

illumina®

NextSeq 550Dx

Справочное руководство по прибору

СОБСТВЕННОСТЬ КОМПАНИИ ILLUMINA

Документ № 1000000009513, версия 08

Май 2023 г.

ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO.

Настоящий документ и его содержание являются собственностью компании Illumina, Inc. и ее аффилированных лиц (Illumina) и предназначены для использования исключительно в рамках договора заказчиком при эксплуатации изделия (-й), описанного (-ых) в настоящем документе, и ни для какой иной цели. Настоящий документ и его содержание не подлежат использованию или распространению не по назначению и/или передаче, раскрытию или воспроизведению каким-либо способом без предварительного письменного согласия компании Illumina. Настоящим документом компания Illumina не передает никаких лицензий на свои патенты, товарные знаки, авторские права или права, признаваемые общим правом, или аналогичные права третьих лиц.

Инструкции, изложенные в настоящем документе, должны строго и точно соблюдаться квалифицированным и прошедшим соответствующее обучение персоналом для обеспечения правильной и безопасной эксплуатации изделий, описанных в настоящем документе. Перед началом работы с оборудованием пользователь обязан тщательно изучить данный документ.

НЕВЫПОЛНЕНИЕ ТРЕБОВАНИЙ ПО ПОЛНОМУ ПРОЧТЕНИЮ И ТОЧНОМУ ВЫПОЛНЕНИЮ ВСЕХ ИНСТРУКЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В НАСТОЯЩЕМ ДОКУМЕНТЕ, МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ИЗДЕЛИЙ, ТРАВМАМ (ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ ИЛИ ИНЫХ ЛИЦ) И ПОВРЕЖДЕНИЮ ИМУЩЕСТВА И ПРИВЕДЕТ К ОТМЕНЕ ЛЮБЫХ ГАРАНТИЙНЫХ ОБЯЗАТЕЛЬСТВ, ПРИМЕНИМЫХ К ИЗДЕЛИЯМ.

КОМПАНИЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕТ НИКАКОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТИ, ВОЗНИКАЮЩЕЙ ВСЛЕДСТВИЕ НЕНАДЛЕЖАЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИЗДЕЛИЙ, ОПИСАННЫХ В НАСТОЯЩЕМ ДОКУМЕНТЕ (ВКЛЮЧАЯ ИХ ЧАСТИ ИЛИ ЧАСТИ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ).

© 2023 Illumina, Inc. Все права защищены.

Все товарные знаки являются собственностью компании Illumina, Inc. или их соответствующих владельцев. Информацию о конкретных товарных знаках см. на веб-сайте www.illumina.com/company/legal.html.

История изменений

Документ	Дата	Описание изменений
Документ № 1000000009513, версия 08	Май 2023	Добавлена ссылка на дополнительный сервер Illumina DRAGEN для NextSeq 550Dx с Illumina Run Manager. Обновлен каталожный номер воздушного фильтра. Обновлен предел стабильности для картриджа с реагентом.
Документ № 1000000009513, версия 07	Октябрь 2021 г.	В комплект входят запасные фильтры воздушного фильтра отсека 3. Изменен предел стабильности картриджа с реагентом. В раздел «Ручная промывка» добавлен новый картридж для промывки буфера. Раздел «Проверка системы» обновлен с целью включения инструкций по учетным данным пользователя LRM. Обновлен раздел «Проверки для циклов секвенирования».
Документ № 1000000009513, версия 06	Август 2021 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя в ЕС.

Документ	Дата	Описание изменений
Документ № 1000000009513, версия 05	Ноябрь 2020 г.	Обновлены требования к имени пользователя и паролю для служебных учетных записей. Обновлена строка состояния с добавлением дополнительной информации о цвете. Создан новый раздел под названием «Установить папку выводных данных по умолчанию». Добавлены примеры путей к выходным папкам. Добавлена информация об устранении ошибок сетевого хранения. Добавлена информация о сроке действия пароля.
Документ № 1000000009513, версия 04	Апрель 2020 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя в ЕС. Обновлен адрес спонсора в Австралии.
Документ № 1000000009513, версия 03	Март 2019 г.	Добавлена информация о наборах реагентов версии 2.5 (75 циклов).

Документ	Дата	Описание изменений
Документ № 1000000009513, версия 02	Январь 2019 г.	<p>Добавлена информация о наборах реагентов версии 2.5 (300 циклов).</p> <p>Обновлен список дополнительных ресурсов. Отмечено, что инструкции для Local Run Manager в этом руководстве предназначены для использования в диагностическом режиме прибора.</p> <p>Добавлены инструкции по перезагрузке из режима исследования в режим диагностики на основе версии программного обеспечения NextSeq Control Software (NCS), которая находится на приводах режима исследования.</p> <p>Исправлена кнопка Shut Down Options (Параметры выключения) на кнопку Reboot/Shutdown (Перезагрузка/Выключение).</p> <p>Процедура выхода в Windows исправлена путем добавления шага для выбора Reboot/Shutdown (Перезагрузка/Выключение).</p>
Документ № 1000000009513, версия 01	Март 2018 г.	<p>Добавлена информация о службе мониторинга компании Illumina Proactive в раздел «Пользовательские параметры системы».</p> <p>Обновлены инструкции в разделе «Замена воздушного фильтра».</p> <p>Ссылки на файлы распознавания оснований изменены с *.bcl на *.bcl.bgzf, чтобы уточнить, что файлы сжаты.</p> <p>Обновлены инструкции по устранению ошибки проверки системы требуемого программного обеспечения.</p> <p>Добавлена нормативная маркировка Австралии.</p>
Документ № 1000000009513, версия 00	Ноябрь 2017 г.	Первый выпуск.

Содержание

История изменений	iii
Обзор	1
Отличительные особенности секвенирования	1
Дополнительные источники информации	1
Компоненты прибора	3
Обзор расходных материалов для секвенирования	5
Расходные материалы и дополнительное оборудование, предоставляемые пользователем	9
Программное обеспечение NextSeq 550Dx	11
Краткое описание программного обеспечения NextSeq 550Dx	11
Обзор Local Run Manager	14
Пароли пользователей	20
Начало работы	23
Запуск прибора	23
Пользовательские параметры системы	24
Опции перезагрузки и выключения	26
Секвенирование	29
Введение	29
Рабочий процесс секвенирования	30
Создание запуска	31
Подготовка картриджа с реагентами	31
Подготовка проточной ячейки	32
Подготовка библиотек к секвенированию	32
Загрузка библиотек на картридж с реагентами	32
Настройка запуска секвенирования	33
Отслеживание хода выполнения запуска	39
Просмотр данных о запуске и образце	41
Перезапуск или прекращение анализа	44
Автоматическая промывка после запуска	45
Техническое обслуживание	47
Введение	47
Профилактическое техническое обслуживание	47
Выполнение ручной промывки	47

Замена воздушного фильтра	51
Настройки и задачи администратора Local Run Manager	53
Введение	53
Управление пользователями	53
Параметры системы	56
Параметры модуля	58
Журналы регистрации событий	59
Поиск и устранение неисправностей	62
Введение	62
Проверка системы	62
Файлы поиска и устранения неисправностей	65
Исправление ошибок автоматической проверки	66
Контейнер с использованными реагентами заполнен	68
Сообщение об ошибке RAID	69
Ошибка сетевого хранения	69
Конфигурирование настроек системы	69
Анализ в режиме реального времени (Real-Time Analysis)	72
Обзор программного обеспечения в режиме реального времени (Real-Time Analysis)	72
Рабочий процесс анализа в режиме реального времени (Real-Time Analysis)	74
Файлы и папки выходных данных	78
Структура папки выходных данных	78
Файлы выходных данных секвенирования	80
Области сканирования поточной кюветы	81
Нумерация дорожек	82
Нумерация полос	82
Нумерация камер	83
Нумерация областей сканирования	83
Индекс	85
Техническая помощь	90

Обзор

Отличительные особенности секвенирования

- Высокопроизводительное секвенирование – прибор The NextSeq[™] 550Dx позволяет секвенировать библиотеки ДНК.
- Real-Time Analysis (RTA) – выполняет обработку изображений и распознавание оснований. Для получения дополнительной информации см. [Анализ в режиме реального времени \(Real-Time Analysis\) на странице 72](#).
- Возможность анализа данных на приборе – программные модули анализа Local Run Manager, указанные для запуска, могут анализировать данные запуска.
- Возможность анализа данных вне прибора – Illumina Run Manager позволяет проводить вторичный анализ данных при сопряжении Прибор NextSeq 550Dx с **дополнительным** Сервер Illumina DRAGEN для NextSeq 550Dx. Сервер Illumina DRAGEN для NextSeq 550Dx является дополнительным и доступен только в некоторых странах. Свяжитесь с представителем Illumina для получения информации о наличии в регионе.
- Двойная загрузка – Прибор NextSeq 550Dx содержит отдельные жесткие диски, поддерживающие режимы диагностики (Dx) и исследования (RUO).

Дополнительные источники информации

Следующую информацию можно загрузить с веб-сайта компании Illumina.

Ресурс	Описание
<i>NextSeq 550Dx Instrument Site Prep Guide (Руководство по подготовке центра для прибора NextSeq 550Dx) (документ № 1000000009869)</i>	Содержит требования к лабораторному пространству, электроснабжению и рекомендации по условиям окружающей среды.

