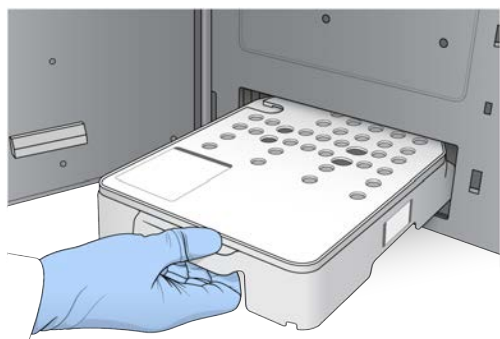
#### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Този набор от реагенти съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реагенти като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте ИЛБ на адрес [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

**ЗАБЕЛЕЖКА** За да се улесни безопасното изхвърляне на неизползвани реагенти, резервоарът в позиция 6 може да се изважда. За повече информация вижте *Изваждане на използван резервоар от позиция № 6* на страница 22.

- 3 Плъзнете касетата с реагенти в отделението за реагенти, докато касетата не спре, след което затворете вратичката на отделението за реагенти.

Фигура 17 Зареждане на касета с реагенти

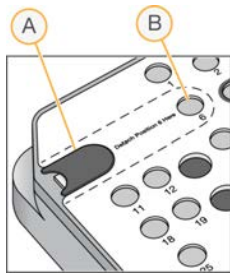


- 4 Изберете **Load** (Зареждане).  
Софтуерът премества касетата на нейното място автоматично (~30 секунди), на екрана се появява идентификатора на касетата с реагенти и сензорите се проверяват.
- 5 Изберете **Next** (Напред).

### Изваждане на използван резервоар от позиция № 6

- 1 След като сте извадили *използваната* касета с реагенти от инструмента, отстранете предпазното гумено покритие над слота до позиция № 6.

Фигура 18 Сменяема позиция № 6



- A Предпазно гумено покритие
- B Позиция № 6

- 2 Натиснете надолу върху прозрачния пластмасов предпазите и притиснете към лявата страна, за да извадите резервоара.
- 3 Изхвърлете резервоара съгласно приложимите стандарти.

## Посочване на параметри на изпълняване на дейност

Стъпките на екрана Run Setup (Настройване на изпълняване) се различават в зависимост от системната конфигурация:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace или BaseSpace Onsite) – екранът Run Setup (Настройване на изпълняване) изброява изпълнявания, които са конфигурирани чрез раздела BaseSpace Prep. Ако планираното изпълняване не се появи на екрана Run Setup (Настройване на изпълняване), уверете се, че изпълняването е маркирано за секвениране в BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (Самостоятелен) – екранът Run Setup (Настройване на изпълняване) включва полета за дефиниране на параметри на изпълняване.

## Избор на Available Run (BaseSpace Configuration) (Налично изпълняване [Конфигурация BaseSpace])

- 1 Изберете име на изпълняване от списъка с наличните изпълнявания.  
Използвайте стрелките нагоре и надолу, за да превъртите списъка, или въведете име на изпълняване в полето за търсене.
- 2 Изберете **Next** (Напред).
- 3 Потвърдете параметрите на изпълняването.
  - ▶ **Run Name** (Име на изпълняването) – име на изпълняването, както е зададено в BaseSpace.
  - ▶ **Library ID** (ИД на библиотека) – име на обединените библиотеки, както е зададено в BaseSpace.
  - ▶ **Recipe** (Рецепта) – име на рецептата, или **NextSeq High** (Високо NextSeq), или **NextSeq Mid** (Средно NextSeq) в зависимост от касетата с реагент, използвана за изпълняването.
  - ▶ **Read Type** (Тип разчитане) – единично разчитане или със сдвояване на краища.
  - ▶ **Read Length** (Дължина на разчитане) – брой цикли за всяко разчитане.
  - ▶ **[Незадължително]** Персонализирани праймери, ако е приложимо.
  - ▶ **Run parameters** (Параметри на изпълняването) – променете броя на разчитанията или броя на циклите на разчитане.

- ▶ **Custom primers** (Персонализирани праймери) – промяна на настройките за персонализирани праймери. За повече информация вижте *Ръководство за персонализирани праймери NextSeq (документ № 15057456)*.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Почистване на консумативите за това изпълняване) – промяна на настройката за автоматично почистване на консумативите след текущото изпълняване.

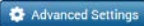
4 Изберете **Next** (Напред).

## Въведете параметрите на изпълняването (Самостоятелна конфигурация)

- 1 Въведете име на изпълняване по ваше предпочитание.
- 2 **[Незадължително]** Въведете идентификатор на библиотеката според вашите предпочитания.
- 3 Изберете тип разчитане, **Single Read** (Единично разчитане) или **Paired End** (Разчитане със сдвояване на краища).
- 4 Въведете броя на циклите за всяко разчитане в изпълняване на секвениране.
  - ▶ **Read 1** (Разчитане 1) – въведете стойност до 151 цикъла.
  - ▶ **Index 1** (Индекс 1) – въведете броя на циклите, необходими за праймера Index 1 (i7) (Индекс 1 (i7)).
  - ▶ **Index 2** (Индекс 2) – въведете броя на циклите, необходими за праймера Index 2 (i5) (Индекс 2 (i5)).
  - ▶ **Read 2** (Разчитане 2) – въведете стойност до 151 цикъла. Тази стойност обикновено е същият брой цикли като Read 1 (Разчитане 1).

Контролният софтуер потвърждава вашите записи, като използва следните критерии:

- ▶ Общият брой цикли не надвишава максимално разрешените цикли
- ▶ Циклите за Разчитане 1 са повече от 5-те цикъла, използвани за генериране на шаблон
- ▶ Циклите на Index Read (Индексно разчитане) не надвишават циклите на Read 1 (Разчитане 1) и Read 2 (Разчитане 2)





- 5 **[Незадължително]** Ако използвате персонализирани праймери, поставете отметка в квадратчето за използваните праймери. За повече информация вижте *Ръководство за персонализирани праймери NextSeq (документ № 15057456)*.
  - ▶ **Read 1** (Разчитане 1) – персонализиран праймер за Read 1 (Разчитане 1).
  - ▶ **Index 1** (Индекс 1) – персонализиран праймер за Index 1 (Индекс 1).
  - ▶ **Index 2** (Индекс 2) – персонализиран праймер за Index 2 (Индекс 2).
  - ▶ **Read 2** (Разчитане 2) – персонализиран праймер за Read 2 (Разчитане 2).
- 6 **[Незадължително]** Изберете бутона **Advanced Settings**  (Разширени настройки), за да промените параметрите на изпълняването.
  - ▶ От падащия списък Recipe (Рецепта) изберете рецепта. Изброени са само съвместими рецепти.
  - ▶ **Output folder location** (Местоположение на изходната папка) – променете местоположението на изходната папка за текущото изпълняване. Изберете **Browse** (Преглед), за да навигирате до мрежово местоположение.
  - ▶ **Included file** (Включен файл) – изберете файлове за включване в изходната папка, които могат да бъдат полезни, ако е необходим допълнителен анализ. Например манифестни файлове и списъци с проби.

- ▶ **Purge consumables for this run** (Почистване на консумативите за това изпълняване) – промяна на настройката за автоматично почистване на консумативите след текущото изпълняване.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Използване на мониторинг на изпълняване за това изпълняване) – променете настройката, за да използвате мониторинг на изпълняване в BaseSpace.

7 Изберете **Next** (Напред).

## Преглед на проверка преди изпълняване на дейност

Софтуерът извършва автоматична проверка на системата преди изпълняване на дейност. По време на проверката на екрана се появяват следните индикатори:

- ▶ **Gray**  **checkmark** (Сива отметка) – проверката все още не е извършена.
- ▶ **Progress**  **icon** (икона Изпълнява се) – проверката се изпълнява.
- ▶ **Green**  **checkmark** (Зелена отметка) – проверката е успешна.
- ▶ **Red**  (Червен) – проверката не е успешна. За всички точки, които не са успешни, се изисква действие, преди да можете да продължите. Вижте *Разрешаване на грешки при автоматична проверка на страница 46*.

За да спрете извършваща се автоматична проверка преди изпълняване на дейност, изберете бутона **Cancel** (Отказ). За да рестартирате проверката, изберете бутона **Retry** (Опитайте отново). Проверката се възстановява до първата непълна или неуспешна проверка.

За да прегледате резултатите от всяка отделна проверка в дадена категория, изберете Category (Категория).

Ако инструментът не е конфигуриран да стартира изпълняването на дейност автоматично, стартирайте изпълняването на дейност след приключването на автоматичната проверка преди изпълняване на дейност.

## Стартиране на изпълняването на дейност

Когато автоматичната проверка преди изпълняване на дейност приключи, изберете **Start** (Стартиране). Изпълняването на секвенирането започва.

За да конфигурирате системата да стартира изпълняването на дейност автоматично след успешна проверка, вижте *Задаване на опции за конфигуриране на изпълняване на дейност на страница 13*.



### ВНИМАНИЕ

Не забравяйте да останете влезли в профила си в Windows. Ако излезете от системата на Windows по време на изпълняване на секвениране, изпълняването спира.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Реагентите не могат да останат в статичен режим в инструмента за повече от 24 часа.

## Следене на напредъка на изпълняването на дейност

- 1 Следене на напредъка на изпълняването на дейност, интензитети и резултати за качество се появяват на екрана като показатели.









**ЗАБЕЛЕЖКА** След като изберете Home (Начало), вече не е възможно да се върнете, за да прегледате показателите за изпълняването на дейност. Въпреки това показателите за изпълняване са достъпни в BaseSpace или могат да се видят от самостоятелен компютър с помощта на Sequencing Analysis Viewer (SAV).

## Цикли за показатели за изпълняването на дейност

Показателите за изпълняване на дейност се появяват в различни моменти по време на изпълняването.

- ▶ По време на стъпките по генериране на клъстери не се появяват показатели.
- ▶ Първите 5 цикъла са запазени за генериране на шаблон.
- ▶ Показателите за изпълняване на дейност се появяват след цикъл 25, включително пълнот на клъстери, клъстери, преминали филтрите, производителност и резултати за качество.

## Прехвърляне на данни

Състояние	Local Run Manager	Исходна папка
Свързано		
Свързано и прехвърляне на данни		
Прекъснато		
Деактивирано		

Ако прехвърлянето на данни е прекъснато по време на изпълняването на дейност, данните се съхраняват временно в компютъра на инструмента. Когато връзката се възстанови, прехвърлянето на данни се възобновява автоматично. Ако връзката не се възстанови преди приключването на изпълняването, прехвърлете ръчно данните от компютъра на инструмента, преди да започнете следващо изпълняване на дейност.

## Универсална услуга за копиране

NextSeq 550Dx включва универсална услуга за копиране. RTA2 изисква услугата да копира файлове от местоположение на източник до местоположение на местоназначение, а услугата обработва заявките за копиране в реда, в който са получени. Ако възникне изключение, файлът се нарежда повторно на опашка за копиране въз основа на броя на файловете в опашката за копиране.

## Sequencing Analysis Viewer

Софтуерът Sequencing Analysis Viewer показва показатели за секвениране, генерирани по време на изпълняване. Измерванията се появяват под формата на графики, графики и таблици, базирани на данни, генерирани от RTA и записани във файлове на InterOp. Измерванията се актуализират с напредването на цикъла. Изберете **Refresh** (Обновяване) по всяко време по време на изпълняване, за да видите актуализирани измервания. За повече информация вижте *Ръководството на потребителя на Sequencing Analysis Viewer (част № 15020619)*.

Sequencing Analysis Viewer е включен в софтуера, инсталиран на компютъра на инструмента. Можете също да инсталирате Sequencing Analysis Viewer на друг компютър, свързан към същата мрежа като инструмента, за да наблюдавате отдалечено измерванията на изпълняване.

## Автоматично измиване след изпълняване

Когато изпълняването на секвениране е завършено, софтуерът стартира автоматично измиване след изпълняване посредством разтвора за измиване, предоставен в касетата с буфера, и NaOCl, предоставен в касетата с реагентите.

Автоматичното измиване след изпълняване отнема приблизително 90 минути. Когато измиването завърши, бутонът Home (Начало) става активен. Резултатите от секвенирането остават видими на екрана по време на измиването.

## След измиването

След измиването сиперите остават в долна позиция, за да се предотврати навлизане на въздух в системата. Оставете касетите на място до следващото изпълняване.





# Глава 4 Сканиране

Въведение .....	29
Работен процес на сканиране .....	30
Изтегляне на DMAP папката .....	30
Зареждане на BeadChip на адаптера .....	31
Конфигуриране на сканиране .....	32
Мониториране на напредъка на сканирането .....	34

## Въведение

За да извършите сканиране на инструмента NextSeq 550Dx, имате нужда от следните компоненти за изпълняване.

- ▶ Хибридизиран и обагрен BeadChip
- ▶ Адаптер BeadChip за многократна употреба
- ▶ Файлове за декодиране на карта (DMAP) за BeadChip, които използвате
- ▶ Манифестен файл за типа BeadChip, който използвате
- ▶ Клъстерен файл за типа BeadChip, който използвате

Исходните файлове се генерират по време на сканирането и след това се поставят на опашка за прехвърляне в посочената изходна папка.