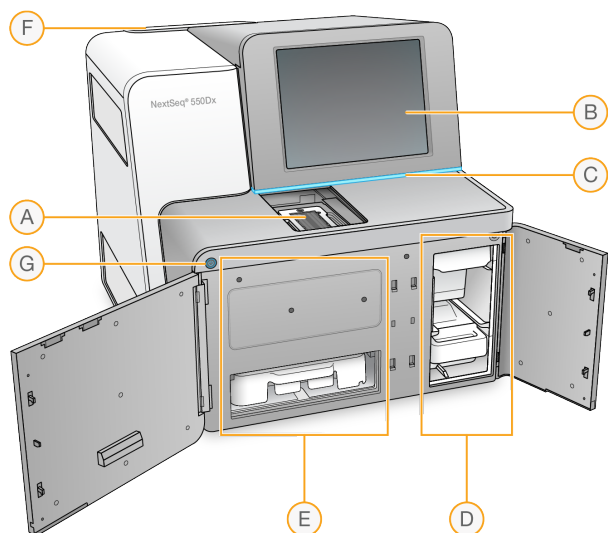
Ресурс	Описание
<p><i>NextSeq 550Dx Instrument Safety and Compliance Guide (Руководство по технике безопасности и нормативно-правовому соответствию для прибора NextSeq 550Dx) (документ № 1000000009868)</i></p>	<p>Содержит рекомендации по эксплуатационной безопасности, информацию о нормативно-правовом соответствии и маркировке прибора.</p>
<p><i>Руководство по нормативно-правовому соответствию считывающего устройства RFID (документ № 1000000030332)</i></p>	<p>Содержит информацию о считывающем устройстве радиочастотных идентификаторов (RFID, Radio Frequency Identification), установленном в приборе, сертификатах соответствия и рекомендации по технике безопасности.</p>
<p><i>NextSeq 550Dx Instrument Reference Guide (Справочное руководство к прибору NextSeq 550Dx) (документ № 1000000041922)</i></p>	<p>Содержит инструкции по эксплуатации, а также процедуры поиска и устранения неисправностей Для использования при работе Прибор NextSeq 550Dx в исследовательском режиме с программным обеспечением NextSeq Control Software (NCS) v3.0.</p>
<p><i>Руководство по эксплуатации системы секвенирования NextSeq 550 System (документ № 15069765)</i></p>	<p>Содержит инструкции по эксплуатации, а также процедуры поиска и устранения неисправностей Для использования Прибор NextSeq 550Dx в режиме исследования с программным обеспечением NextSeq Control Software (NCS) версии 4.0 или более поздней.</p>
<p><i>Руководство по программному обеспечению Illumina Run Manager для прибора NextSeq 550Dx (документ No 200025239)</i></p>	<p>Содержит информацию об использовании <u>дополнительных</u> Сервер Illumina DRAGEN для NextSeq 550Dx Illumina Run Manager и доступных параметров анализа.</p>

Посетите страницы поддержки прибора [Прибор NextSeq 550Dx](#) на веб-сайте компании Illumina, чтобы получить доступ к документации, загрузкам программного обеспечения, обучению онлайн и часто задаваемым вопросам.

Компоненты прибора

Система Прибор NextSeq 550Dx включает монитор с сенсорным экраном, индикатор состояния и четыре отсека.

Рисунок 1 Компоненты прибора



- A. Отсек визуализации – удерживает проточную ячейку во время запуска секвенирования.
- B. Монитор с сенсорным экраном – позволяет активировать встроенный конфигуратор и осуществлять настройку через интерфейс управляющего программного обеспечения.
- C. Строка состояния – указывает состояние прибора как «обработка» (синий), «требующее внимания» (оранжевый), «готовность к секвенированию» (зеленый), «инициализация» (чередующийся синий и белый), «еще не инициализированный» (белый) или «промывка» в течение следующих 24 часов (желтый).
- D. Буферный отсек – место размещения картриджа с буфером и контейнера с использованными реагентами.
- E. Отсек реагентов – место размещения картриджа с реагентами.
- F. Отсек воздушного фильтра – удерживает воздушный фильтр. Доступ к фильтру осуществляется с задней стороны прибора.
- G. Кнопка питания – включает и выключает питание прибора и его компьютера.

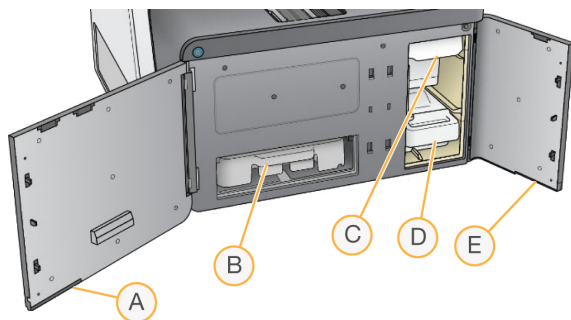
Отсек визуализации

Отсек визуализации содержит столик с тремя направляющими штырями для установки проточной ячейки. После загрузки проточной ячейки дверцы отсека визуализации автоматически закрываются, перемещая все компоненты в нужное положение.

Отсек реагентов и буферный отсек

Подготовка к выполнению запуска секвенирования на приборе Прибор NextSeq 550Dx требует наличия доступа к отсеку реагентов и буферному отсеку, чтобы загрузить в них расходные материалы для запуска и опорожнить контейнер для использованных реагентов.

Рисунок 2 Отсек реагентов и буферный отсек



- A. Дверца отсека реагентов – закрывает отсек реагентов на защелку, расположенную в правом нижнем углу дверцы. В отсеке реагентов находится картридж с реагентами.
- B. Картридж с реагентами – картридж с реагентами заранее заполнен одноразовыми расходными материалами.
- C. Картридж с буфером – картридж с буфером заранее заполнен одноразовыми расходными материалами.
- D. Контейнер с использованными реагентами – в нем использованные реагенты накапливаются для последующей утилизации после каждого запуска.
- E. Дверца буферного отсека – закрывает буферный отсек на защелку, расположенную в левом нижнем углу дверцы.

Отсек воздушного фильтра

Отделение воздушного фильтра удерживает воздушный фильтр и расположено в задней части прибора. Заменять воздушный фильтр следует раз в 90 дней. Информацию о замене фильтра см. в разделе [Замена воздушного фильтра на странице 51](#).

Кнопка питания

Кнопка питания на передней стороне прибора NextSeq 550Dx включает питание самого прибора и его компьютера. Кнопка питания выполняет следующие действия в зависимости от состояния питания прибора. По умолчанию прибор NextSeq 550Dx загружается для работы в режиме диагностики.

Информацию о первоначальном включении прибора см. в разделе [Запуск прибора на странице 23](#).

Информацию о выключении прибора см. в разделе [Выключение прибора на странице 27](#).

Состояние питания	Действие
Питание прибора отключено	Нажмите кнопку для включения питания.
Питание прибора включено	Нажмите кнопку для отключения питания. На экране появится диалоговое окно для подтверждения выключения прибора.
Питание прибора включено	Нажмите и удерживайте кнопку питания в течение 10 секунд, чтобы вызвать принудительное выключение прибора и его компьютера. Пользуйтесь этим методом только для выключения прибора в том случае, если он не отвечает на действия оператора.

ПРИМЕЧАНИЕ Выключение прибора во время запуска секвенирования немедленно останавливает запуск. Остановка запуска является окончательной. В этом случае повторно использовать расходные материалы для запуска будет невозможно, а данные секвенирования, полученные в ходе запуска, не сохраняются.

Обзор расходных материалов для секвенирования

Расходные материалы для выполнения секвенирования на приборе NextSeq 550Dx поставляются отдельно в наборах для одноразового использования. Каждый набор включает в себя одну проточную ячейку, картридж с реагентами, картридж с буфером и буферный раствор для разведения библиотеки. Для получения дополнительной информации см. листок-вкладыш к *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 версии 2.5 (300 циклов)* или *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 версии 2.5 (75 циклов)*.

Для проточной ячейки, картриджа с реагентами и картриджа с буфером используется RFID, целью которой является точное отслеживание расходных материалов и проверка совместимости.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Для NextSeq 550Dx High Output Reagent версии 2.5 требуется NOS 1.3 или более поздней версии, чтобы прибор мог принять картридж проточной ячейки версии 2.5. Завершите обновление программного обеспечения перед подготовкой образцов и расходных материалов, чтобы избежать потери реагентов и/или образцов.

ПРИМЕЧАНИЕ Расходные материалы для секвенирования следует хранить в оригинальных коробках до момента использования.

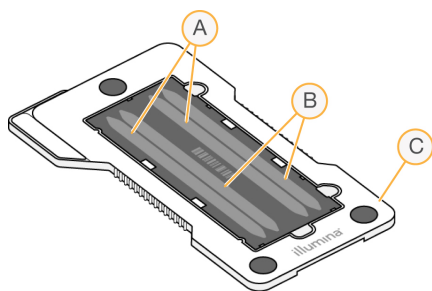
Хранение расходных материалов для секвенирования

Элемент (1 за запуск)	Требования к условиям хранения
Буфер для разведения библиотеки	от -25 °C до -15 °C
Картридж с реагентами	от -25 °C до -15 °C
Картридж с буфером	от 15 °C до 30 °C
Картридж проточной ячейки	От 2 до 8 °C*

* Картридж проточной ячейки NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 поставляется при температуре окружающей среды.

Обзор проточной ячейки

Рисунок 3 Картридж проточной ячейки



- A. Пара дорожек A – дорожки 1 и 3
- B. Пара дорожек B – дорожки 2 и 4
- C. Каркас картриджа проточной ячейки

Проточная ячейка – это субстрат на основе стекла, на котором происходит генерация кластеров и выполняется реакция секвенирования. Проточная ячейка заключена в картридж проточной ячейки.

Проточная ячейка содержит 4 дорожки, визуализируемые парами.

- Дорожки 1 и 3 (пара дорожек A) визуализируются одновременно.
- Дорожки 2 и 4 (пара дорожек B) визуализируются, когда завершится получение изображения пары дорожек A.

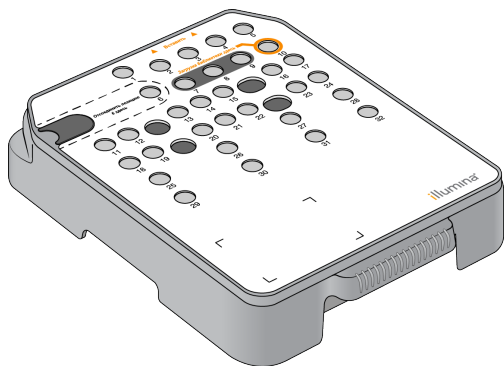
Хотя проточная ячейка содержит 4 дорожки, на проточной ячейке секвенируется только одна библиотека или набор объединенных библиотек. Библиотеки загружаются в картридж с реагентами из единого резервуара и автоматически переносятся в проточную ячейку на все 4 дорожки.

Каждая дорожка визуализируется в небольших областях визуализации, называемых областями сканирования. Для получения дополнительной информации см. [Области сканирования проточной кюветы на странице 81](#).

Обзор картриджа с реагентами

Картридж с реагентами представляет собой одноразовый расходный материал с меткой RFID, содержащий запаиваемые фольгой емкости, предварительно заполненные реагентами для кластеризации и секвенирования.

Рисунок 4 Картридж с реагентами



Картридж с реагентами содержит специальную емкость для загрузки подготовленных библиотек. После начала запуска библиотеки автоматически переносятся из емкости в проточную ячейку. Несколько емкостей зарезервированы для автоматической промывки после запуска. Промывочный раствор выкачивается из картриджа с буфером в зарезервированные емкости, прокачивается через систему и подается в контейнер для использованных реагентов.

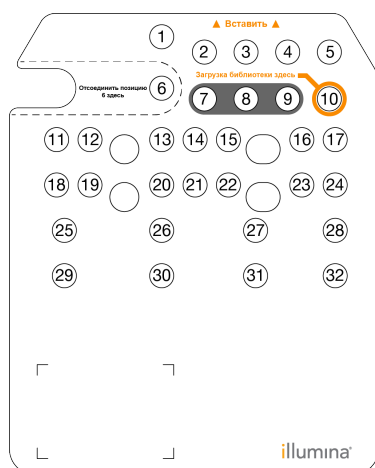


ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

Зарезервированные емкости

Рисунок 5 Пронумерованные емкости



Положение	Описание
7, 8 и 9	Подготовлены для дополнительных пользовательских праймеров
10	Загрузка библиотек

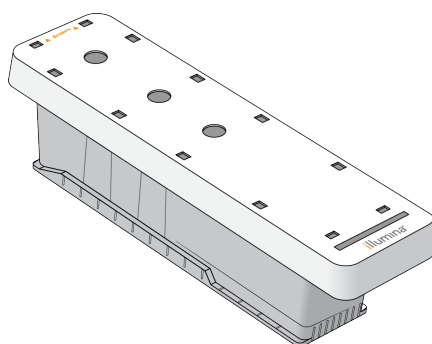
Съемная емкость в положении № 6

Предварительно заполненный картридж с реагентами в положении 6 содержит реагент для денатурирования, в состав которого входит формамид. Для обеспечения безопасной утилизации неиспользованного реагента после запуска секвенирования емкость в положении номер 6 является съемной. Для получения дополнительной информации см. [Удаление использованной емкости из положения № 6 на странице 37](#).

Обзор картриджа с буфером

Картридж с буфером представляет собой одноразовый расходный материал, содержащий три емкости, предварительно заполненные буферным и промывочным растворами. Содержимого картриджа с буфером хватит для секвенирования одной проточной ячейки.

Рисунок 6 Картридж с буфером



Обзор буфера для разведения библиотеки

Буфер для разведения библиотеки находится в комплекте для принадлежностей NextSeq 550Dx. Используйте буфер по мере необходимости для разведения библиотек в соответствии с инструкциями по подготовке библиотеки для достижения рекомендуемой плотности кластера.

Расходные материалы и дополнительное оборудование, предоставляемые пользователем

Для секвенирования, подготовки расходных материалов и технического обслуживания прибора используются следующие расходные материалы и оборудование.

Расходные материалы для секвенирования

Расходный материал	Поставщик	Назначение
Спиртовые салфетки, 70 %-ный изопропиловый спирт или Этиловый спирт, 70 %	VWR, № по каталогу 95041-714 (или эквивалент) Поставщик общелабораторного оборудования	Очистка проточной ячейки; общего назначения
Лабораторные салфетки из безворсового материала	VWR, № по каталогу 21905-026 (или эквивалент)	Очистка проточной ячейки; общего назначения

Расходные материалы для технического обслуживания, поиска и устранения неисправностей

Расходный материал	Поставщик	Назначение
NaOCl, 5 % (гипохлорит натрия)	Sigma-Aldrich, номер по каталогу 239305 или эквивалент лабораторного класса	Мытье прибора с использованием функции ручной промывки после запуска; разбавленный до 0,12 %
Твин 20	Sigma-Aldrich, номер по каталогу P7949	Мытье прибора с использованием функции ручной промывки после запуска; разбавленный до 0,05 %
Вода, ультрачистая	Поставщик общелабораторного оборудования	Мытье прибора (ручная промывка)
Воздушный фильтр	Illumina, номер по каталогу 20063988	Очистка воздуха, который поступает в прибор для охлаждения

Оборудование

Позиция	Источник
Морозильная камера, не требующая размораживания, с температурой от -25 до -15 °C	Поставщик общелабораторного оборудования
Холодильник, от 2 до 8 °C	Поставщик общелабораторного оборудования

Указания в отношении ультрачистой воды

При работе с прибором используйте только ультрачистую или деионизированную воду. Запрещается использовать водопроводную воду. Используйте воду только следующих классов или эквиваленты:

- деионизированная вода;
- очищенная вода Illumina PW1;
- вода с сопротивлением 18 МОм (мегаом);
- вода Milli-Q;
- вода Super-Q;
- вода для молекулярно-биологических исследований.

Программное обеспечение NextSeq 550Dx

Краткое описание программного обеспечения NextSeq 550Dx

Программное обеспечение, описанное в этой главе, используется для настройки, запуска и анализа данных из Прибор NextSeq 550Dx. Программное обеспечение прибора включает встроенные приложения, которые выполняют запуски секвенирования. Обновления программного обеспечения выполняются персоналом Illumina.

- Программное обеспечение Local Run Manager – встроенная программная технология для создания запуска и анализа результатов (вторичный анализ). Программное обеспечение также контролирует права пользователя. Для получения дополнительной информации см. [Обзор Local Run Manager на странице 14](#).
- Illumina Run Manager – программное решение для создания запуска и выполнения вторичного анализа данных вне прибора. Для получения дополнительной информации см. [Руководство по программному обеспечению Illumina Run Manager для прибора NextSeq 550Dx \(документ No 200025239\)](#).
- Программное обеспечение прибора NextSeq 550Dx Operating Software (NOS)– контролирует управление прибором
 - Программное обеспечение заранее установлено на NextSeq 550Dx и работает на приборе. Программное обеспечение NOS выполняет запуск в соответствии с параметрами, указанными в модуле программного обеспечения Local Run Manager.
 - Прежде чем вы приступите к выполнению запуска секвенирования, выберите запуск, который вы создали в модуле Local Run Manager. Программное обеспечение NOS проведет вас пошагово через процесс загрузки проточной ячейки и реагентов.
 - Во время запуска программное обеспечение управляет столиком проточной ячейки, распределяет реагенты, контролирует жидкостную систему, задает температуру, получает изображения кластеров на проточной ячейке и отображает визуальную сводку статистики качества. Выполнение запуска можно отслеживать в NOS или в Local Run Manager.
- Программное обеспечение Real-Time Analysis (RTA) – RTA выполняет анализ изображений и распознавание оснований, также называемое первичным анализом, во время запуска. Для получения дополнительной информации см. [Анализ в режиме реального времени \(Real-Time Analysis\) на странице 72](#).






Необходимый объем пространства на диске

Интегрированный компьютер прибора имеет пространство для хранения данных размером приблизительно 1,5 ТВ.

Перед началом запуска программное обеспечение проверяет доступное пространство на диске. Требуемый объем дискового пространства зависит от модуля анализа Local Run Manager. Если на диске не хватает места для запуска, появляется запрос программного обеспечения. В сообщении указывается, какой объем дискового пространства необходим для запуска и какой объем дискового пространства следует очистить для выполнения запуска. Если места недостаточно, удалите папки запусков, которые не нужно анализировать повторно в Local Run Manager. Для получения дополнительной информации см. [Удаление папки запуска на странице 20](#).

Значки состояния

Значок состояния в верхнем правом углу экрана интерфейса NOS сигнализирует о любых изменениях состояния во время настройки или выполнения запуска.



Значок состояния	Название состояния	Описание
	Нормальное состояние	Система в обычном состоянии.
	Обработка	Система выполняет обработку.
	Предупреждение	Появилось предупреждение. Предупреждения не останавливают запуск и не требуют обязательных действий перед продолжением работы.
	Ошибка	Возникла ошибка. Ошибки требуют принятия определенных мер до перехода к выполнению запуска.
	Требуется обслуживание	Появилось уведомление, требующее внимания оператора. Прочтите сообщение, чтобы получить дополнительную информацию.