Извършете анализ с помощта на софтуера BlueFuse Multi, който изисква данните от сканиране да са налични във файлов формат за обозначаване на генотип (GTC). По подразбиране инструментът NextSeq 550Dx генерира нормализирани данни и свързани обозначавания на генотип във формат на GTC файл. По желание можете да конфигурирате инструмента да генерира допълнителни файлове с данни за интензитета (IDAT). За повече информация вижте [Конфигурация на сканиране на BeadChip на страница 56](#).

## Decode File Client

Папката DMAP съдържа информация, която идентифицира местоположенията на микросферите на BeadChip и количествено определя сигнала, свързан с всяка микросфера. DMAP папката е уникална за всеки баркод на BeadChip.

Помощната програма Decode File Client ви позволява да изтеглите DMAP папки директно от сървърите на Illumina, използвайки стандартен HTTP протокол.

За достъп до Decode File Client отидете на [страницата за поддръжка на Decode File Client](#) на уебсайта на Illumina ([support.illumina.com/array/array\\_software/decode\\_file\\_client/downloads.html](http://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html)). Инсталирайте Decode File Client на компютър с достъп до мрежовото местоположение на папката DMAP.

За повече информация вижте [Изтегляне на DMAP папката на страница 30](#).

## Манифестни файлове и клъстерни файлове

За всеки BeadChip софтуерът изисква достъп до манифестен файл или клъстерен файл. Всеки манифестен файл или клъстерен файл е уникален за типа BeadChip. Уверете се, че използвате клъстерни файлове, които включват NS550 в името на файла. Тези файлове са съвместими със системата NextSeq 550Dx.

- ▶ **Manifest file** (Манифестен файл) – манифестните файлове описват съдържанието на SNP или сондата на BeadChip. Манифестните файлове използват файловия формат \*.bpm.

- ▶ **Cluster files** (Клъстерни файлове) – клъстерните файлове описват позициите на клъстерите за масива за генотипирание на Illumina и се използват при анализиране на данни за извършване на обозначаване на генотип. Клъстерните файлове използват файловия формат \*.egt.

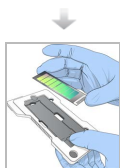
Местоположението на файловете се посочва на екрана BeadChip Scan Configuration (Конфигурация на сканиране на BeadChip). От началния екран на NCS Home изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента), **System Configuration** (Конфигурация на системата) и след това **BeadChip Scan Configuration** (Конфигурация на сканиране на BeadChip).

Когато инструментът NextSeq 550Dx е инсталиран, представителят на Illumina изтегля тези файлове и посочва пътя в контролния софтуер. Не е необходимо да променят тези файлове освен в случай на загуба или ако е налична нова версия. За повече информация вижте [Замяна на манифестни файлове и клъстерни файлове на страница 52](#).

## Работен процес на сканиране

### DMAP

Изтеглете информацията за DMAP и я запазете в посоченото местоположение на DMAP папката.



Заредете BeadChip на адаптера BeadChip.



Заредете адаптера на BeadChip на инструмента.



Посочете параметрите за сканиране: местоположение на DMAP папката и местоположение на изходните данни.



Прегледайте резултатите от автоматичната проверка. Изберете **Start** (Стартиране).



Наблюдавайте сканирането от интерфейса на контролния софтуер.

## Изтегляне на DMAP папката

Можете да получите достъп до папката DMAP, като използвате Decode File Client по акаунт или чрез BeadChip (изглед по подразбиране).

### Достъп до DMAP папка по акаунт

- 1 От главния раздел на Decode File Client изберете опция за изтегляне:
  - ▶ AutoPilot
  - ▶ Всички BeadChips, които все още не са изтеглени

- ▶ Всички BeadChips
  - ▶ BeadChips по поръчка за покупка
  - ▶ BeadChips по баркод
- 2 Въведете необходимата информация.
  - 3 Намерете папката DMAP, която искате да изтеглите.
  - 4 Уверете се, че имате достатъчно свободно място на местоназначението за изтегляне.
  - 5 Стартирайте изтеглянето. Вижте състоянието на изтегляне в раздела Download Status and Log (Състояние и хронология на изтегляне).
  - 6 Запазете папката DMAP в посоченото местоположение на папката DMAP.

## Достъп до папката DMAP от BeadChip

- 1 Идентифицирайте BeadChips, като използвате 2 от следните опции:
  - ▶ Баркод на BeadChip
  - ▶ Идентификатор на кутията BeadChips
  - ▶ Номер на поръчката за покупка
  - ▶ Номер на поръчката за продажба
- 2 Намерете папката DMAP, която искате да изтеглите.
- 3 Уверете се, че имате достатъчно свободно място на местоназначението за изтегляне.
- 4 Стартирайте изтеглянето. Вижте състоянието на изтегляне в раздела Download Status and Log (Състояние и хронология на изтегляне).
- 5 Запазете папката DMAP в посоченото местоположение на папката DMAP.

## Зареждане на BeadChip на адаптера

- 1 Натиснете надолу скобата за задържане на адаптера. Скобата се накланя леко назад, за да се отвори.
- 2 Като държите BeadChip за краищата, поставете BeadChip с баркода близо до скобата за задържане и поставете BeadChip върху вдлъбнатия рафт на адаптера.

Фигура 19 Зареждане на BeadChip на адаптера



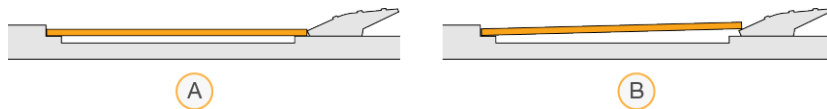
- 3 Използвайки отворите от двете страни на BeadChip, се уверете, че BeadChip е поставен във вдлъбнатия рафт на адаптера.

Фигура 20 Натиснете надолу и захванете BeadChip



- 4 Внимателно освободете скобата за задържане, за да фиксирате BeadChip.
- 5 Проверете BeadChip от страни, за да се уверите, че BeadChip приляга върху адаптера. Преместете BeadChip, ако е необходимо.

Фигура 21 Проверка на позицията на BeadChip



- A Правилна позиция – BeadChip приляга върху адаптера, когато скобата е освободена.  
B Неправилна позиция – BeadChip не приляга, когато скобата е освободена.

## Конфигуриране на сканиране

- 1 От началния екран изберете **Experiment** (Експеримент), след което изберете **Scan** (Сканиране).  
Командата Scan (Сканиране) отваря вратичката на отделението за изобразяване, освобождава консумативи от предходно изпълняване (ако са налични) и отваря поредица от екрани за конфигуриране на сканиране. Нормално е да има кратко забавяне.

## Изваждане на консумативи за секвениране

Ако присъстват използвани консумативи за секвениране, когато настройвате сканиране, софтуерът ви подканва да разределите касетата с реагент и касетата с буфер, преди да продължите към следващата стъпка.

- 1 Ако бъдете подканени, премахнете използваните консумативи за секвениране от предишно изпълняване на секвениране.
  - a Извадете касетата с реагенти от отделението за реагенти. Изхвърлете неизползаното съдържание съгласно приложимите стандарти.
  - b Извадете използваната касета с буфер от отделението за буфер.



#### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

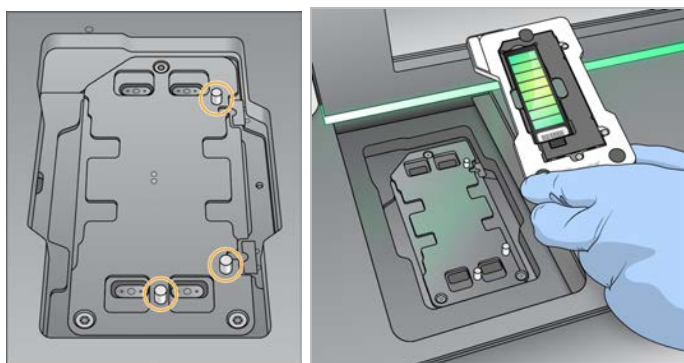
Този набор от реагенти съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реагенти като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте ИЛБ на адрес [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 2 Извадете поточната клетка от отделението за изобразяване.
- 3 Затворете вратичките на отделението за реагенти и отделението за буфер.

## Зареждане на адаптер BeadChip

- 1 Използвайте щифтовете за подравняване, за да позиционирате адаптера BeadChip на станцията.

Фигура 22 Зареждане на адаптер BeadChip



- 2 Изберете **Load** (Зареждане).  
Вратичката се затваря автоматично, на екрана се появява идентификаторът на BeadChip и сензорите се проверяват. Нормално е да има кратко забавяне. Ако баркодът на BeadChip не може да бъде прочетен, се появява диалогов прозорец, който ви позволява да въведете баркода ръчно. Вижте *Софтуерът не може да разчете баркода на BeadChip* на страница 51
- 3 Изберете **Next** (Напред).

## Конфигуриране на сканиране

- 1 На екрана Scan Setup (Конфигуриране на сканиране) потвърдете следната информация.
  - ▶ **Barcode** (Баркод) – софтуерът разчита баркода на BeadChip, когато BeadChip е зареден. Ако баркодът е въведен ръчно, бутонът Edit (Редактиране) се появява за допълнителни промени.
  - ▶ **Type** (Вид) – полето за въвеждане на BeadChip се попълва автоматично въз основа на баркода на BeadChip.
  - ▶ **DMAP Location** (Местоположение на DMAP) – местоположението на папката DMAP се посочва на екрана BeadChip Scan Configuration (Конфигурация на сканиране на BeadChip). За да промените местоположението само за текущото сканиране, изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до правилното местоположение.





- ▶ **Output Location** (Изходно местоположение) – изходното местоположение се посочва на екрана BeadChip Scan Configuration (Конфигурация на сканиране на BeadChip). За да промените местоположението само за текущото сканиране, изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до предпочитаното местоположение.

2 Изберете **Next** (Напред).

## Преглед на проверка преди изпълняване на дейност

Софтуерът извършва автоматична проверка на системата преди изпълняване на дейност.

По време на проверката на екрана се появяват следните индикатори:

- ▶ **Gray**  **checkmark** (Сива отметка) – проверката все още не е извършена.
- ▶ **Progress**  **icon** (икона Изпълнява се) – проверката се изпълнява.
- ▶ **Green**  **checkmark** (Зелена отметка) – проверката е успешна.
- ▶ **Red**  (Червен) – проверката не е успешна. За всички точки, които не са успешни, се изисква действие, преди да можете да продължите. Вижте *Разрешаване на грешки при автоматична проверка на страница 46*.

За да спрете извършваща се автоматична проверка преди изпълняване на дейност, изберете бутона **Cancel** (Отказ). За да рестартирате проверката, изберете бутона **Retry** (Опитайте отново). Проверката се възстановява до първата непълна или неуспешна проверка.

За да прегледате резултатите от всяка отделна проверка в дадена категория, изберете Category (Категория).

Ако инструментът не е конфигуриран да стартира изпълняването на дейност автоматично, стартирайте изпълняването на дейност след приключването на автоматичната проверка преди изпълняване на дейност.

## Стартиране на сканирането

Когато автоматичната проверка приключи, изберете **Start** (Стартиране). Сканирането започва.

За да конфигурирате системата да стартира сканиране автоматично след успешна проверка, вижте *Задаване на опции за конфигуриране на изпълняване на дейност на страница 13*.

## Мониториране на напредъка на сканирането

1 Наблюдавайте напредъка на сканирането с помощта на изображението на BeadChip. Всеки цвят на изображението показва състоянието на сканиране.

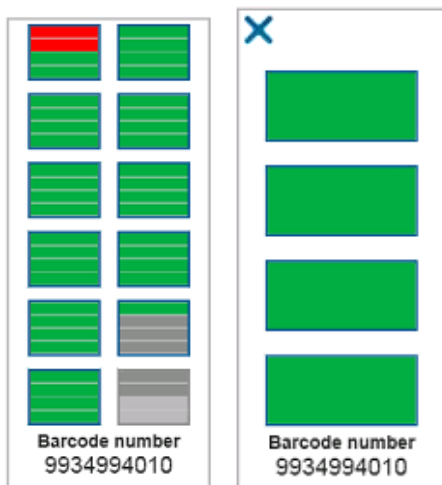
- ▶ **Светлосив** – не е сканирано.
- ▶ **Тъмносив** – сканирано, но не е регистрирано.
- ▶ **Зелен** – сканирано и регистрирано успешно.
- ▶ **Червен** – сканирането и регистрирането са неуспешни.

Ако регистрацията е неуспешна, можете да сканирате повторно проби, които съдържат неуспешни секции. Вижте *Неуспешно сканиране на BeadChip на страница 51*.

2 Изберете изображението на BeadChip, за да превключвате между пълен изглед и подробен изглед на избрана проба.

- ▶ Пълният изглед показва пробите на BeadChip и секциите във всяка проба.
- ▶ Подробният изглед показва всеки раздел в избраната проба.

Фигура 23 Изображение на BeadChip: Пълен изглед и детайлен изглед



**ЗАБЕЛЕЖКА** Прекратяването на сканирането е окончателно. Ако прекратите сканирането, преди сканирането да завърши, данните от сканирането **не** се запазват.

## Прехвърляне на данни

Данните се поставят на опашка за прехвърляне в изходната папка за сканиране, когато сканирането приключи. Данните се записват временно в компютъра на инструмента. Временната папка се изтрива от компютъра на инструмента автоматично, когато започне следващо сканиране.

Времето, необходимо за прехвърляне на данни, зависи от вашата мрежова връзка. Преди да започнете следващо сканиране, уверете се, че данните са записани в изходната папка. За да проверите, уверете се, че GTC файловете присъстват в папката с баркод. За повече информация вижте [Структура на изходна папка за сканиране на страница 67](#).

Когато връзката се прекъсне, прехвърлянето на данни се възобновява автоматично, когато връзката се възстанови. Всеки файл има таймер от 1 час, след като е бил на опашка за прехвърляне в изходната папка. Когато таймерът изтече или ако инструментът се рестартира, преди да завърши прехвърлянето, данните не се записват в изходната папка.





# Глава 5 Поддръжка

Въведение .....	37
Извършване на ръчно измиване .....	37
Подмяна на въздушен филтър .....	40
Софтуерни актуализации .....	41
Опции за рестартиране и изключване .....	43

## Въведение

Процедурите за поддръжка включват ръчни измивания на инструмента и подмяна на въздушен филтър. Опциите за изключване и рестартиране на инструмента също са описани.

- ▶ **Instrument washes** (Измивания на инструмента) – автоматичното измиване след изпълняване след всяко изпълняване на секвениране поддържа производителността на инструмента. Въпреки това е необходимо ръчно измиване периодично при определени условия. Вижте *Извършване на ръчно измиване на страница 37*.
- ▶ **Air filter replacement** (Подмяна на въздушен филтър) – редовната подмяна на въздушния филтър осигурява правилен въздушен поток през инструмента.

## Профилактика

Illumina препоръчва да планирате ежегодно услуга за профилактика. Ако нямате сключен договор за сервизно обслужване, се свържете със своя териториален мениджър на клиенти или отдела за техническа поддръжка на Illumina, за да уредите платена услуга за профилактика.

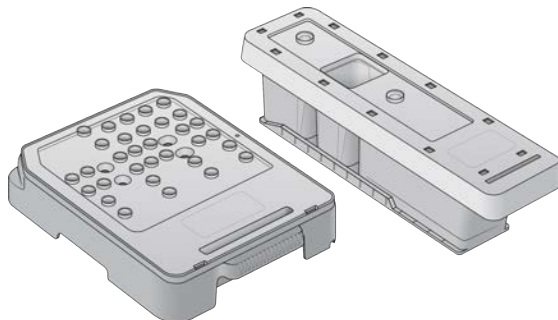
## Извършване на ръчно измиване

Ръчните измивания се инициализират от екрана Home (Начало). Опциите за измиване включват Quick Wash (Бързо измиване) и Manual Post-Run Wash (Ръчно измиване след изпълняване).

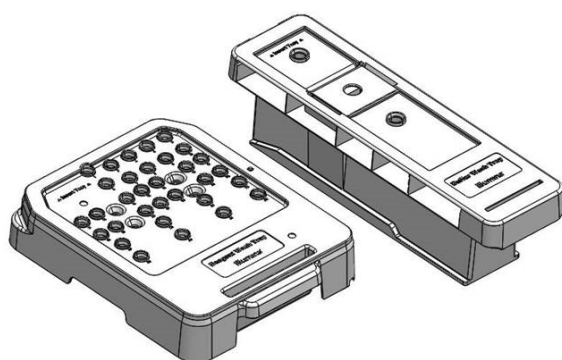
Типове измиване	Описание
Quick Wash (Бързо измиване) Продължителност: 20 минути	Промива системата с набавен от потребителя разтвор за измиване от лабораторен клас вода и Tween 20 (касета за измиване за буфер). <ul style="list-style-type: none"><li>• Изисква се на всеки 14 дни, през които инструментът е в статичен режим, като касетата с реагенти и касетата с буфер са на мястото си.</li><li>• Изисква се на всеки 7 дни, през които инструментът е в сухо състояние (касета с реагенти и касета с буфер са извадени).</li></ul>
Manual Post-Run Wash (Ръчно измиване след изпълняване) Продължителност: 90 минути	Промива системата с набавен от потребителя разтвор за измиване от лабораторен клас вода и Tween 20 (касета за измиване за буфер) и 0,12% натриев хипохлорит (касета за измиване за реагенти). Изисква се, ако не е било извършено автоматично измиване след изпълняване.

Ръчното измиване изисква касетата за измиване за реагенти и касетата за измиване за буфер, предоставени с инструмента, както и използвана поточна клетка. Използвана поточна клетка може да се използва до 20 пъти за измивания на инструмента.

Фигура 24 Касета за измиване за реагенти и касета за измиване за буфер в оригинален стил



Фигура 25 Касета за измиване за реагенти и касета за измиване за буфер в нов стил



## Подготвяне за ръчно измиване след изпълняване

Изберете дали да се подготвите за ръчно измиване след изпълняване, както е описано по-долу, или да се подготвите за бързо измиване (следващият раздел). Ако възнамерявате да извършите ръчно измиване след изпълняване, пропуснете раздела за бързо измиване и продължете към [Зареждане на използвана поточна клетка и на касетите за измиване на страница 40](#).

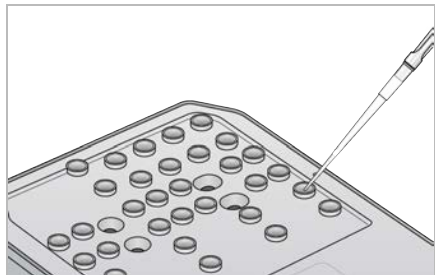
Консумативи, които се набавят от потребителя	Обем и описание
NaOCl	1 ml, разреден до 0,12% Заредено в касетата за измиване за реагенти (позиция № 28)
100% Tween 20 Лабораторен клас вода	Използва се за изготвяне на 125 ml 0,05% Tween 20 разтвор за измиване Заредено в касетата за измиване за буфер (централен резервоар)

**ЗАБЕЛЕЖКА** Винаги използвайте пряко разреден NaOCl, приготвен през последните **24 часа**. Ако направите обем, по-голям от 1 ml, съхранете останалия разтвор за разреждане при температура от 2°C до 8°C за използване в рамките на следващите 24 часа. В противен случай изхвърлете останалия разтвор за разреждане с NaOCl.

- 1 Комбинирайте следните обеми в епруветка за микроцентрифугиране, за да получите 1 ml 0,12% NaOCl:
  - ▶ 5% NaOCl (24 µl)
  - ▶ Лабораторен клас вода (976 µl)

- 2 Обърнете епруветката, за да се смеси.
- 3 Добавете 1 ml от 0,12% NaOCl към касетата за измиване за реагенти. Правилният резервоар е еквивалентен на позицията № 28 в предварително напълнената касета.

Фигура 26 Зареждане на NaOCl



- 4 Комбинирайте следните обеми, за да получите 0,05% Tween 20 разтвор за измиване:
  - Буферна касета за измиване в оригинален стил
    - ▶ 100% Tween 20 (62 µl)
    - ▶ Лабораторен клас вода (125 ml)
    - ▶ Добавете 125 ml разтвор за измиване към централния резервоар на касетата за измиване за буфер.
  - Буферна касета за измиване в нов стил
    - ▶ 100% Tween 20 (75 µl)
    - ▶ Лабораторен клас вода (150 ml)
    - ▶ Добавете 150 ml разтвор за измиване към централния резервоар на касетата за измиване за буфер.
- 5 Изберете **Perform Wash** (Извършване на измиване), след което изберете **Manual Post-Run Wash** (Ръчно измиване след изпълняване).

## Подготвяне за бързо измиване

Можете да се подготвите за бързо измиване, както е описано по-долу, като алтернатива на *Подготвяне за ръчно измиване след изпълняване на страница 38*.

Консумативи, които се набавят от потребителя	Обем и описание
100% Tween 20	Използва се за изготвяне на 40 ml 0,05% Tween 20 разтвор за измиване
Лабораторен клас вода	Заредено в касетата за измиване за буфер (централен резервоар)

- 1 Комбинирайте следните обеми, за да получите 0,05% Tween 20 разтвор за измиване:
  - ▶ 100% Tween 20 (20 µl)
  - ▶ Лабораторен клас вода (40 ml)
- 2 Добавете 40 ml разтвор за измиване към централния резервоар на касетата за измиване за буфер.
- 3 Изберете **Perform Wash** (Извършване на измиване), след което изберете **Quick Wash** (Бързо измиване).

## Зареждане на използвана поточна клетка и на касетите за измиване

- 1 Ако няма налична използвана поточна клетка, заредете използвана поточна клетка. Изберете **Load** (Зареждане), след което Изберете **Next** (Напред).
- 2 Отстранете контейнера за изразходвани реагенти и изхвърлете съдържанието съгласно приложимите стандарти.



### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Този набор от реагенти съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реагенти като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте ИЛБ на адрес [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 3 Плъзнете празния контейнер за изразходвани реагенти в отделението за буфер, докато не спре.
- 4 Извадете използваната касета с буфер от предходното изпълняване, ако е налична.
- 5 Заредете касетата за измиване за буфер, съдържаща разтвор за измиване.
- 6 Извадете използваната касета с реагенти от предходното изпълняване, ако е налична.
- 7 Заредете касетата за измиване за реагенти.
- 8 Изберете **Next** (Напред). Проверката преди измиване започва автоматично.

## Стартиране на измиването

- 1 Изберете **Start** (Стартиране).
- 2 Когато измиването приключи, изберете **Home** (Начало).

## След измиването

След измиването сиперите остават в долна позиция, за да се предотврати навлизане на въздух в системата. Оставете касетите на място до следващото изпълняване.

## Подмяна на въздушен филтър

Новите системи се предлагат с три резервни въздушни филтъра. Те трябва да се съхраняват и използват, когато се получи подкана от инструмента за смяна на филтъра.

Въздушният филтър осигурява въздушен поток през инструмента. Софтуерът показва известие за смяна на въздушния филтър на всеки 90 дни. Когато бъдете подканени, изберете **Remind in 1 day** (Напомняне след 1 ден) или следвайте долупосочената процедура и изберете **Filter Changed** (Сменен филтър). Обратното броене от 90 дни се нулира след избирането на **Filter Changed** (Сменен филтър).

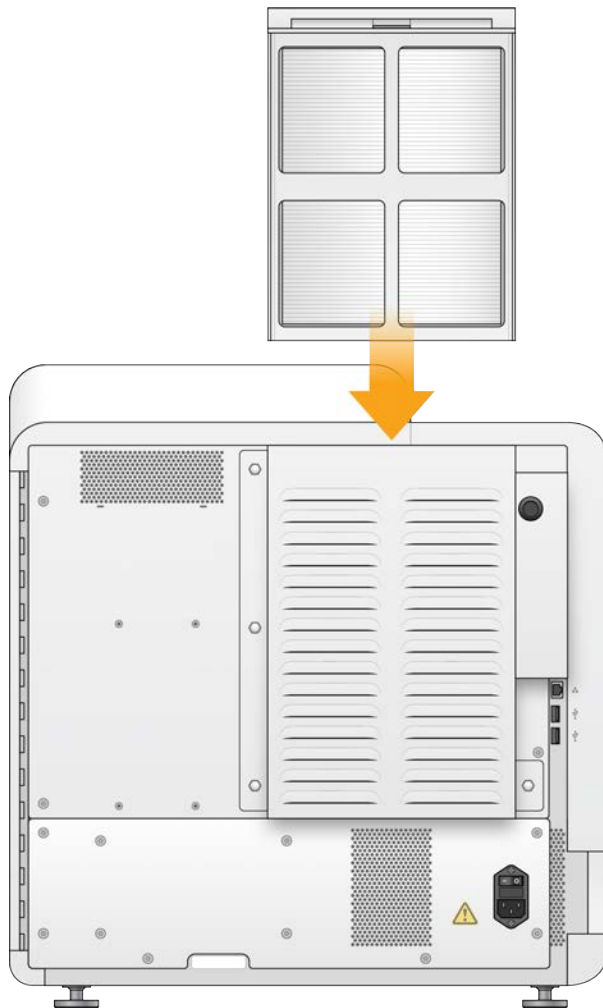
- 1 Извадете новия въздушен филтър от опаковката и запишете датата, на която сте го монтирали, върху рамката на филтъра.
- 2 От задната част на инструмента натиснете надолу горната част на таблата на филтъра, за да освободите таблата.

- 3 Хванете горната част на таблата на филтъра и издърпайте нагоре, за да извадите изцяло таблата от инструмента.
- 4 Извадете и изхвърлете стария въздушен филтър.
- 5 Вкарайте новия въздушен филтър в таблата.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Въздушният филтър не работи правилно, ако е поставен наобратно. Уверете се, че сте поставили въздушния филтър в таблата така, че да можете да виждате зелената стелка „Up“ (Нагоре) и да не виждате етикета за предупреждение. Стрелката трябва да сочи към дръжката на таблата на филтъра.

- 6 Плъзнете таблата на филтъра в инструмента. Натиснете надолу горната част на таблата на филтъра, докато щракне на мястото си.

Фигура 27 Вкарване на въздушен филтър




## Софтуерни актуализации

Софтуерните актуализации се опаковат в софтуерен комплект, наречен System Suite, който включва следния софтуер:

- ▶ Контролен софтуер на NextSeq (NCS)
- ▶ Рецепти на NextSeq
- ▶ RTA2
- ▶ NextSeq Service Software (NSS)
- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

Можете да инсталирате софтуерни актуализации автоматично чрез интернет връзка или ръчно от мрежа или USB местоположение.