При изменении состояния значок мигает для привлечения внимания. Выберите значок для просмотра описания состояния. Нажмите Acknowledge (Подтвердить), чтобы подтвердить получение сообщения, или Close (Закреть), чтобы закрыть диалоговое окно.

ПРИМЕЧАНИЕ При подтверждении сообщения значок сбрасывается, и сообщение становится серым. Сообщение по-прежнему отображается пользователю, если он выберет значок, но исчезнет после перезапуска NOS.

Значки навигационной панели

Значок «Свернуть NOS» находится в правом верхнем углу интерфейса рабочего программного обеспечения и виден только пользователям с правами администратора.

Значок доступа	Название значка	Описание
	Выход из системы	Выберите, чтобы выйти из программного обеспечения.
	Свернуть NOS	Нажмите, чтобы свернуть NOS и получить доступ к приложениям Windows и к папкам. Этот значок отображается только для пользователей с правами администратора.

Экран Home (Главная страница) NOS

На экране Home (Главная страница) NOS отображаются следующие четыре значка.

Добро пожаловать в NextSeqDx



- Последовательность – выберите, чтобы начать запуск секвенирования из заранее определенного списка запусков.
- Local Run Manager – выберите, чтобы запустить Local Run Manager для создания запуска, мониторинга состояния запуска, анализа данных секвенирования и просмотра результатов. См. [Обзор Local Run Manager на странице 14](#).

ПРИМЕЧАНИЕ При использовании **дополнительного** модуля Сервер Illumina DRAGEN для NextSeq 550Dx с Illumina Run Manager, отображается Illumina Run Manager. Для получения дополнительной информации о Illumina Run Manager обращайтесь к разделу [Руководство по программному обеспечению Illumina Run Manager для прибора NextSeq 550Dx \(документ No 200025239\)](#).

- Управление прибором – выберите для управления системными настройками, перезагрузки в режим исследования или выключения программного обеспечения прибора.
- Выполнить промывку – выберите для выполнения быстрой промывки или ручной промывки после запуска.

Обзор Local Run Manager

Программное обеспечение Local Run Manager представляет собой встроенное в прибор решение для создания запуска, мониторинга статуса, анализа данных и просмотра результатов.

Инструкции для Local Run Manager, приведенные в данном руководстве, касаются работы прибора в режиме диагностики. Приведенные в этом разделе сведения относятся к общим возможностям Local Run Manager. Некоторые функции могут работать не во всех модулях анализа. Для получения информации о конкретных функциях модуля см. соответствующее руководство Local Run Manager.

Local Run Manager имеет следующие функции:

- Работает в качестве службы на бортовом компьютере прибора и интегрируется с программным обеспечением прибора.
- Регистрирует образцы, подлежащие секвенированию.
- Предоставляет интерфейс для настройки запуска, подобранный для модуля анализа.
- Выполняет серию аналитических этапов, соответствующих выбранному аналитическому модулю.
- По завершении анализа отображаются показатели анализа в виде таблиц и графиков.

Просмотр Local Run Manager

Интерфейс Local Run Manager просматривается в NOS или через веб-браузер. Поддерживаемый веб-браузер – Chromium.

ПРИМЕЧАНИЕ Если вы используете неподдерживаемый браузер, загрузите поддерживаемый браузер, когда появится сообщение Confirm Unsupported Browser (Подтвердить неподдерживаемый браузер). Выберите «here» (здесь), чтобы загрузить поддерживаемую версию Chromium.

Просмотр на сетевом компьютере

Откройте веб-браузер Chromium на компьютере с доступом к той же сети, что и прибор, и подключитесь, используя IP-адрес или имя прибора. Например, <http://myinstrument>.

Просмотр на мониторе прибора

Для просмотра интерфейса Local Run Manager на мониторе прибора выберите один из следующих вариантов:

- На экране Home (Главная страница) NOS выберите Local Run Manager. Выберите X в правом верхнем углу, чтобы вернуться к NOS.
- Сверните NOS, а затем откройте веб-браузер Chromium на приборе. Введите <http://localhost> в адресной строке. Только администраторы могут свернуть NOS.

Секвенирование во время анализа

Вычислительные ресурсы системы NextSeq 550Dx специально предназначены либо для секвенирования, либо для анализа. Если требуется новый цикл секвенирования до завершения NextSeq 550Dx вторичного анализа предыдущего цикла, пользователь может отменить вторичный анализ изнутри Local Run Manager и затем начать новый цикл секвенирования.

Чтобы перезапустить анализ, выполняемый Local Run Manager, используйте функцию Requeue (Перезапустить) в интерфейсе Local Run Manager после завершения нового цикла секвенирования. В этот момент вторичный анализ начинается с самого начала. См. [Перезапуск или прекращение анализа на странице 44](#).

Local Run Manager Рабочий процесс



Обзор информационной панели

После входа в Local Run Manager программное обеспечение откроется информационная панель. С помощью этой панели вы можете выполнять следующие задачи:

- Отслеживать статус секвенирования и анализа.
- Сортировать и фильтровать запуски
- Создавать и редактировать запуски.

- Останавливать или перезапускать анализ
- Просмотреть результаты анализа
- Скрывать запуски.
- Закрепить запуски
- Управление папкой запуска


На информационной панели представлены все запуски, выполненные на приборе (по 10 запусков на страницу). Переходить по страницам можно с помощью стрелок навигации внизу списка.






Для каждого запуска в списке указаны название запуска, аналитический модуль, статус запуска и дата последнего изменения запуска. Для сортировки запусков выберите имена столбцов.















- Название/идентификатор запуска – содержит присвоенное название запуска и ссылку на страницы с результатами запуска. После завершения анализа имя папки анализа добавляется в столбец `run name` (имя запуска).
- Модуль – содержит аналитический модуль, используемый для этого запуска.
- Статус – содержит статус запуска и строку состояния выполнения. Для получения дополнительной информации см. [Возможные состояния запуска на странице 43](#).
- Дата последнего изменения – показывает дату и время последнего изменения запуска или сеанса анализа. По умолчанию страница Active Runs (Активные запуски) отсортирована по этому столбцу.



Значки Local Run Manager

Приведенные ниже значки используются в Local Run Manager для выполнения различных задач.

Обратите внимание, что в зависимости от размера экрана некоторые значки сжаты под значком  More Options (Дополнительные действия).

Значок	Название	Описание
	Копировать в буфер обмена	Копирует поле в буфер обмена компьютера.
	Удаление папки запуска	Удаляет данные из запуска, чтобы освободить место на жестком диске.
	Редактировать	Позволяет редактировать параметры запуска перед секвенированием.
	Настройка расположения папки выходных данных	Позволяет редактировать путь к папке запуска.
	Изменение данных пользователей	Позволяет редактировать пароли и пользователей.

Значок	Название	Описание
	Экспорт	Команда для экспорта элементов.
	Скрыть запуск	Перемещает запуск со страницы активных запусков на страницу скрытых запусков. Просматривайте скрытые запуски с помощью меню в нижнем правом углу страницы активных запусков.
	Заблокировано	Указывает на то, что запуск в стадии секвенирования или что другой пользователь редактирует запуск в другом сеансе браузера.
	Дополнительные действия	Открывает доступные параметры для записи на информационной панели. В зависимости от размера экрана точки могут выглядеть более круглыми.
	Закрепить	Закрепляет запуск на странице активных запусков, чтобы убедиться, что папка запуска не будет удалена.
	Восстановить запуск	Перемещает запуск со страницы скрытых запусков на страницу активных запусков.
	Переназначить папку запуска	Позволяет повторно связать запуск после восстановления удаленной папки запуска. Затем для запуска можно перезапустить анализ.
	Перезапуск	Повторно начинает анализ данных выбранного запуска.
	Запуск закреплен	Указывает на то, что запуск был привязан к странице активных запусков.
	Запуск удален	Указывает на удаленный запуск.
	Сохранить расположение папки выходных данных	Сохраняйте изменения в пути к выходной папке запуска.
	Поиск	Открывает поле для поиска названий запусков и идентификаторов образцов. В зависимости от размера экрана некоторые значки свернуты под значком More Options (Дополнительные действия)
	Показать фильтры	Показать фильтры.
	Остановить анализ	Останавливает анализ модулем Local Run Manager.
	Открепить	Открепить запуск.

Значок	Название	Описание
	Пользователь	Открывает меню учетной записи пользователя.
	Обнаружены предупреждения	Информацию о предупреждениях см. в тексте уведомления.

Страница Active Runs (Активные запуски)



Информационная панель открывается на странице Active Runs (Активные запуски). В сводной информации по активным запускам вверху страницы Active Runs (Активные запуски) представлено количество запусков в каждой из приведенных ниже категорий статусов запусков. Чтобы отфильтровать активные запуски по статусу, выберите число.


- **Готов** – означает, что запуск уже готов к секвенированию.
- **Выполняется** – означает, что в рамках запуска выполняется секвенирование или анализ данных.
- **Остановлено или ошибка** – означает, что анализ был остановлен вручную или в нем возникла ошибка.
- **Выполнено** – означает, что анализ успешно выполнен.
- **Всего** – означает общее число запусков на странице Active Runs (Активные запуски).

Фильтр запусков


1. Выберите категорию статуса запуска в сводной информации по активным запускам, чтобы отфильтровать страницу Active Runs (Активные запуски), как указано ниже.
 - **Готов** – в отфильтрованном списке отображаются только готовые к секвенированию запуски.
 - **Выполняется** – в отфильтрованном списке отображаются только выполняемые запуски.
 - **Остановлено или ошибка** – в отфильтрованном списке отображаются только остановленные запуски или неудачные запуски.
 - **Выполнен** – в отфильтрованном списке отображаются только выполненные запуски.
 - **Всего** – удаляет фильтры и отображает все активные запуски.