- ▶ **Автоматични актуализации** – за инструменти, свързани към мрежа с достъп до интернет, икона за предупреждение  се появява на бутона Manage Instrument (Управление на инструмента) на началния екран, когато е налична актуализация.
- ▶ **Ръчни актуализации** – изтеглете инсталационната програма на System Suite от [страницата за поддръжка на инструмента NextSeq 550Dx](#) на уебсайта на Illumina.

## Автоматична софтуерна актуализация

- 1 Изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
- 2 Изберете **Software Update** (Софтуерна актуализация).
- 3 Изберете **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Инсталиране на актуализацията, която вече е изтеглена от BaseSpace).
- 4 Изберете **Update** (Актуализация), за да започнете актуализацията. Отваря се диалогов прозорец за потвърждение на командата.
- 5 Следвайте подканите в съветника за инсталиране:
  - a Приемете лицензионното споразумение.
  - b Прегледайте бележките по версията.
  - c Прегледайте списъка със софтуера, включен в актуализацията.

Когато актуализацията завърши, контролният софтуер автоматично се рестартира.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Ако е включена актуализация на фърмуера, след актуализиране на фърмуера е необходимо автоматично рестартиране на системата.

## Ръчна софтуерна актуализация

- 1 Изтеглете инсталатора на System Suite от уебсайта на Illumina и го запазете в мрежово местоположение.  
Като алтернатива копирайте инсталационния файл на софтуера на преносимо USB устройство.
- 2 Изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
- 3 Изберете **Software Update** (Софтуерна актуализация).
- 4 Изберете **Manually install the update from the following location** (Ръчно инсталиране на актуализацията от следното място).

- 5 Изберете **Browse** (Преглед), за да навигирате до местоположението на инсталационния файл на софтуера, и след това изберете **Update** (Актуализация).
- 6 Следвайте подканите в съветника за инсталиране:
  - a Приемете лицензионното споразумение.
  - b Прегледайте бележките по версията.
  - c Прегледайте списъка със софтуера, включен в актуализацията.

Когато актуализацията завърши, контролният софтуер автоматично се рестартира.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Ако е включена актуализация на фърмуера, след актуализиране на фърмуера е необходимо автоматично рестартиране на системата.

## Опции за рестартиране и изключване

Осъществете достъп до следните функции чрез избиране на бутона Reboot / Shutdown (Рестартиране / Изключване):

- ▶ Reboot to RUO (Рестартиране до RUO) – инструментът се отваря в изследователски режим.
- ▶ Restart (Рестартиране) – инструментът се отваря в диагностичен режим.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Рестартиране до Dx от RUO) – инструментът се отваря в диагностичен режим.
- ▶ Shutdown (Изключване) – когато отново се включи, инструментът се отваря в диагностичен режим.
- ▶ Exit to Windows (Изход към Windows) – в зависимост от разрешенията можете да затворите NCS и да виждате Windows.

## Рестартиране до диагностичен режим

Използвайте команда Restart (Рестартиране), за да изключите безопасно инструмента и да рестартирате до диагностичен режим. Диагностичен режим е режимът на стартиране по подразбиране.

- 1 Изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
- 2 Изберете **Reboot / Shutdown** (Рестартиране / Изключване).
- 3 Изберете **Restart** (Рестартиране).

## Изключване на инструмента

- 1 Изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
- 2 Изберете **Reboot / Shutdown** (Рестартиране / Изключване).
- 3 Изберете **Shut Down** (Изключване).

Командата Shutdown (Изключване) изключва безопасно софтуера и спира захранването на инструмента. Изчакайте най-малко 60 секунди, преди да включите инструмента отново.

**ЗАБЕЛЕЖКА** По подразбиране инструментът се стартира в диагностичен режим, когато се включи.





#### ВНИМАНИЕ

**Не** релокализирайте инструмента. Неправилното преместване на инструмента може да повлияе на оптичното подравняване и да наруши целостта на данните. Ако трябва да преместите инструмента, свържете се с вашия представител на Illumina.

### Exit to Windows (Изход към Windows)

Командата Exit to Windows (Изход към Windows) предоставя достъп до операционната система на инструмента и до всяка папка в компютъра на инструмента. Командата изключва безопасно софтуера и осъществява изход към Windows. Само потребител администратор може да осъществи изход към Windows.

- 1 Изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
- 2 Изберете **Reboot / Shutdown** (Рестартиране / Изключване).
- 3 Изберете **Exit to Windows** (Изход към Windows).

# Приложение А Отстраняване на неизправности

Въведение .....	45
Файлове за отстраняване на неизправности .....	45
Разрешаване на грешки при автоматична проверка .....	46
Контейнерът за изразходвани реагенти е пълен .....	49
Работен процес за рехибридизация .....	49
BeadChip и грешки при сканиране .....	51
Персонализирани рецепти и папки с рецепти .....	53
Съобщение за грешка в RAID .....	53
Конфигуриране на настройките на системата .....	54

## Въведение

За проблеми с качеството на изпълняването или производителността се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina. Вижте [Техническа помощ на страница 73](#).

## Файлове за отстраняване на неизправности

Представител на отдела за техническа поддръжка на Illumina може да изисква копия на специфични за изпълняване или специфични за сканирането файлове за отстраняване на неизправности при проблеми. За отстраняване на неизправности по принцип се използват долупосочените файлове.

## Файлове за отстраняване на неизправности за изпълнявания на секвениране

Ключов файл	Папка	Описание
Файл с информация за изпълняването (RunInfo.xml)	Главна папка	Съдържа следната информация: <ul style="list-style-type: none"><li>Име на изпълняването</li><li>Брой цикли в изпълняването</li><li>Брой цикли във всяко разчитане</li><li>Дали разчитането е индексно разчитане</li><li>Брой откоси и плочки в поточната клетка</li></ul>
Файл с параметри за изпълняване на дейност (RunParameters.xml)	Главна папка	Съдържа информация относно параметрите и компонентите за изпълняване на дейност. Информацията включва РЧИД, сериен номер, номер на част и срок на годност.
Файл за конфигурация на RTA (RTAConfiguration.xml)	Главна папка	Съдържа настройките за конфигуриране на RTA за изпълняването на дейност. Файлът RTAConfiguration.xml се създава в началото на изпълняването.
Файлове InterOp (*.bin)	InterOp	Двоични отчетни файлове. InterOp файловете могат да бъдат актуализирани по време на изпълняването.

Ключов файл	Папка	Описание
Файлове с хронология	Хронологии	Файловете с хронологии описват всяка изпълнена стъпка от инструмента за всеки цикъл и включват версии на софтуера и фърмуера, използвани при изпълняването на дейност. Файлт с име <b>[InstrumentName]_CurrentHardware.csv</b> включва серийните номера на компонентите на инструмента.
Файлове с хронология за грешки (*ErrorLog*.txt)	Хронологии за RTA	Хронология за грешки в RTA. Файловете с хронология за грешките се актуализират всеки път, когато възникне грешка.
Глобални файлове с хронология (*GlobalLog*.tsv)	Хронологии за RTA	Хронология за всички събития с RTA. Глобалните файлове с хронология се актуализират по време на изпълняването.
Файлове с хронология за линия (*LaneLog*.txt)	Хронологии за RTA	Хронология за събития от обработката в RTA. Файлове с хронология за линия се актуализират по време на изпълняването.

## Грешки в RTA

За отстраняване на неизправности с грешки в RTA първо проверете регистъра на грешки в RTA, който се съхранява в папка RTALogs. Този файл не е наличен при успешни изпълнявания на дейности. Включете регистъра на грешки, когато докладвате за проблеми до отдела за техническа поддръжка на Illumina.

## Файлове за отстраняване на неизправности за сканирания на масиви

Ключов файл	Папка	Описание
Файл с параметри на сканиране (ScanParameters.xml)	Главна папка	Съдържа информация относно параметрите на сканиране. Информацията включва дата на сканиране, баркод на BeadChip, местоположение на клъстерния файл и местоположение на манифестния файл.
Файлове с хронология	Хронологии	Регистрационните файлове описват всяка стъпка, извършена на инструмента по време на сканирането.
Файлове с измервания	[Баркод]	Измерванията се предоставят като измервания за проби и измервания за раздели. <b>[barcode]_sample_metrics.csv</b> – за всяка проба и канал (червено и зелено) изброява процентно отклонение на изображението, процентни отклонения, P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev и минимален регистрационен резултат. <b>[barcode]_section_metrics.csv</b> – за всяка секция и плочка изброява лазерна Z-позиция, Z-позиция чрез фокусиране, червена FWHM, зелена FWHM, червен среден интензитет на пикселите, Зелен среден интензитет на пикселите, червен регистрационен резултат и зелен регистрационен резултат.
Повторно сканиране на файл	[Баркод]	<b>[barcode]_rescan.flowcell</b> – изброява местоположенията на плочките, коригирани за повторно сканиране, които включват увеличено припокриване между плочки.

## Разрешаване на грешки при автоматична проверка

Ако възникнат грешки по време на автоматична проверка, използвайте долупосочените препоръчителни действия за разрешаване на грешката.

## Проверки за изпълнявания на секвениране

Ако дадена проверка преди изпълняването е неуспешна, РЧИД на касетата с реагенти не се заключва и може да се използва за следващо изпълняване. Въпреки това РЧИД на поточната клетка, касетата с реагент и касетата с буфер ще бъдат заключени по време на инициализация на контролния софтуер, което може да е необходимо за разрешаване на грешка. Потребителят трябва да премахне поточната клетка, касетата с реагент и касетата с буфер от инструмента преди рестартиране на системата. Освен това РЧИД на консумативите се заключват след пробиване на фолиото. След като РЧИД на поточната клетка бъде прочетен от софтуера, стартира 7-часов таймер, след изтичането на който поточната клетка се счита за заключена и неизползваема.

Проверки на системата	Препоръчително действие
Вратичките са затворени	Уверете се, че вратичките на отделенията са затворени.
Консумативите са заредени	Сензорите на консумативите не регистрират. Уверете се, че всеки консуматив е правилно зареден. На екраните за конфигуриране на изпълняването на дейност изберете <b>Back</b> (Назад), за да се върнете до стъпката за зареждане и повторете конфигурирането на изпълняването на дейност.
Необходим софтуер	Липсват критични компоненти на софтуера. Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Дисково пространство на инструмента	Твърдият диск на инструмента няма достатъчно дисково пространство за извършване на изпълняването на дейност. Възможно е данните от предходно изпълняване да не са се прехвърлили. Изчистете данните от изпълняването от твърдия диск на инструмента.
Мрежова връзка	Мрежовата връзка е прекъсната. Проверете състоянието на мрежата и физическата мрежова връзка.
Мрежово дисково пространство	Мрежовият сървър е пълен.
Температура	Препоръчително действие
Температура	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Сензори за температура	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Вентилатори	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Система за изобразяване	Препоръчително действие
Граници на изобразяването	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Придвижване и установяване на позицията по ос Z	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Честота на побитова грешка	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.

Система за изобразяване	Препоръчително действие
Регистриране на поточна клетка	<p>Възможно е поточната клетка да не е поставена правилно.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>На екраните за конфигуриране на изпълняването на дейност изберете <b>Back</b> (Назад), за да се върнете до стъпката за поточна клетка. Вратичката на отделението за изобразяване се отваря.</li> <li>Извадете и поставете отново поточната клетка, за да се уверите, че е поставена правилно.</li> </ul>
Доставяне на реагенти	Препоръчително действие
Реакция на клапите	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Помпа	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Механизъм на буфер	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Изпразване на изразходвани реагенти	Изпразнете контейнера за изразходвани реагенти и заредете повторно празния контейнер.

## Проверки за сканиране на масиви

Проверки на системата	Препоръчително действие
Вратичките са затворени	Уверете се, че вратичките на отделенията са затворени.
Консумативите са заредени	<p>Сензорите на консумативите не регистрират. Уверете се, че всеки консуматив е правилно зареден.</p> <p>На екраните за конфигуриране на изпълняването на дейност изберете <b>Back</b> (Назад), за да се върнете до стъпката за зареждане и повторете конфигурирането на изпълняването на дейност.</p>
Необходим софтуер	Липсват критични компоненти на софтуера. Извършете ръчна софтуерна актуализация, за да възстановите всички компоненти на софтуера.
Проверете входните файлове	Уверете се, че пътят към клъстерния и манифестния е правилен и че файловете присъстват.
Дисково пространство на инструмента	Твърдият диск на инструмента няма достатъчно дисково пространство за извършване на изпълняването на дейност. Възможно е данните от предходно изпълняване да не са се прехвърлили. Изчистете данните от изпълняването от твърдия диск на инструмента.
Мрежова връзка	Мрежовата връзка е прекъсната. Проверете състоянието на мрежата и физическата мрежова връзка.
Мрежово дисково пространство	Или акаунтът за BaseSpace е пълен, или мрежовият сървър е пълен.

Система за изобразяване	Препоръчително действие
Граници на изобразяването	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Придвижване и установяване на позицията по ос Z	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Честота на побитова грешка	Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.
Автоматично центриране	Изключване на адаптер BeadChip Уверете се, че BeadChip е поставен в адаптера и след това презаредете адаптера.

## Контейнерът за изразходвани реагенти е пълен

Винаги започвайте изпълняване на дейност с празен контейнер за изразходвани реагенти.

Ако започнете изпълняване на дейност без да сте изпразнили контейнера за изразходвани реагенти, сензорите на системата задействат софтуера да направи пауза на изпълнението, когато контейнерът е пълен. Сензорите на системата не могат да направят пауза на изпълнение на дейност по време на клъстериране, ресинтеза със сдвоени краища или автоматично измиване след изпълняване.

Когато изпълняването е на пауза, се отваря диалогов прозорец с опции за повдигане на сиперите и изпразване на пълния контейнер.

## Изпразване на контейнера за изразходвани реагенти

- 1 Изберете **Raise Sippers** (Повдигане на сипери).
- 2 Извадете контейнера за изразходвани реагенти и изхвърлете съдържанието по подходящ начин.
- 3 Върнете празния контейнер в отделението за буфер.
- 4 Изберете **Continue** (Продължаване). Изпълняването на дейност се възобновява автоматично.

## Работен процес за рехибридизация

Може да се наложи изпълняване на рехибридизация, ако показателите, генерирани през първите няколко цикъла, показват интензитети под 2500. Някои библиотеки с ниско разнообразие могат да показват интензитет под 1000, което се очаква и не може да бъде разрешено с рехибридизация.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Командата End Run (Прекратяване на изпълняване) е окончателна. Изпълняването не може да се продължи, консумативите за изпълняването не могат да се използват повторно и данните за секвенирането от изпълняването не се записват.

Когато прекратите изпълняване, софтуерът изпълнява следните стъпки, преди да приключи изпълняването:

- ▶ Постава поточната клетка в безопасно състояние.
- ▶ Отключва РЧИД на поточната клетка за по-късно изпълняване.
- ▶ Присвоява дата на изтичане на рехибридизацията към поточната клетка.
- ▶ Записва записите за изпълняване за завършени цикли. Нормално е да има забавяне.
- ▶ Прескача автоматичното измиване след изпълняване

Когато стартирате изпълняване на рехибридизация, софтуерът изпълнява следните стъпки, за да извърши цикъла:

- ▶ Създава папка за изпълняване въз основа на уникално име на изпълняване.
- ▶ Проверява дали датата на рехибридизация на поточната клетка не е изтекла.
- ▶ Обработва първично реагентите. Нормално е да има забавяне.
- ▶ Пропуска стъпката на клъстериране.

- ▶ Премахва предишния праймер за Read 1 (Разчитане 1).
- ▶ Хибридизира свеж праймер за Read 1 (Разчитане 1).
- ▶ Продължава през Read 1 (Разчитане 1) и останалата част от цикъла въз основа на определени параметри на изпълняване.

## Точки за прекратяване на цикъл за рехибридизация

По-късна рехибридизация е възможна само ако приключите цикъла в следните точки:

- ▶ **After cycle 5** (След цикъл 5) – интензитетите се появяват след регистрация на шаблона, което изисква първите 5 цикъла на секвениране. Въпреки че е безопасно да приключите изпълняване след цикъл 1, се препоръчва краят да е след цикъл 5. Не прекратявайте изпълняване по време на генериране на клъстери.
- ▶ **Read 1 or Index 1 Read** (Разчитане 1 или индексно разчитане 1) – прекратява изпълняването, *преди* да започне ресинтезът със сдвоени краища. Поточната клетка не може да бъде запазена за по-късна рехибридизация, след като започне ресинтезът със сдвоени краища.

## Необходими консумативи

Изпълняването на рехибридизация изисква нова касета с реагент NextSeq 550Dx и касета с буфер, независимо кога е спрял цикълът.

## Прекратяване на текущото изпълняване

- 1 Изберете **End Run** (Прекратяване на изпълняване). Когато бъдете подканени да потвърдите командата, изберете **Yes** (Да).
- 2 Когато бъдете подканени да запазите поточната клетка, изберете **Yes** (Да). Обърнете внимание на срока на годност за рехибридизация.
- 3 Отстранете запазената поточна клетка и оставете настрана при 2°C до 8°C, докато не сте готови да настроите цикъла на рехибридизация.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Можете да съхранявате поточната клетка до 7 дни при 2°C до 8°C в пластмасов калъф **без** десикант. За най-добри резултати рехибридизирайте запазената поточна клетка в рамките на 3 дни.

## Извършване на ръчно измиване

- 1 От екрана Home (Начало) изберете **Perform Wash** (Извършване на измиване).
- 2 От екрана Wash Selection (Избиране на измиване) изберете **Manual Post-Run Wash** (Ръчно измиване след изпълняване). Вижте *Извършване на ръчно измиване на страница 37*.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Ако не сте извадили касетата с реагент и касета с буфер от спрения цикъл, можете да ги използвате за ръчно измиване. В противен случай извършете ръчното измиване с касетата за измиване с реагент и касетата за измиване с буфер.

## Настройване на ново изпълняване в раздела BaseSpace Prep

- 1 Ако инструментът е конфигуриран за BaseSpace or BaseSpace Onsite (BaseSpace или BaseSpace Onsite), настройте ново изпълняване в раздела Prep (Подготовка), като използвате същите параметри като първоначалното.

**СЪВЕТ** Щракнете върху раздела Pools (Пулове), изберете подходящия идентификатор на пула, за да запазите предишните настройки за изпълняване, и след това задайте уникално име за новото изпълняване.

## Настройване на изпълняване на инструмента

- 1 Пригответе нова касета с реагенти.
- 2 Ако запазената поточна клетка е била съхранена, оставете я да достигне стайна температура (15 – 30 минути).
- 3 Почистете и заредете запазената поточна клетка.
- 4 Извадете контейнера за изразходвани реагенти и изхвърлете съдържанието по подходящ начин, след което презаредете празния контейнер.
- 5 Заредете нова касета с буфер и касетата с реагент.
- 6 От екрана Run Setup (Настройка на изпълняване) изберете от следните опции.
  - ▶ **BaseSpace или BaseSpace Onsite** – изберете изпълняването и потвърдете параметрите на изпълняване.
  - ▶ **Standalone** (Самостоятелно) – въведете името на изпълняването и посочете същите параметри като оригиналното изпълняване.
- 7 Изберете **Next** (Напред), за да продължите с проверката преди изпълняването и да започнете изпълняването.

## BeadChip и грешки при сканиране

### Софтуерът не може да разчете баркода на BeadChip

Когато се появи диалоговият прозорец за грешка с баркод, изберете от следните опции:

- ▶ Изберете **Rescan** (Повторно сканиране). Софтуерът се опитва да прочете баркода отново.
- ▶ Изберете текстово поле и въведете цифровия баркод, както е показано на изображението. В зависимост от BeadChip номерата на баркодовете имат до 12 цифри. Изберете **Save** (Записване). Изображението с баркод се съхранява в изходната папка.
- ▶ Изберете **Cancel** (Отказ). Вратата на отделението за изобразяване се отваря, за да разтоварите адаптера BeadChip.

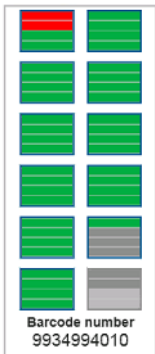
### Неуспешно сканиране на BeadChip

Изображенията се регистрират, след като бъдат сканирани. Регистрацията идентифицира микросфери чрез съпоставяне на местоположенията на сканираното изображение с информацията, предоставена в картата на микросферите или в папката DMAP.

Секциите, които не са регистрирани, са обозначени в червено на изображението на BeadChip.



Фигура 28 BeadChip показва неуспешни секции



След като сканирането приключи и данните за сканиране бъдат записани в изходната папка, бутонът Rescan (Повторно сканиране) става активен.

Когато се избере Rescan (Повторно сканиране), софтуерът изпълнява следните стъпки:

- ▶ Сканира повторно проби, които съдържат неуспешни секции, използвайки увеличено припокриване между плочките.
- ▶ Генерира изходни файлове в оригиналната изходна папка.
- ▶ Презаписва предишните изходни файлове за неуспешни секции.
- ▶ Увеличава брояча на сканиране с 1 за всяко повторно сканиране, но го прави на заден план. Софтуерът не преименува изходната папка.

## Rescan (Повторно сканиране) или Start New Scan (Стартиране на ново сканиране)

- 1 Изберете **Rescan** (Повторно сканиране) за сканиране на проби, които съдържат неуспешни раздели.
- 2 Ако сканирането продължава да не е успешно, прекратете сканирането.
- 3 Отстранете BeadChip и адаптера и проверете BeadChip за прах или отпилки. Използвайте въздух под налягане във флакон или друг метод за компресирано отстраняване на прах, за да изчистите отпилките.
- 4 Презаредете BeadChip и започнете ново сканиране.  
Когато стартира ново сканиране, софтуерът изпълнява следните стъпки:
  - ▶ Сканира целия BeadChip.
  - ▶ Генерира изходни файлове в нова изходна папка.
  - ▶ Увеличава брояча на сканиране с 1 въз основа на броя на сканираните от последното повторно сканиране.

## Замяна на манифестни файлове и клъстерни файлове

- 1 Отидете на страницата за поддръжка на Illumina ([support.illumina.com](http://support.illumina.com)) за BeadChip, който използвате, и щракнете върху раздела **Downloads** (Изтегляния).
- 2 Изтеглете файловете, които ще бъдат заменени или актуализирани, и копирайте файловете на предпочитаното от вас мрежово местоположение.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Уверете се, че сте избрали манифестни и клъстерни файлове, които са съвместими със системата на инструмента NextSeq 550Dx. Съвместимите файлове включват **NS550** в името на файла.


- 3 Само ако местоположението се е променило, актуализирайте местоположението на екрана за конфигурация на сканиране на BeadChip, както следва:
  - a От екрана Home (Начало) на NCS изберете **Manage Instrument** (Управление на инструмента).
  - b Изберете **System Configuration** (Конфигурация на системата).
  - c Изберете **BeadChip Scan Configuration** (Конфигурация на сканиране на BeadChip).
- 4 Изберете **Browse** (Преглед) и отидете до местоположението на подменените или актуализирани файлове.


## Персонализирани рецепти и папки с рецепти

Не променяйте оригиналните рецепти. Винаги правете копие на оригиналната рецепта с ново име. Ако оригинална рецепта бъде променена, програмата за актуализиране на софтуера вече не може да разпознае рецептата за по-късни актуализации и по-новите версии не се инсталират.


Съхранявайте персонализирани рецепти в съответната папка с рецепти. Папките с рецепти са организирани по следния начин.

### **Custom (Персонализирани)**

 **High** (Високи) – персонализирани рецепти, използвани с комплект с висока производителност.

 **Mid** (Средни) – персонализирани рецепти, използвани с комплект със средна производителност.

 **High** (Високи) – оригинални рецепти, използвани с комплект с висока производителност.

 **Mid** (Средни) – оригинални рецепти, използвани с комплект със средна производителност.

 **Wash** (Измиване) – съдържа рецептата за ръчно измиване.

## Съобщение за грешка в RAID

Компютърът NextSeq 550Dx е оборудван с четири твърди диска, два за диагностичен режим и два за изследователски режим. Ако даден твърд диск започне да отказва да работи, системата генерира съобщение за грешка в RAID и предлага да се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina. Обикновено е необходима смяна на твърд диск.

Можете да продължите със стъпките за конфигуриране на изпълняването и нормалната работа. Целта на съобщението е да се планира обслужване предварително, за да се избегнат прекъсвания на нормалната работа на инструмента. Предупреждението за RAID може да се приеме само от администратор. Използването на вашия инструмент само с един твърд диск може да доведе до загуба на данни.

## Конфигуриране на настройките на системата

Системата се конфигурира по време на инсталирането. Ако обаче се изисква промяна или системата трябва да бъде конфигурирана повторно, използвайте опциите за конфигурация на системата. Само администраторски акаунт за Windows има разрешение за достъп до опциите за конфигурация на системата.

- ▶ **Network Configuration** (Мрежова конфигурация) – предоставя опции за настройки на IP адрес, адрес на сървър за имена на домейни (DNS), име на компютър и име на домейн.

## Задаване на мрежова конфигурация

- 1 От екрана Manage Instrument (Управление на инструмента) изберете **System Configuration** (Конфигурация на системата).
- 2 Изберете **Obtain an IP address automatically** (Автоматично получаване на IP адрес), за да получите IP адреса чрез DHCP сървър.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Протоколът за динамична конфигурация на хоста (DHCP) е стандартен мрежов протокол, използван в IP мрежи за динамично разпределение на мрежовите конфигурационни параметри.

Като алтернатива, изберете **Use the following IP address** (Използвайте следния IP адрес), за да свържете инструмента към друг сървър ръчно, както следва. Свържете се с вашия мрежов администратор за адресите, специфични за вашата база.

- ▶ Въведете IP адрес. IP адресът е поредица от 4 числа, разделени с точка, подобно на 168.62.20.37, например.
- ▶ Въведете маската на подмрежата, която е подразделение на IP мрежата.
- ▶ Въведете шлюза по подразбиране, който е рутерът в мрежата, който се свързва с интернет.

- 3 Изберете **Obtain a DNS server address automatically** (Автоматично получаване на адрес на DNS сървър), за да свържете инструмента към сървъра за имена на домейни, асоцииран с IP адреса.