Скрытие и восстановление запусков



1. На странице Active Runs (Активные запуски) выберите значок More Options (Дополнительные действия) , а затем выберите  Hide (Скрыть).
2. Когда будет предложено подтвердить действие, выберите Hide (Скрыть). Запуск перемещен на страницу Hidden Runs (Скрытые запуски).
3. Чтобы показать страницу Hidden Runs (Скрытые запуски), нажмите стрелку раскрывающегося списка Active Runs (Активные запуски), а затем выберите Hidden Runs (Скрытые запуски).

4. На странице Hidden Runs (Скрытые запуски) выберите значок Restore (Восстановить) .
5. Когда будет предложено подтвердить действие, выберите Restore (Восстановить).
Запуск будет восстановлен на странице Active Runs (Активные запуски).
6. Чтобы показать страницу Active Runs (Активные запуски), нажмите стрелку раскрывающегося списка Hidden Runs (Скрытые запуски), а затем выберите Active Runs (Активные запуски).

Поиск запусков или образцов




1. В навигационной строке нажмите значок Search (Поиск) .
2. В поле поиска введите название запуска или идентификатор образца.
По мере ввода появится список возможных совпадений, который может облегчить поиск.
3. Выберите подходящий результат из списка или нажмите Enter (Ввод).
 - Если в поле поиска введено название запуска, откроется вкладка Run Overview (Обзор запуска).
 - Если в поле поиска введен идентификатор образца, откроется вкладка Samples and Results (Образцы и результаты).
Для получения дополнительной информации см. [Просмотр данных о запуске и образце на странице 41](#).

Редактирование запуска

1. На странице Active Runs (Активные запуски) выберите значок More Options (Дополнительные действия)  рядом с именем запуска, который вы хотите изменить.
2. Выберите  Edit (Редактировать).
3. Когда будет предложено подтвердить действие, выберите Continue (Продолжить).
4. Если нужно, отредактируйте параметры запуска.
5. По окончании нажмите Save Run (Сохранить запуск).
Дата Last Modified (Последнее изменение) для запуска обновляются на странице Active Runs (Активные запуски).





Закрепление запуска

Закрепленные запуски не могут быть удалены или скрыты. Невозможно прикрепить запуск, если запуск скрыт или его папка была удалена.

1. На странице Active Runs (Активные запуски) щелкните значок дополнительных действий  рядом с именем запуска.
2. Выберите  Pin (Закрепить).
Удалить папку запуска и скрыть отключены. «Закрепить» заменяется на  Unpin (Открепить).



Удаление папки запуска

С целью рационального использования дискового пространства папки запуска можно удалять вручную. Запуск не может быть закреплен и должен находиться в одном из следующих состояний:

- Секвенирование выполнено
 - Primary Analysis Complete (Первичный анализ выполнен)
 - Primary Analysis Unsuccessful (Первичный анализ не выполнен).
 - Sequencing Errored (Ошибка секвенирования)
 - Analysis Errored (Ошибка анализа)
 - Анализ выполнен
 - Sequencing Stopped (Секвенирование остановлено).
 - Analysis Stopped (Анализ остановлен).
1. На странице Active Runs (Активные запуски) щелкните значок дополнительных действий  рядом с именем запуска, который требуется удалить.
 2. Нажмите Delete Run Folder (Удалить папку запуска) .
Опция Delete Run Folder (Удалить папку запуска) заменена на Relink Run Folder (Переназначить папку запуска) . На запуске появляется значок Run Deleted (Запуск удален) .

Переназначение папки запуска

Только пользователь с правами администратора может повторно переназначать удаленные папки.

1. Скопируйте папку запуска в исходное расположение.
Если запуск не был сохранен в исходном расположении, то при попытке восстановления программа выдаст сообщение об ошибке.
2. Наведите курсор на значок дополнительных действий  рядом с запуском.
3. Нажмите  Relink Run Folder (Переназначить папку запуска).
4. Подтвердите, чтобы продолжить и возобновить запуск.
Запуск восстанавливается в том состоянии, в котором он находился до удаления папки запуска.

Пароли пользователей

Чтобы получить доступ к интерфейсу Local Run Manager, для входа в систему необходимо ввести действительное имя пользователя и пароль. Только администратор может присваивать учетные данные пользователя.

ПРИМЕЧАНИЕ Учетные записи пользователей привязаны к конкретному прибору. Пароли пользователей различаются на разных приборах.

Когда срок действия пароля истекает, в верхней части интерфейса появляется напоминание о сбросе пароля.

Моя учетная запись

В My Account (Моя учетная запись) можно просматривать свое имя пользователя, назначенную вам роль, свои разрешения, а также менять пароль.

После первого входа в систему вы можете изменить существующий пароль в любое время в окне My Account (Моя учетная запись).

Ваш текущий пароль выглядит зашифрованным. Поэтому вам необходимо знать свой текущий пароль, чтобы изменить его на новый. Забытые пароли требуют помощи системного администратора или администратора.



Состояния паролей


Ниже перечислены возможные состояния паролей.

- Временный пароль – когда администратор создает учетную запись пользователя, он присваивает новому пользователю временный пароль.
- Пароль пользователя – при первом входе на экране входа новый пользователь получает от системы предложение изменить временный пароль.
- Пароль – если пользователь забывает пароль, администратор может повторно присвоить временный пароль, который можно изменить при следующем входе в систему.
- Использованный пароль – пользователь не может использовать пароль повторно на протяжении пяти запусков смены паролей.
- Блокировка пользователя – количество попыток входа в систему с использованием недопустимого пароля настраивается администратором. Если пользователь превысит допустимое число попыток входа в систему, его учетная запись будет заблокирована. Разблокировать учетную запись или присвоить временный пароль может только администратор.

Изменение пароля

1. В навигационной строке выберите значок User (Пользователь)  рядом со своим именем.

ПРИМЕЧАНИЕ В зависимости от размера экрана, на котором отображается программа, значок User (Пользователь)  может располагаться под More Options  (Дополнительные действия) в уменьшенном виде.

2. В раскрывающемся списке выберите My Account (Моя учетная запись).
3. Выберите значок Edit (Редактировать)  в разделе Пароль.
4. В поле Old Password (Старый пароль) введите свой старый пароль.

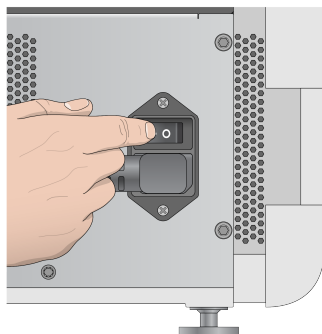
5. В поле New Password (Новый пароль) введите новый пароль.
6. В поле Confirm New Password (Подтвердить новый пароль) повторно введите новый пароль.
7. Нажмите Save (Сохранить).

Начало работы

Запуск прибора

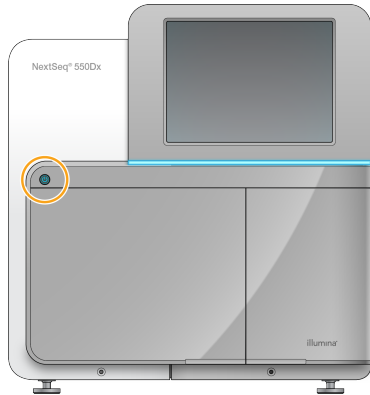
Переведите переключатель питания в положение I (Вкл.).

Рисунок 7 Переключатель питания расположен на задней панели прибора



1. Нажмите кнопку питания над отсеком реагентов. Кнопка питания включает питание прибора и запускает встроенный компьютер и программное обеспечение прибора.

Рисунок 8 Кнопка питания расположена на передней панели прибора



2. Дождитесь окончания загрузки операционной системы.
Программное обеспечение прибора NextSeq 550Dx Operating Software (NOS) автоматически запускает и инициализирует систему. По завершении шага инициализации откроется экран Home (Главная страница).
3. Введите имя пользователя программного обеспечения Local Run Manager и пароль.
Информацию о паролях см. в разделе [Пароли пользователей на странице 20](#). Для получения информации о настройке учетной записи в локальном диспетчере запуска Local Run Manager см. раздел [Введение на странице 53](#).

4. Нажмите Login (Вход в систему).

Откроется экран Home (Главная страница) со значками Sequence (Секвенирование), Local Run Manager, Manage Instrument (Управление прибором) и Perform Wash (Выполнение промывки).

Индикаторы режима прибора

По умолчанию NextSeq 550Dx использует режим диагностики. На экране NOS отображается режим прибора.

Режим	Экран Home (Главная страница)	Цветная полоса	Ориентация значка состояния
Режим диагностики	Добро пожаловать в NextSeqDx	Синий	Горизонтальная
Режим исследования	Добро пожаловать в NextSeq	Оранжевая	Вертикальная

Пользовательские параметры системы

Операционное программное обеспечение включает настраиваемые параметры для идентификации прибора, настройки входа, настройки звука и расположения папки выходных данных. Для изменения настроек конфигурации сети см. раздел [Конфигурирование настроек системы на странице 69](#).