Като алтернатива, изберете **Use the following DNS server addresses** (Използвайте следните адреси на DNS сървър), за да свържете инструмента към друг сървър ръчно, както следва.

- ▶ Въведете предпочитания DNS адрес. DNS адресът е името на сървъра, използвано за превод на имена на домейни в IP адреси.
- ▶ Въведете алтернативен DNS адрес. Алтернативният вариант се използва, ако предпочитаният DNS не може да преведе конкретно име на домейн в IP адрес.

- 4 Изберете **Save** (Записване), за да преминете към екрана Computer (Компютър).

**ЗАБЕЛЕЖКА** Името на компютъра на инструмента се задава на компютъра на инструмента по време на производството. Всички промени по името на компютъра могат да повлияят на свързаността и да изискват мрежов администратор.

- 5 Свържете компютъра на инструмента към домейн или работна група, както следва.

- ▶ **For instruments connected to the internet** (За инструменти, свързани с интернет) – изберете **Member of Domain** (Член на домейн) и след това въведете име на домейн, свързано с интернет връзката във вашето помещение. Промени на домейна изискват потребителско име и парола на администратор.
- ▶ **For instruments not connected to the internet** (За инструменти, които не са свързани с интернет) – изберете **Member of Work Group** (Член на работна група) и въведете име на работната група. Името на работната група е уникално за вашето помещение.

6 Изберете **Save** (Записване).

## Задаване на конфигурация за анализ

- 1 От екрана Manage Instrument (Управление на инструмента) изберете **System Configuration** (Конфигурация на системата).
- 2 Изберете **Analysis Configuration** (Конфигурация за анализ).
- 3 Изберете от следните опции, за да посочите място, където данните се прехвърлят за последващ анализ.
  - ▶ Изберете **BaseSpace** за изпращане на данни от секвенирането до Illumina BaseSpace. **[Незадължително]** Изберете полето за отметка **Output Folder** (Изходна папка), изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до вторично мрежово местоположение, за да запазите BCL файлове в допълнение към BaseSpace.
  - ▶ Изберете **BaseSpace Onsite**. В полето Server Name (Име на сървъра) въведете пълния път до вашия сървър на BaseSpace Onsite. **[Незадължително]** Изберете полето за отметка **Output Folder** (Изходна папка), изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до вторично мрежово местоположение, за да запазите BCL файлове в допълнение към сървъра BaseSpace Onsite.
  - ▶ Изберете **Standalone instrument** (Самостоятелен инструмент), за да запазите данните само в мрежово местоположение. Изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до мрежово местоположение. Контролният софтуер генерира автоматично името на изходната папка.
    - ▶ **[Незадължително]** Изберете **Use Run Monitoring** (Използване на мониторинг на изпълняването) за мониторинг на изпълняването чрез инструменти за визуализация на BaseSpace. Изисква се вход в BaseSpace и интернет връзка.
- 4 Ако сте избрали BaseSpace or BaseSpace Onsite (BaseSpace или BaseSpace Onsite), задайте параметрите на BaseSpace, както следва.
  - ▶ Въведете **User Name** (Потребителско име) и **Password** (Парола) за BaseSpace, за да регистрирате инструмента в BaseSpace.
  - ▶ Изберете **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Използване на вход по подразбиране и заобикаляне на екрана за вход в BaseSpace), за да зададете регистрираното потребителско име и парола като вход по подразбиране. Тази настройка заобикаля екрана BaseSpace по време на настройката за изпълняване.
- 5 Изберете **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Изпращане на информация за изправността на инструмента до Illumina), за да активирате услугата за проактивен мониторинг на Illumina. Името на настройката в интерфейса на софтуера може да се различава от името в този наръчник в зависимост от версията на NCS, която се използва. Когато тази настройка е включена, данните за работата на инструмента се изпращат на Illumina. Тези данни помагат на Illumina да отстранява неизправностите по-лесно и да

открива потенциални проблеми, като така се дава възможност за проактивна поддръжка и максимално удължаване на работата на инструмента. За повече информация за ползите от тази услуга вижте *Техническа бележка за Illumina Proactive (документ № 1000000052503)*. Тази услуга:

- ▶ не изпраща данни за секвенирането
- ▶ изисква инструментът да е свързан към мрежа с достъп до интернет
- ▶ по подразбиране е изключена. За да се включите в тази услуга, активирайте настройката **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Изпращане на данни за производителността на инструмента до Illumina).

6 Изберете **Save** (Записване).

## Конфигурация на сканиране на BeadChip

- 1 От екрана Manage Instrument (Управление на инструмента) изберете **System Configuration** (Конфигурация на системата).
- 2 Изберете **BeadChip Scan Configuration** (Конфигурация на сканиране на BeadChip).
- 3 За да посочите местоположение на папка DMAP по подразбиране, изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до предпочитаното местоположение на папката в мрежата на вашето заведение.

**ЗАБЕЛЕЖКА** Преди всяко сканиране изтеглете и копирайте DMAP съдържанието на това място. DMAP съдържанието е необходимо за всеки BeadChip и е уникално за всеки баркод на BeadChip.

- 4 За да посочите местоположение на изходни данни по подразбиране, изберете **Browse** (Преглед) и навигирайте до предпочитаното местоположение в мрежата на вашето заведение.
- 5 Изберете формат на файл с изображения за запазени изображения. Типът изображение по подразбиране е **JPG**.
- 6 Изберете изходен файлов формат за данни за сканиране. Типът изходен файлов формат по подразбиране е **GTC only** (Само GTC).
- 7 Изберете **Save** (Записване).
- 8 От екрана Scan Map (Карта на сканиране) посочете пълния път до манифестния файл и клъстерния файл за всеки тип BeadChip. Изберете **Browse** (Преглед) за всеки тип файл и отидете до местоположението на папката, която съдържа тези файлове.
- 9 **[Незадължително]** Изберете **Hide Obsolete BeadChips** (Скриване на изтекли BeadChips), за да премахнете от изгледа BeadChips, които са изтекли.
- 10 Изберете **Save** (Записване).

# Приложение В Анализ в реално време

Общ преглед на анализа в реално време .....	57
Работен процес на анализа в реално време .....	58

## Общ преглед на анализа в реално време

Инструментът NextSeq 550Dx използва прилагането на софтуер за Real-Time Analysis (RTA) (Анализ в реално време), наречен RTA2. RTA2 се изпълнява на компютъра на инструмента и осъществява екстракция на интензитетите от изображенията, извърши обозначавания на бази и задава резултат за качеството към обозначаването на бази. RTA2 и работният софтуер комуникират чрез HTTP уеб интерфейс и споделени файлове с памет. Ако RTA2 се прекрати, обработката не продължава и данните от изпълняването на дейност не се записват.

## Входни файлове за RTA2

RTA2 изисква следните входни файлове за обработка:

- ▶ Изображенията на плочките, които се съдържат в паметта на локалната система.
- ▶ **RunInfo.xml**, който се генерира автоматично в началото на изпълняването на дейност и предоставя името на изпълняването на дейност, броя цикли, дали е индексирано разчитане и броя плочки в поточната клетка.
- ▶ **RTA.exe.config**, който е софтуерен конфигурационния файл във формат XML.

RTA2 приема команди от работния софтуер относно местоположението на **RunInfo.xml** и дали е посочена незадължителна изходна папка.

## Изходни файлове за RTA2

Изображенията за всеки канал се **предават** в паметта като плочки. Плочките са малки зони на изобразяване в поточната клетка, определени като зрителното поле на камерата. От тези изображения софтуерът произвежда изходни данни като набор от файлове за обозначаване с база, класифицирани по качество, и филтрирани файлове. Всички други файлове са поддържащи изходни файлове.

Тип файл	Описание
Файлове за обозначаване на бази	Всяка анализирана плочка се включва в сборен файл за обозначаване на бази (*.bcl.bgzf) за всяка линия и за всеки цикъл. Сборният файл за обозначаването на бази съдържа обозначаването на бази и свързания резултат на качеството за всеки клъстер в тази линия.
Файлове с филтри	Всяка плочка произвежда информация за филтъра, която се обобщава в 1 файл с филтър (*.filter) за всяка линия. Файлът с филтър посочва дали даден клъстер е преминал филтрите.
Файлове с местоположения на клъстерите	Файловете с местоположение на клъстерите (*.locs) съдържат координатите X, Y за всеки клъстер в плочка. Файл за местоположение на клъстерите се генерира за всяка линия по време на генерирането на шаблон.
Индексни файлове за обозначаване на база	Индексен файл за обозначаване на бази (*.bci) се изготвя за всяка линия, за да запазва първоначалната информация за плочката. Индексният файл съдържа двойка стойности за всяка плочка, които са номер на плочката и брой на клъстерите за тази плочка.

RTA2 предоставя измервания в реално време на качеството на изпълняването на дейност, съхранявани като файлове InterOp. Файловете InterOp са двоични изходни файлове, съдържащи измервания на плочките, циклите и нивото на разчитане.

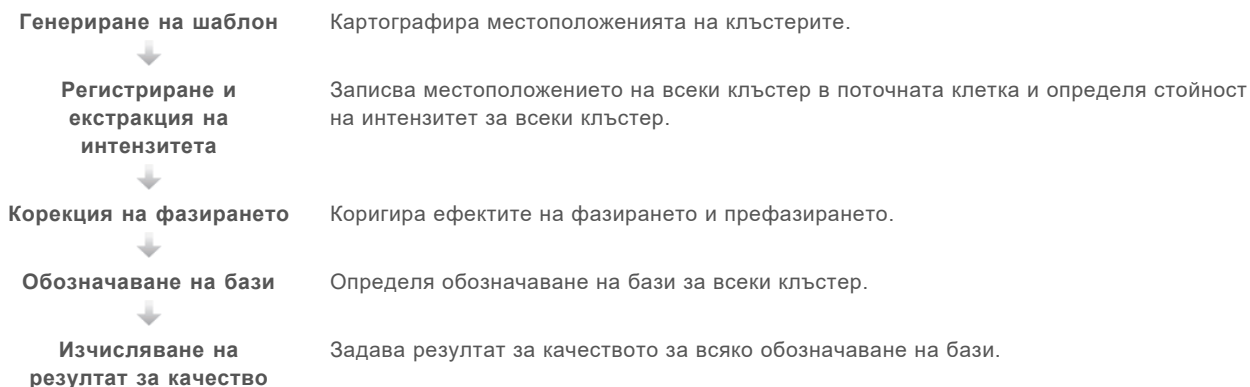
## Обработка на грешки

RTA2 създава файлове с хронология и ги записва в папката RTALogs. Грешките се записват във файл с грешки във файлов формат \*.tsv.

Следните файлове с хронология и грешки се прехвърлят към крайното изходно местоположение в края на обработката:

- ▶ \*GlobalLog\*.tsv обобщава важните събития от изпълняването на дейността.
- ▶ \*LaneNLog\*.tsv изброява събития от обработката за всяка линия.
- ▶ \*Error\*.tsv изброява грешките, настъпили по време на изпълняване на дейност.
- ▶ \*WarningLog\*.tsv изброява предупрежденията, настъпили по време на изпълняване на дейност.

## Работен процес на анализа в реално време



## Генериране на шаблон

Първата стъпка в работния процес на RTA е генериране на шаблон, който определя позицията на всеки клъстер в плочка посредством координатите X и Y.

Генерирането на шаблон изисква данни от изображение от първите 5 цикъла на изпълняването на дейност. След като последният цикъл на шаблон за плочка е изобразен, шаблонът се генерира.

**ЗАБЕЛЕЖКА** За да се открие клъстер по време на генерирането на шаблон, трябва да има поне 1 база, различна от G, в първите **5** цикъла. За всички индексни поредици RTA2 изисква поне 1 база, различна от G, в първите **2** цикъла.

Шаблонът се използва като референция за следващата стъпка за регистриране и екстракция на интензитета. Позициите на клъстерите за цялата поточна клетка са записани във файлове за местоположение на клъстерите (\*.locs), по 1 файл за всяка линия.

## Регистриране и екстракция на интензитета

Регистрирането и екстракцията на интензитета започват след генерирането на шаблон.

- ▶ Регистрирането подравнява изображенията, създадени през всеки следващ цикъл на изобразяване, спрямо шаблона.

- ▶ Екстракцията на интензитета определя стойността на интензитета за всеки клъстер в шаблона за дадено изображение.

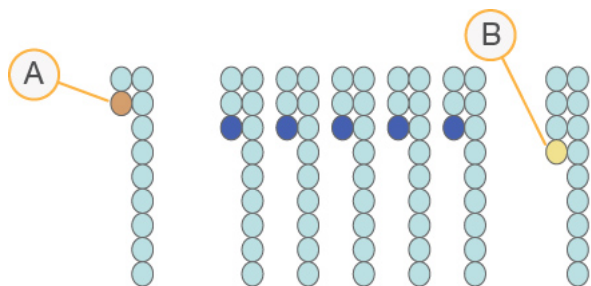
Ако регистрацията е неуспешна за което и да е изображение в цикъла, не се генерират обозначавания на бази за тази плочка в този цикъл.

## Корекция на фазирането

По време на реакцията на секвениране всяка верига ДНК в даден клъстер се увеличава с по 1 база на цикъл. Фазирането и префазирането настъпват, когато дадена верига излезе извън фазата с текущия цикъл на внедряване.

- ▶ Фазирането настъпва, когато дадена база изостане.
- ▶ Префазирането настъпва, когато дадена база прескочи напред.

Фигура 29 Фазиране и префазиране



- A Разчитане с база, която се фазира
- B Разчитане с база, която се префазира.

RTA2 коригира ефектите от фазирането и префазирането, което увеличава максимално качеството на данните във всеки цикъл в хода на изпълняването на дейност.

## Обозначаване на бази

Обозначаването на бази определя база (A, C, G или T) за всеки клъстер на дадена плочка в определен цикъл. Инструментът NextSeq 550Dx използва 2-канално секвениране, което изисква само 2 изображения за кодиране на данните за 4 ДНК бази, 1 от червения канал и 1 от зеления канал.

Интензитетите, екстрахирани от изображение, сравнени с друго изображение, водят до 4 различни популации, всяка от които отговаря на даден нуклеотид. Процесът по обозначаване на бази определя към коя популация принадлежи всеки клъстер.



Фигура 30 Визуализиране на интензитетите на клъстерите

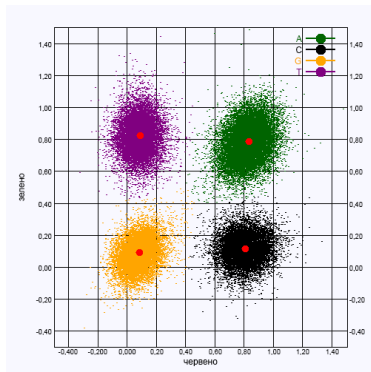


Таблица 1 Обозначаване на бази в 2-канално секвениране

База	Червен канал	Зелен канал	Резултат
A	1 (on) (вкл.)	1 (on) (вкл.)	Клъстери, които показват интензитет както в червения, така и в зеления канали.
C	1 (on) (вкл.)	0 (off) (изкл.)	Клъстери, които показват интензитет само в червения канал.
G	0 (off) (изкл.)	0 (off) (изкл.)	Клъстери, които не показват интензитет на известно местоположение на клъстер.
T	0 (off) (изкл.)	1 (on) (вкл.)	Клъстери, които показват интензитет само в зеления канал.

## Клъстери, преминали филтрите

По време на изпълняването на дейност RTA2 филтрира необработените данни, за да премахне разчитания, които не отговарят на прага за качество на данните. Припокриващите се клъстери и тези с ниско качество се отстраняват.

За 2-канален анализ RTA2 използва популационно-базирана система за определяне на задържането на обозначаване на бази. Клъстерите преминават филтъра (PF), когато не повече от 1 обозначаване на бази в първите 25 цикъла е имало задържане от  $< 0,63$ . Клъстерите, които не преминават през филтъра, не се за обозначаване на бази.

## Съображения относно индексирането

Процесът за индексни разчитания на обозначаване на бази се различава от обозначаването на бази по време на други разчитания.

Индексните разчитания започват с най-малко 1 база, различна от G, в която и да е от първите 2 цикъла. Ако индексното разчитане започне с 2 обозначавания на бази от G, не се генерира сигнал за интензитет. За да се гарантира демултиплексна функционалност, сигналът трябва да е налице в някой от първите 2 цикъла.

За да се увеличи стабилността на демултиплексирането, изберете индексни секвенции, които предоставят сигнал в поне 1 канал, за предпочитане в двата канала, за всеки цикъл. Чрез следването на настоящите насоки се избягват индексни комбинации, които водят до единствено G бази във всеки цикъл.

- ▶ Червен канал – A или C
- ▶ Зелен канал – A или T

Този процес на обозначаване на бази обезпечава точността, когато се анализират малкоплексни проби.

## Изчисляване на резултат за качество

Резултатът за качество, известен още като резултат за Q, представлява предвиждане на вероятността за неправилно обозначаване с база. По-висок резултат за Q предполага, че обозначаването с база е с по-високо качество и по-голяма вероятност за коректност.

Резултатът за Q е съкратен начин за съобщаване на вероятности за малки грешки. Резултатите за качество се представят като Q(X), където X е резултатът. В таблицата по-долу е показана връзката между резултата за качество и вероятността за грешка.

Резултат за качество Q(X)	Вероятност за грешка
Q40	0,0001 (1 на 10 000)
Q30	0,001 (1 на 1000)
<b>Q20</b>	0,01 (1 на 100)
Q10	0,1 (1 на 10)

**ЗАБЕЛЕЖКА** Изчисляването на резултата за качество се базира на модифицирана версия на алгоритъма на Phred.

Изчисляването на резултата за качество става чрез набор от предиктори за всяко обозначаване с база, след което стойностите от предиктора се използват за проверка на резултата за Q в таблица за качество. Таблиците за качество са създадени, за да предоставят оптимално точни предвиждания за качеството за изпълнявания на дейности, генерирани от специфична конфигурация на платформата за секвениране и версията на химичните компоненти.

След определяне на резултата за качество резултатите се записват във файлове за обозначаване на бази (\*.bcl.bgzf).



# Приложение С Изходни файлове и папки

Изходни файлове за секвениране .....	63
Структура на изходната папка .....	66
Сканиране на изходни файлове .....	67
Структура на изходна папка за сканиране .....	67

## Изходни файлове за секвениране

Тип файл	Описание, местоположение и име на файла
Файлове за обозначаване на бази	Всяка анализирана плочка се включва във файл за обозначаване на бази, събрани в 1 файл за всяка линия и за всеки цикъл. Сборният файл съдържа обозначаването на бази и кодирания резултат за качеството за всеки клъстер за тази линия. <b>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]</b> – файловете са съхранени в 1 папка за всяка линия [Cycle].bcl.bgzf, където [Cycle] представлява номера на цикъла в 4 цифри. Файловете за обозначаване на бази се компресират чрез блокова gzip компресия.
Индексен файл за обозначаване на бази	За всяка линия двоичен индексен файл съдържа първоначалната информация на плочката в двойка стойности за всяка плочка, които са номер на плочката и брой на клъстерите за плочката. Индексните файлове за обозначаване на бази се създават, когато се създаде за първи път файл за обозначаване на бази за тази линия. <b>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]</b> – файловете са съхранени в 1 папка за всяка линия <b>s_[Lane].bci</b>
Файлове с местоположения на клъстерите	За всяка плочка координатите XY за всеки клъстер се събират в 1 файл с местоположение на клъстер за всяка линия. Файловете с местоположения на клъстерите са резултатът от генериране на шаблон. <b>Data\Intensities\L00[X]</b> – файловете са съхранени в 1 папка за всяка линия. <b>s_[lane].locs</b>
Файлове с филтри	Файлът с филтър посочва дали клъстер е преминал филтрите. Информацията за филтъра се събира в 1 файл с филтър за всяка линия и разчитане. Файловете с филтри се генерират в цикъл 26 чрез 25 цикъла с данни. <b>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]</b> – файловете са съхранени в 1 папка за всяка линия. <b>s_[lane].filter</b>
Файлове InterOp	Двоични отчетни файлове. InterOp файловете могат да бъдат актуализирани по време на изпълняването. папка <b>InterOp</b>
Файл за конфигурация на RTA	Създаден в началото на изпълняването на дейност, файлът за конфигурация на RTA включва настройки за изпълняването. <b>[Root folder], RTAConfiguration.xml</b>
Файл с информация за изпълняването	Посочва името на изпълняването, броя цикли за всяко разчитане, дали разчитането е индексно разчитане, както и броя откоси и плочки на поточната клетка. В началото на изпълняването се създава файл с информация за изпълняването. <b>[Root folder], RunInfo.xml</b>

## Плочки за поточна клетка

Плочките са малки зони на изобразяване в поточната клетка, определени като зрителното поле на камерата. Общият брой на плочките зависи от броя на линиите, откосите и повърхностите, които са изобразени на поточната клетка, както и от начина, по който камерите работят заедно, за да съберат изображенията. Поточните клетки с висок изходен поток имат общо 864 плочки.

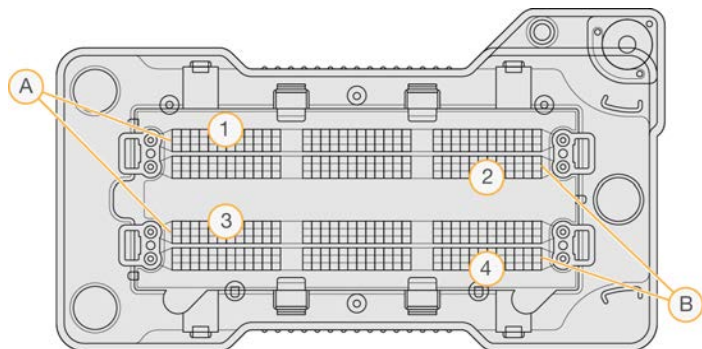
Таблица 2 Плочки за поточна клетка

Компонент на поточна клетка	Висок изходен поток	Описание
Линии	4	Линията е физически канал с определени входни и изходни портове.
Повърхности	2	Поточната клетка се изобразява на 2 повърхности – горна и долна. Горната повърхност на 1 плочка се изобразява, след това се изобразява долната повърхност на същата плочка, преди да се премине към следващата плочка.
Откоси на линия	3	Откос е колона от плочки в една линия.
Сегменти на камера	3	Инструментът използва 6 камери, за да изобрази поточната клетка в 3 сегмента за всяка линия.
Плочки на откос за всеки сегмент на камера	12	Плочката е зона на поточната клетка, която камерата вижда като 1 изображение.
Общ брой изобразени клетки	864	Общият брой на плочките е равен на линии × повърхности × откоси × сегменти на камера × плочки на откос за всеки сегмент.

## Номерирание на линии

Линии 1 и 3, наречени двойка линии А, се изобразяват едновременно. Линии 2 и 4, наречени двойка линии В, се изобразяват, когато завърши изобразяването на двойка линии А.

Фигура 31 Номерирание на линии

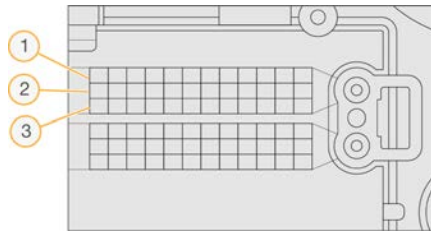


- A Двойка линии А – Линии 1 и 3
- B Двойка линии В – Линии 2 и 4

## Номерирание на откоси

Всяка линия се изобразява в 3 откоса. Откосите се номерират 1 – 3 за поточни клетки с висок изходен поток.

Фигура 32 Номериране на откоси

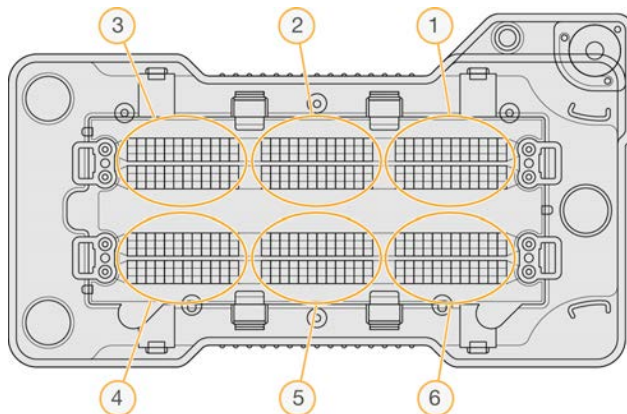


## Номериране на камери

Инструментът NextSeq 550Dx използва 6 камери за изобразяване на поточната клетка.

Камерите са номерирани 1 – 6. Камери 1 – 3, линия за изображение 1. Камери 4 – 6, линия за изображение 3. След като линии 1 и 3 са изобразени, модулът за изобразяване се премества по оста X към линии за изображение 2 и 4.

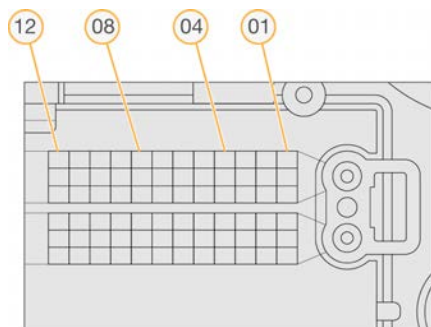
Фигура 33 Номериране на камери и сегменти (показана е поточна клетка с висок изходен поток)



## Номериране на плочки

Има 12 плочки във всеки откос на всеки сегмент на камерата. Плочките са номерирани 01 – 12, независимо от броя на откосите или сегментите на камерата, и са представени в 2 цифри.

Фигура 34 Номериране на плочки



Пълният номер на плочката включва 5 цифри, които представляват местоположението, както следва:

- ▶ **Surface** (Повърхност) – 1 представлява горната повърхност; 2 представлява долната повърхност
- ▶ **Swath** (Откос) – 1, 2 или 3
- ▶ **Camera** (Камера) – 1, 2, 3, 4, 5 или 6
- ▶ **Tile** (Плочка) – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 или 12

**Пример:** Номер на плочка 12508 указва горна повърхност, откос 2, камера 5 и плочка 8.

Пълният 5-цифрен номер на плочката се използва в името на файла на изображения на миниатюри и файлове за емпирично фазиране. За повече информация вижте [Изходни файлове за секвениране на страница 63](#).