- Параметры настройки:
- Настройки идентификатора прибора (аватар и пользовательское название).
- Настройка режима ввода и звукового индикатора
- Настройка параметров запуска
- Параметры выключения
- Настройка запуска прибора после проверки перед запуском
- Выбор передачи данных о работе прибора в компанию Illumina.
- Назначение папки выходных данных запуска

Настройки аватара и пользовательского названия прибора

1. На экране Home (Главная страница) выберите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Выберите System Customization (Настройка системы).
3. Чтобы назначить предпочтительное изображение (аватар) для прибора, нажмите Browse (Обзор) и перейдите к изображению.
4. В поле Nick Name (Пользовательское название прибора) введите желаемое название для прибора.
5. Нажмите Save (Сохранить), чтобы сохранить настройки и перейти к следующему экрану. Изображение и название будут отображаться в левом верхнем углу каждого экрана.

Настройка опции клавиатуры и звукового индикатора

1. На экране Home (Главная страница) выберите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Выберите System Customization (Настройка системы).
3. Установите флажок Use on-screen keyboard (Использовать экранную клавиатуру), чтобы активировать экранную клавиатуру для ввода данных в прибор.
4. Установите флажок Play audio (Воспроизводить звук), чтобы включить звуковую индикацию для следующих событий:
 - инициализация прибора;
 - начало запуска;
 - возникновение определенных ошибок;
 - необходимость вмешательства пользователя;
 - окончание запуска.
5. Нажмите Save (Сохранить), чтобы сохранить настройки и перейти к следующему экрану.

Задать данные пуска запуска и производительности прибора

1. На экране Home (Главная страница) выберите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Выберите System Customization (Настройка системы).
3. [Необязательно] Установите флажок Automatically start run after pre-run check (Автоматическое начало запуска после проверки перед запуском), чтобы начать секвенирование автоматически после успешной проверки перед запуском.
4. Выберите Send Instrument Performance Data to Illumina (Отправить данные о работе прибора в компанию Illumina), чтобы включить службу мониторинга Illumina Proactive. Название настройки в интерфейсе программного обеспечения может отличаться от названия в настоящем руководстве, в зависимости от используемой версии NOS.

При включении этой настройки в Illumina будут отправляться данные о работе прибора. Эти данные помогают компании Illumina в поиске и устранении неисправностей и в распознавании потенциальных сбоев, позволяя выполнять профилактическое техническое обслуживание и увеличивать продолжительность бесперебойной работы прибора. Дополнительную информацию о преимуществах этой службы см. в документе *Illumina Proactive Technical Note (Техническая записка о службе мониторинга Illumina Proactive)* (документ № 1000000052503).

Данная служба:

- не отправляет данные секвенирования;
- требует подключения прибора к сети с доступом в Интернет;
- по умолчанию выключена. Чтобы начать использование этой службы, снимите флажок Send Instrument Performance Data to Illumina (Отправить данные о работе прибора в компанию Illumina).

5. Выберите Save (Сохранить), чтобы сохранить настройки и вернуться к экрану Manage Instrument (Управление прибором).

Настройка папки выходных данных по умолчанию

Учетной записи Windows в Local Run Manager и учетной записи Windows в операционной системе прибора требуется право доступа к папке выходных данных для прочтения и записи данных. Для проверки разрешений обратитесь к ИТ-администратору. Чтобы настроить учетную запись Windows в Local Run Manager, см. раздел [Настройка учетных записей служб системы на странице 58](#).

1. На экране Home (Главная страница) выберите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Выберите System Customization (Настройка системы).
3. Выберите Browse (Обзор), чтобы перейти к расположению папки.
4. В папке выходных данных введите полный путь Universal Naming Convention (UNC-путь) к файлам.
 - UNC-путь включает две обратные косые черты, имя сервера и имя каталога, но не включает буквенное обозначение подключенного сетевого диска.
 - Пути к папке выходных данных первого уровня вложенности должны содержать завершающую обратную косую черту (например \\имя сервера\директория1\).
 - Пути к папке выходных данных второго уровня вложенности или выше не требуют завершающей обратной косой черты (например, \\имя сервера\директория1\директория2).
 - При указании пути к подключенному сетевому диску система выдаст ошибку. Не используйте их.
5. Выберите Save (Сохранить), чтобы сохранить настройки и вернуться к экрану Manage Instrument (Управление прибором).

Опции перезагрузки и выключения

Доступ к следующим функциям можно получить, нажав кнопку Reboot / Shutdown (Перезагрузка/Выключение):

- Reboot to RUO (Перезагрузка в режим RUO) – прибор запускается в режиме исследования.
- Перезапустить – прибор запускается в режиме диагностики.
- Reboot to Dx from RUO (Перезагрузка в режим Dx из RUO) – прибор запускается в режиме диагностики.
- Выключение – при повторном включении прибор открывается в диагностическом режиме.
- Выход в Windows – в зависимости от прав доступа вы можете закрыть NOS и выйти в Windows.

Перезагрузить в режим RUO

С помощью команды Reboot to RUO (Перезагрузить в RUO) переведите программное обеспечение системы в режим исследования. Администратор предоставляет пользователю полномочия на доступ к этой функции.

1. Нажмите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Нажмите Reboot/Shutdown (Перезагрузка/выключение).
3. Нажмите Reboot to RUO (Перезагрузка в режим RUO).

Перезапуск в режим диагностики

Воспользуйтесь командой Restart (Перезапустить) для безопасного завершения работы прибора и его перезагрузки в режим диагностики. Режим диагностики является режимом загрузки по умолчанию.

1. Нажмите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Нажмите Reboot/Shutdown (Перезагрузка/выключение).
3. Выберите Restart (Перезапустить).

Возврат в режим диагностики из режима исследования

Команда перехода из режима исследования в режим диагностики отличается в зависимости от версии программного обеспечения управления NextSeq (NCS) на приводах режима исследования.

1. В режиме исследования выберите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Выберите один из следующих вариантов для возврата в режим диагностики.
 - NCS v3.0 – выберите Shutdown Options (Параметры выключения), а затем Restart (Перезапустить).
 - NCS v4.0 или более поздней версии – выберите Shutdown Options (Параметры выключения), а затем Reboot to Dx (Перезагрузка в режим Dx).

Выключение прибора

1. Нажмите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Нажмите Reboot/Shutdown (Перезагрузка/выключение).
3. Нажмите Shutdown (Выключение).

В результате выполнения команды ShutDown (Выключение) будет безопасно завершена работа программного обеспечения и отключено питания прибора. Подождите как минимум 60 секунд, прежде чем снова включать прибор.

ПРИМЕЧАНИЕ По умолчанию прибор после включения загружается в режиме диагностики.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Запрещается перемещать прибор. Ненадлежащее перемещение прибора может повлиять на центровку оптической системы и отрицательно сказаться на достоверности данных. Если вам необходимо переместить прибор, свяжитесь с представителем компании Illumina.

Выход в Windows

Команда Exit to Windows (Выход в Windows) позволяет осуществить доступ к операционной системе прибора и к любой из папок на компьютере прибора. Эта команда безопасным образом завершает работу программного обеспечения и осуществляет выход в Windows. Только пользователь с правами администратора может выйти из Windows.

1. Нажмите Manage Instrument (Управление прибором).
2. Нажмите Reboot/Shutdown (Перезагрузка/выключение).
3. Нажмите Exit to Windows (Выход в Windows).

Секвенирование

Введение

Чтобы выполнить цикл секвенирования на Прибор NextSeq 550Dx, подготовьте картридж с реагентом и проточную кювету, а затем следуйте подсказкам программного обеспечения для настройки и запуска цикла. Генерация кластеров и секвенирование выполняются на приборе. После выполнения запуска секвенирования автоматически начнется промывка прибора с использованием компонентов, уже загруженных в прибор.

Генерация кластеров

Во время генерации кластеров отдельные молекулы ДНК связываются с поверхностью проточной ячейки, где происходит амплификация с образованием кластеров.

Секвенирование

Кластеры визуализируются с использованием химических реакций для двухканального секвенирования и комбинации фильтров, специфичной для каждого нуклеотида с флуоресцентной меткой. После завершения визуализации области сканирования проточной ячейки выполняется визуализация следующей области сканирования. Процесс повторяется для каждого цикла секвенирования. После анализа изображений программное обеспечение выполняет распознавание оснований, оценивает прохождение через фильтр и показатели качества.

Анализ

По мере выполнения запуска программное обеспечение автоматически переносит файлы распознанных оснований (CBCL) в указанную папку выходных данных для проведения анализа данных.

Продолжительность запуска секвенирования

Общая продолжительность запуска секвенирования зависит от числа выполняемых в нем циклов. Максимальную продолжительность имеет запуск с парноконцевым секвенированием по 150 циклов в каждом прочтении (2×150) и дополнительно до 8 циклов в каждом из 2 прочтений индекса.

Число циклов в прочтении

Число запусков, выполненных в 1 прочтении во время запуска секвенирования, превышает число проанализированных циклов на единицу. Например, в ходе запуска с секвенированием парных концевых фрагментов длиной 150 циклов происходит прочтение 151 цикла (2×151), то есть общее число циклов составляет 302. По окончании запуска анализу подвергаются 2×150 циклов. Один дополнительный цикл необходим для расчетов, касающихся фазирования и префазирования.

Рабочий процесс секвенирования

Создать запуск

Создайте Run (Запуск) с помощью программного модуля диспетчера запуска. См. руководства по рабочему процессу запуска модуля, приложения и анализа для конкретного модуля.



Подготовьте новый картридж с реагентом: разморозьте и осмотрите.
Подготовьте новую проточную ячейку: доведите до комнатной температуры, разверните и осмотрите.



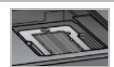
Денатурация и разведение библиотек Указания см. в инструкции по подготовке библиотеки.



Загрузите разведение библиотеки в картридж с реагентом в резервуаре № 10.