## Структура на изходната папка

Работният софтуер генерира автоматично името на изходната папка.

### 📁 Data (Данни)

#### 📁 Intensities (Интензитети)

##### 📁 BaseCalls

📁 **L001** – файлове за обозначаване на бази за линия 1, агрегирани в 1 файл за цикъл.

📁 **L002** – файлове за обозначаване на бази за линия 2, агрегирани в 1 файл за цикъл.

📁 **L003** – файлове за обозначаване на бази за линия 3, агрегирани в 1 файл за цикъл.

📁 **L004** – файлове за обозначаване на бази за линия 4, агрегирани в 1 файл за цикъл.

📁 **L001** – агрегиран \*.locs файл за линия 1.

📁 **L002** – агрегиран \*.locs файл за линия 2.

📁 **L003** – агрегиран \*.locs файл за линия 3.

📁 **L004** – агрегиран \*.locs файл за линия 4.

### 📁 Images (Изображения)

#### 📁 Focus (Фокус)

📁 **L001** – фокусни изображения за линия 1.

📁 **L002** – фокусни изображения за линия 2.

📁 **L003** – фокусни изображения за линия 3.





📁 **L004** – фокусни изображения за линия 4.

📁 **InterOp** – двоични файлове.

📁 **Logs** (Хронологии) – файлове с хронологии, описващи работните стъпки.

📁 **Recipe** (Рецепта) – изпълняване на конкретен файл с рецепта, наименуван с идентификатора на касетата с реагенти.

 **RTALogs** – файлове с хронология, описващи стъпките на анализа.

-  RTAComplete.txt
-  RTAConfiguration.xml
-  RunInfo.xml
-  RunParameters.xml

## Сканиране на изходни файлове


Тип файл	Описание, местоположение и име на файла
GTC файлове	Файл за обозначаване на генотипа. GTC файл се генерира за всяка проба, сканирана на BeadChip. Името на файла включва баркода и сканираната проба. <b>[barcode]_[sample].gtc</b>
Файлове с изображения	Файловете с изображения се именуваат според сканираната област на BeadChip. Името включва баркода, пробата и секцията върху BeadChip, откоса и канала за изображения (червен или зелен). <b>[barcode]_[sample]_[section]_[swath]_[camera]_[tile]_[channel].jpg</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Barcode</b> (Баркод) – името на файла започва с баркода на BeadChip.</li> <li>• <b>Sample</b> (Проба) – област на BeadChip, която е номерирана като ред (R0X), от горе надолу и колона (C0X) от ляво надясно.</li> <li>• <b>Section</b> (Секция) – номериран ред в рамките на пробата.</li> <li>• <b>Swath</b> (Откос) – BeadChips се изобразяват като колекция от припокриващи се плочки. Следователно само 1 откос се използва за изобразяване на секцията.</li> <li>• <b>Camera</b> (Камера) – камерата, използвана за събиране на изображението.</li> <li>• <b>Tile</b> (Плочка) – зона на изобразяване, определена като зрителното поле на камерата.</li> <li>• <b>Channel</b> (Канал) – каналът е червен или зелен.</li> </ul>

## Структура на изходна папка за сканиране

 **[Date]\_[Instrument Name]\_[Scan#]\_[Barcode]**

 **[Баркод]**

 **Конфигурация**

 Effective.cfg – записва настройките за конфигурация, използвани по време на сканирането.

 **Focus** (Фокус) – съдържа файлове с изображения, използвани за фокусиране на сканирането.

 **Logs** (Записи) – съдържа файлове със записи, които изброяват всяка стъпка, извършена по време на сканирането.

 **PreScanDiagnosticFiles**

 **[Date\_Time] Сканиране на баркод**

 ProcessedBarcode.jpg – изображение на баркода на BeadChip.

 Диагностика за сканиране (файлове със записи)

 PreScanChecks.csv – записва резултатите от автоматичната проверка.

 GTC файлове – файлове за обозначаване на генотипа (1 файл на проба).



- ☐ IDAT файлове – [Незадължителни] файлове с данни за интензитета (2 файла на проба; по 1 на канал).
- ☐ Файлове с изображения – сканирайте изображения за всяка проба, секция, откос, камера, плочка и канал.
- ☐ [Barcode]\_sample\_metrics.csv
- ☐ [Barcode]\_section\_metrics.csv
- ☐ ScanParameters.xml

# Индекс

## В

BaseSpace 55  
вход 18  
BeadChip  
адаптер 6, 31  
анализ 1  
баркодът не може да се разчете 51  
видове 1  
зареждане 33  
неуспешна регистрация 51  
ориентация на баркод 31  
BlueFuse Multi софтуер 1

## D

Decode File Client 29  
достъп по BeadChip 31  
достъп по акаунт 30

## G

GTC файлове 67

## L

locs файлове 63

## R

RunInfo.xml 45, 63

## W

Windows  
изход 44

## A

адаптер  
BeadChip зареждане 33  
общ преглед 6  
ориентация на BeadChip 31  
актуализиране на софтуера 41  
алгоритъм на Phred 61  
анализ  
изходни файлове 63

анализ, първичен  
чистота на сигнал 60  
аудио 12

## Б

бутон за захранване 5, 11

## В

вероятност за грешка 61  
входни файлове, сканиране  
кълъстерни файлове 29, 52  
манифестни файлове 29, 52  
папка DMAP 29  
папка DMAP, изтегляне 30  
въздушен филтър 4, 40

## Г

генериране на кълъстери 15, 26  
генериране на шаблон 58  
грешки в проверката преди изпълняване на  
дейност 46  
грешки и предупреждения 4, 58

## Д

двойки линии 64  
документация 2, 73  
дължина на разчитане 15-16

## Е

емпирично фазиране 59

## И

известия за състояние 4  
изключване на инструмента 43  
измервания  
означаване на бази 59  
измиване  
автоматично 27  
компоненти за измиване 37  
консумативи, които се набавят от  
потребителя 37  
ръчно измиване 37

- измиване на инструмент 37
- измиване след изпълняване 27
- изобразяване, 2-канално секвениране 59
- изразходвани реагенти
  - изхвърляне 20, 40
  - пълнен контейнер 49
- изходни файлове 63
- изходни файлове, секвениране 63
- изходни файлове, сканиране
  - GTC, IDAT 67
- икони
  - грешки и предупреждения 4
  - състояние 4
- инструмент
  - аватар 12
  - бутон за запазване 5
  - изключване 43
  - индикатори за режим 12
  - настройки за конфигурация 54
  - псевдоним 12
  - рестартиране 43
  - стартиране 11
- интензитети 59

## К

- касета с буфер 9, 21
- касета с реагенти
  - общ преглед 8
  - резервоар № 28 38
  - резервоар № 6 22
- клавиатура 12
- кълъстери, преминали филтър 60
- компоненти
  - лента за състояние 3
  - отделение за буфер 3
  - отделение за изобразяване 3
  - отделение за реагенти 3
- консумативи 6
  - изпълняване на секвениране 13
  - касета с буфер 9
  - касета с реагенти 8
  - консумативи за измиване 37-38
  - лабораторен клас вода 14
  - поддръжка на инструмента 14
  - поточна клетка 7
- консумативи, доставяни от потребителя 13-14
- контролен софтуер 4
- Конфигурация 55
- Конфигурация на BaseSpace 23

## Л

- лента за състояние 3

## М

- местоположение на кълъстер
  - генериране 58
  - файлове 63
- местоположение на папката 24

## Н

- насоки за лабораторен клас вода 14
- настройване на изпълняване, разширена опция 13
- настройки за конфигурация 54
- настройки на системата 12
- натриев хипохлорит, измиване 38
- номериране на камери 65
- номериране на линии 64
- номериране на откоси 64
- номериране на плочки 65

## О

- обозначаване на бази
  - съображения относно индексирането 60
- означаване на бази 59
- онлайн обучение 2
- отделение за буфер 3
- отделение за изобразяване 3
- отделение за реагенти 3
- отстраняване на неизправности
  - замяна на манифестни и кълъстерни файлове 52
  - контейнер за изразходвани реагенти 49
  - не може да се разчете баркодът на BeadChip 51
  - неуспешна регистрация при сканиране 51
  - показатели с ниско качество 49
  - проверка преди изпълняване на дейност 46
  - специфични за изпълняването файлове 45
  - специфични за сканиране файлове 46

## П

- папка DMAP
  - Decode File Client 29
  - изтегляне 30
- параметри на изпълняване
  - редактиране на параметри 23
  - режим на BaseSpace 23
  - самостоятелен режим 24
- поддръжка за клиенти 73
- поддръжка на инструмента
  - консумативи 14
- поддръжка, превантивна 37
- показатели
  - цикли на интензитет 26
  - цикли на плътност на клъстери 26
- показатели за изпълняване на дейност 26
- помощ
  - документация 2
- помощ, техническа 73
- поточна клетка
  - двойки линии 7
  - изобразяване 65
  - номер на откос 64
  - номериране на линии 64
  - номериране на плочки 65
  - общ преглед 7
  - опаковка 17
  - плочки 63
  - почистване 17
  - рехибридизация 49
  - щифтове за подравняване 18
- потребителско име и парола 11
- потребителско име и парола за системата 11
- почистване на консумативи 13
- превключвател на хранването 11
- прехвърляне на данни
  - сканиране на данни 35
  - универсална услуга за копиране 27
- примерна рехибридизация 49
- проверка преди изпълняване на дейност 25, 34
- продължителност на изпълняване 15-16
- профилактика 37

## Р

- работен поток
  - BeadChip 33

- Вход в BaseSpace 18
  - разширена опция за зареждане 13
  - самостоятелен режим 24
- работен процес
  - изразходвани реагенти 20
  - касета с буфер 21
  - касета с реагенти 21
  - натриев хипохлорит 38
  - общ преглед 16, 30
  - подготвяне на поточна клетка 17
  - показатели за изпълняване на дейност 26
  - поточна клетка 18
  - проверка преди изпълняване на дейност 25, 34
  - продължителност на изпълняването 15-16
  - режим на BaseSpace 23
  - секвениране 58
  - съображения относно индексирането 60
- работен процес за секвениране 16, 58
- разширена опция за зареждане 13
- реагенти
  - комплектовани 6
  - правилно изхвърляне 21
- режим RUO 12
- резултати за качество 61
- рестартиране 43
  - инструмент 43
- рестартиране до изследователски режим 12
- рехибридизация, Разчитане 1 49
- РЧИД проследяване 6

## С

- самостоятелна конфигурация 24
- секвениране
  - въведение 15
  - консумативи, доставяни от потребителя 13
- сканиране на изходни файлове GTC, IDAT 67
- софтуер
  - автоматична актуализация 42
  - анализ на изображение, обозначаване на бази 4
  - в инструмент 4
  - инициализиране 11
  - настройки за конфигурация 54
  - продължителност на изпълняване 15-16

- ръчна актуализация 42
- софтуер Real-Time Analysis
  - резултати 63
- софтуер за анализ в реално време 4
  - работен процес 58
  - фазиране 59
- съвместимост
  - поточна клетка, касета с реагенти 6
  - проследяване на РЧИД 8
  - РЧИД проследяване 6
- съображения относно индексирането 60
- Съобщение за грешка в RAID 53

## Т

- техническа помощ 73

## У

- Универсална услуга за копиране 27
- управление на инструмент
  - изключване 43-44
- Услуга за проактивен мониторинг на Illumina 55

## Ф

- фазиране, префазиране 59
- файлове InterOp 45, 63
- файлове за обозначаване на бази 63
- файлове с филтър 63
- филтър за задържане 60
- филтър за преминаване (PF) 60
- формаמיד, позиция 6 22

## Ц

- цикли в едно разчитане 15

# Техническа помощ

За техническа помощ се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina.

Уеб сайт: [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
Имейл: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Телефонни номера на отдела за техническа поддръжка на Illumina

Регион	Безплатен	Регионален
Северна Америка	+1.800.809.4566	
Австралия	+1.800.775.688	
Австрия	+43 800006249	+43 19286540
Белгия	+32 80077160	+32 34002973
Германия	+49 8001014940	+49 8938035677
Дания	+45 80820183	+45 89871156
Ирландия	+353 1800936608	+353 016950506
Испания	+34 911899417	+34 800300143
Италия	+39 800985513	+39 236003759
Китай	400.066.5835	
Нидерландия	+31 8000222493	+31 207132960
Нова Зеландия	0800.451.650	
Норвегия	+47 800 16836	+47 21939693
Обединеното кралство	+44 8000126019	+44 2073057197
Сингапур	+1.800.579.2745	
Тайван, Китай	00806651752	
Финландия	+358 800918363	+358 974790110
Франция	+33 805102193	+33 170770446
Хонконг, Китай	800960230	
Швейцария	+41 565800000	+41 800200442
Швеция	+46 850619671	+46 200883979
Южна Корея	+82 80 234 5300	
Япония	0800.111.5011	
Други държави	+44.1799.534000	

Информационни листове за безопасност (ИЛБ) – налични на уеб сайта на Illumina на адрес [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Документация на продукта – налична за изтегляне от [support.illumina.com](http://support.illumina.com).





Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122, САЩ  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (извън Северна Америка)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

Само за изследователска употреба.  
Не е предназначено за употреба в диагностични процедури.  
© 2021 Illumina, Inc. Всички права запазени.

illumina®