На экране Home (Главная страница) прибора NOS выберите Sequence (Секвенирование), чтобы начать этапы настройки запуска. Нажмите Runs (Запуски).



Загрузите проточную ячейку.



Опорожните контейнер с использованными реагентами и повторно загрузите. Загрузите картридж с буфером и картридж с реагентами.



Просмотрите результаты проверки перед запуском. Нажмите Start (Пуск). (Не требуется, если запуск начинается автоматически.)



Контролируйте запуск с интерфейса операционного программного обеспечения или с сетевого компьютера с помощью Local Run Manager или Illumina Run Manager.



Промывка прибора начинается автоматически после завершения секвенирования

Создание запуска

Создайте запуск секвенирования с помощью Local Run Manager или программного обеспечения Illumina Run Manager. Инструкции по применению Local Run Manager приведены ниже. Инструкции по использованию Illumina Run Manager, в том числе по выбору между Local Run Manager или Illumina Run Manager, см. в Руководство по программному обеспечению Illumina Run Manager для прибора NextSeq 550Dx (документ No 200025239). Процесс настройки запуска зависит от используемого модуля рабочего процесса анализа и включает следующие шаги.

- Нажмите Create Run (Создать запуск) в окне информационной панели менеджера запуска, затем выберите аналитический модуль.
- На странице Create Run (Создать запуск) введите название запуска, укажите образцы, входящие в программу запуска, и импортируйте файлы манифеста, если они есть.

Подробные инструкции по конкретным приложениям см. руководстве по применению модуля или приложения для конкретного анализа.

Подготовка картриджа с реагентами

Для успешного секвенирования обязательно соблюдайте указания к картриджу с реагентами.

1. Извлеките картридж с реагентами из морозильной камеры с температурой от -25 до -15 °C.
2. Для размораживания реагентов применяйте один из следующих методов. Не погружайте картридж в воду. Перед переходом к следующему этапу высушите размороженный картридж.

Температура	Время размораживания	Предел стабильности
Водяная баня с температурой от 15 °C до 30 °C	60 минут	Время не должно превышать 6 часов.
от 2 °C до 8 °C	7 часов	Не более 5 дней

ПРИМЕЧАНИЕ Для размораживания нескольких картриджей в одной водяной бане понадобится дополнительное время.

3. Переверните картридж пять раз для перемешивания реагентов.
4. Осмотрите дно картриджа, чтобы убедиться, что реагенты разморожены и не содержат осадка. Поскольку позиции 29, 30, 31 и 32 самые тяжелые и размораживаются дольше всего, убедитесь, что они разморожены.
5. Осторожно постучите картриджем по поверхности стола, чтобы уменьшить количество пузырьков воздуха.

Для получения наилучших результатов перейдите непосредственно к загрузке образца и настройке запуска.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

Подготовка проточной ячейки

1. Извлеките новую проточную ячейку из места хранения с температурой от 2 до 8 °С.
2. Снимите с коробки фольгированную упаковку и оставьте при комнатной температуре на 30 минут.

ПРИМЕЧАНИЕ Если упаковка из фольги не повреждена, проточная ячейка может находиться при комнатной температуре до 12 часов. Избегайте повторного охлаждения и нагревания проточной ячейки.

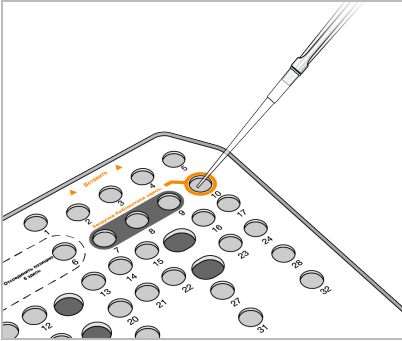
Подготовка библиотек к секвенированию

Денатурируйте и разведите библиотеки до загрузочного объема 1,3 мл. На практике загрузочная концентрация может колебаться в зависимости от методик подготовки библиотеки и количественного определения. Порядок разведения библиотек образца зависит от сложности пулов олигонуклеотидов. Указания насчет порядка подготовки библиотек образца для секвенирования, в том числе разведение и объединение библиотек, см. в разделе «Инструкции по применению» для применимого набора подготовки библиотек. При использовании прибора NextSeq 550Dx требуется оптимизация плотности кластера.

Загрузка библиотек на картридж с реагентами

1. Протрите крышку из фольги, закрывающую емкость № 10 с маркировкой Load Library Here (Место загрузки библиотеки), салфеткой из низковорсной ткани.
2. Проколите крышку чистым наконечником пипетки на 1 мл.
3. Загрузите 1,3 мл подготовленных библиотек в емкость № 10 с маркировкой Load Library Here (Место загрузки библиотеки). Не касайтесь крышки из фольги во время распределения библиотек.

Рисунок 9 Загрузка библиотек



Настройка запуска секвенирования

Нажмите Run (Запуск)

1. На экране Home (Главная страница) выберите Sequence (Секвенирование).

2. Выберите запуск из списка.

Для получения информации о создании цикла секвенирования см. [Local Run Manager Рабочий процесс на странице 15](#).

Откроется дверца отсека визуализации, можно будет извлечь расходные материалы, оставшиеся от предыдущего запуска, и откроется серия экранов настройки запуска. Короткая задержка при этом – нормальное явление.

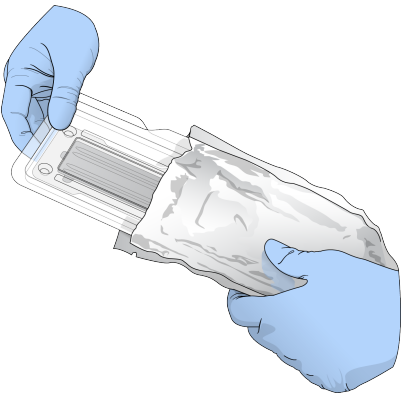
3. Нажмите Next (Далее).

Загрузка проточной ячейки

1. Извлеките проточную ячейку, использованную в предыдущем запуске.

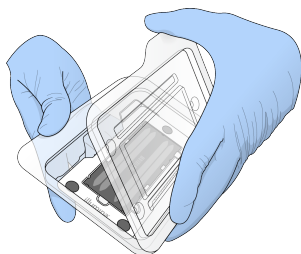
2. Извлеките проточную ячейку из упаковки из фольги.

Рисунок 10 Извлечение из упаковки из фольги



3. Откройте защелкивающуюся прозрачную пластмассовую упаковку и достаньте проточную ячейку.

Рисунок 11 Извлечение из защелкивающейся упаковки

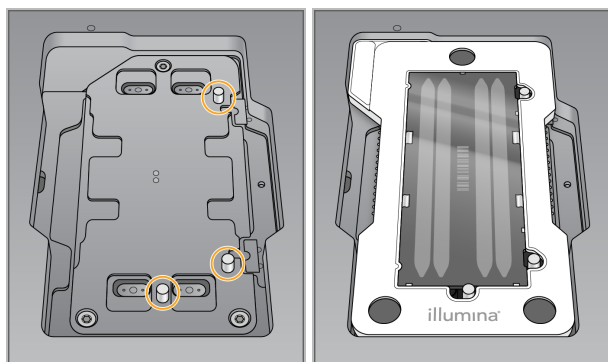


4. Очистите стеклянную поверхность проточной ячейки безворсовой спиртовой салфеткой. Протрите стекло низковорсной лабораторной салфеткой.

ПРИМЕЧАНИЕ Убедитесь в чистоте стеклянной поверхности проточной ячейки. При необходимости повторите этап очистки.

5. Воспользуйтесь направляющими штырями, чтобы установить проточную ячейку на соответствующем столике.

Рисунок 12 Загрузка проточной ячейки



6. Нажмите Load (Загрузка).

Дверца автоматически закроется, на экране появится идентификационный номер проточной ячейки, и будет выполнена проверка датчиков.

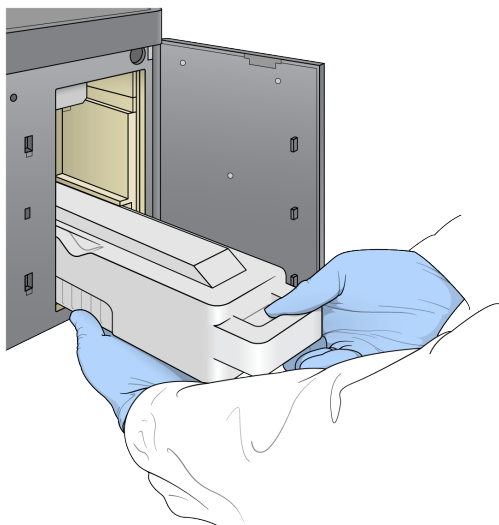
ПРИМЕЧАНИЕ Во избежание защемления держите руки на расстоянии от дверцы проточной кюветы во время ее закрытия.

7. Нажмите Next (Далее).

Опорожнение контейнера с использованными реагентами

1. Откройте дверцу буферного отсека защелкой под нижним левым углом дверцы.
2. Снимите контейнер с использованными реагентами и утилизируйте содержимое согласно применимым стандартам.

Рисунок 13 Извлечение контейнера с использованными реагентами



ПРИМЕЧАНИЕ Извлекая контейнер, поддерживайте его снизу второй рукой.

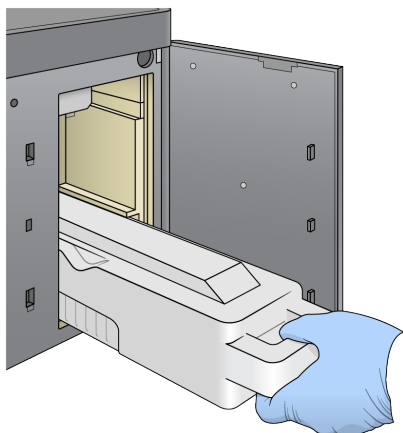


ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

3. Вставьте пустой контейнер для использованных реагентов в буферный отсек до упора. Отчетливый щелчок указывает на то, что контейнер установлен на место.

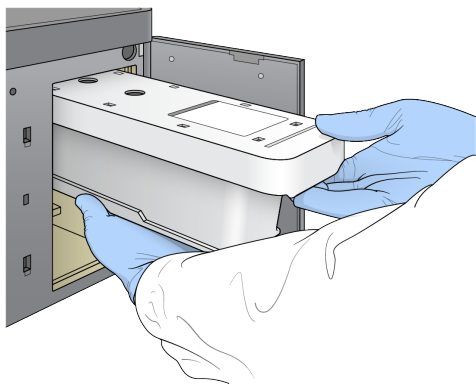
Рисунок 14 Загрузка пустого контейнера для использованных реагентов



Загрузка картриджа с буфером

1. Извлеките использованный картридж с буфером из верхнего отсека.
Для подъема и вытягивания буферного картриджа требуется некоторое усилие.
2. Вставьте новый картридж с буфером в буферный отсек до упора.
Отчетливый щелчок укажет на то, что картридж установлен на место, идентификационный номер картриджа с буфером появится на экране, и будет выполнена проверка датчика.

Рисунок 15 Загрузка картриджа с буфером



3. Закройте дверцу буферного отсека и нажмите Next (Далее).

Загрузка картриджа с реагентами

4. Откройте дверцу отделения для реагентов с помощью защелки под нижним правым углом дверцы.
5. Извлеките использованный картридж с реагентами из отсека реагентов. Утилизируйте неизрасходованное содержимое в соответствии с применимыми стандартами.



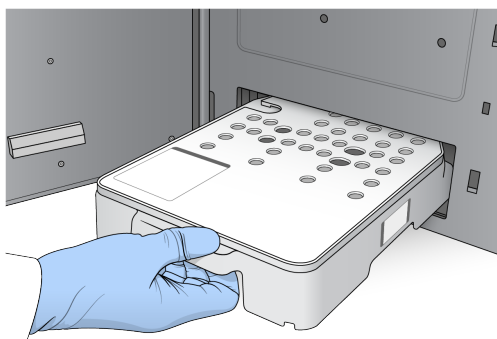
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

ПРИМЕЧАНИЕ Для облегчения безопасной утилизации неиспользованного реагента емкость в положении 6 является съемной. Для получения дополнительной информации см. [Удаление использованной емкости из положения № 6 на странице 37](#).

6. Установите картридж с реагентами в отсек реагентов до упора, затем закройте дверцу отсека реагентов.

Рисунок 16 Загрузка картриджа с реагентами

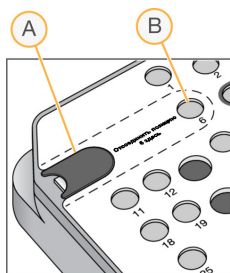


7. Нажмите Load (Загрузка).
Программное обеспечение автоматически переместит картридж на место (~ 30 секунд), на экране появится идентификационный номер картриджа с реагентами, и будет выполнена проверка датчиков.
8. Нажмите Next (Далее).

Удаление использованной емкости из положения № 6

1. После того как вы извлечете *использованный* картридж с реагентами из прибора, снимите защитное резиновое покрытие с отверстия, расположенного рядом с положением № 6.

Рисунок 17 Положение № 6 со съемной емкостью







- A. Защитное резиновое покрытие
- B. Положение № 6

2. Надавите на прозрачный пластмассовый язычок влево, чтобы извлечь емкость.
3. Утилизируйте емкость в соответствии с применимыми стандартами.

Обзор проверки перед запуском

Программное обеспечение выполняет автоматическую проверку системы перед запуском. Во время проверки на экране появляются следующие индикаторы.

- Отметка серого цвета  – эта проверка еще не производилась.
- Значок выполнения  – идет проверка.
- Отметка зеленого цвета  – эта проверка выполнена успешно.
- Красный значок  – проверка выявила неисправности. Перед продолжением работы следует выполнить необходимые действия для любого элемента, не прошедшего проверку. См.

[Исправление ошибок автоматической проверки на странице 66.](#)

Чтобы остановить автоматическую проверку перед запуском, нажмите кнопку Cancel (Отмена). Чтобы перезапустить проверку, нажмите кнопку Retry (Повторить). Проверка возобновляется с момента первой незавершенной или невыполненной проверки.

Чтобы просмотреть результаты каждой отдельной проверки в рамках категории, выберите вкладку Category (Категория).

Если прибор не настроен на автоматическое начало запуска, начните запуск после завершения автоматической проверки перед запуском.

Начало выполнения запуска

После завершения автоматической проверки перед запуском нажмите Start (Пуск). Начнется запуск секвенирования.

Сведения по настройке системы на автоматическое начало выполнения запуска после успешной проверки см. в [Задать данные пуска запуска и производительности прибора на странице 25.](#)



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

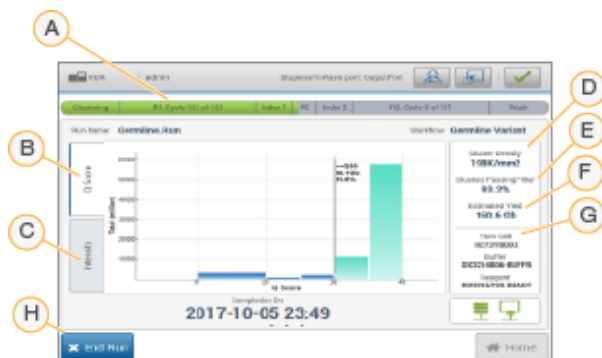
Убедитесь, что вы остались в системе Windows. Если вы выйдете из системы Windows во время запуска секвенирования, цикл прекратится.

ПРИМЕЧАНИЕ Реагенты не могут находиться в режиме ожидания в приборе более 24 часов.

Отслеживание хода выполнения запуска

1. Позволяет отслеживать выполнение запуска, значения интенсивности и показатели качества по мере того, как числовые показатели запуска отображаются на экране.

Рисунок 18 Выполнение и числовые показатели запуска секвенирования



- A. Run progress (Выполнение запуска) – отображает текущий этап и число завершенных циклов для каждого прочтения. Изменение длины индикатора выполнения не пропорционально скорости выполнения каждого этапа запуска. Расчетная дата и время завершения запуска показаны внизу.
- B. Показатель Q – показывает распределение показателей качества (показателей Q). См. [Оценка качества на странице 77](#).
- C. Интенсивность – служит для отображения значений интенсивности кластера 90-го перцентиля для каждой области сканирования. Цвета графиков указывают на каждое основание: красный – A, зеленый – C, синий – G, черный – T.
- D. Плотность кластеров (К/мм²) – показывает число кластеров, обнаруженных во время запуска.
- E. Кластеры, проходящие через фильтр (%) – показывает долю кластеров, проходящих через фильтр. См. [Кластеры, проходящие через фильтр на странице 76](#).
- F. Оценка выхода (Гб) – показывает число оснований, планируемых к распознаванию в запуске секвенирования.
- G. Информация о партии – показывает номера партий расходных материалов для секвенирования. Для проточной ячейки отображается серийный номер.
- H. Завершить запуск – останавливает выполнение запуска секвенирования.

ПРИМЕЧАНИЕ После выбора Home (Главная страница) вернуться для просмотра числовых показателей запуска невозможно. Однако метрики запуска доступны с помощью менеджеров запуска. Выберите Run Manager на экране Home (Главная страница) в NOS или удаленно с помощью веб-браузера на сетевом компьютере.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ









Если запуск секвенирования преждевременно остановлен пользователем, расходные материалы, используемые для запуска, станут непригодными для использования.

Циклы для показателей запуска

Числовые показатели отображаются на разных этапах запуска секвенирования.

- На этапах генерации кластеров числовые показатели не отображаются.
- Первые 5 циклов отводятся для создания матрицы.
- Числовые показатели запусков появляются после 25-го цикла и включают плотность кластеров, число кластеров, проходящих через фильтр, выход и показатели качества.

Передача данных

Состояние	Local Run Manager	Папка выходных данных
Подключено		
Подключено и идет передача данных		
Отключено		
Выключено		

Если передача данных во время запуска прерывается, данные временно сохраняются на компьютере прибора. Когда соединение восстанавливается, передача данных возобновляется автоматически. Если подключение не восстанавливается до окончания запуска, вручную перенесите данные из компьютера прибора до выполнения следующего запуска.

Просмотр данных о запуске и образце

Просмотр данных запуска и пробы с помощью программного обеспечения диспетчера запуска, которое использовалось для создания запуска секвенирования. Для просмотра данных запуска и проб с помощью Illumina Run Manager см. Руководство по программному обеспечению Illumina Run Manager для прибора NextSeq 550Dx (документ No 200025239).


Для просмотра данных запуска и выборки с помощью Local Run Manager см. ниже.

Выберите название запуска на Local Run Manager информационной панели. Сводные результаты анализа представлены на следующих 3 вкладках:

- Обзор запуска.
- Информация о секвенировании
- Образцы и результаты

Вкладка Run Overview (Обзор запуска)

На вкладке Run Overview (Обзор запуска) представлена информация о запуске, сводная информация о показателях секвенирования и местоположение папки с данными запуска.

Название раздела	Описание
Run Name / Run ID (Название/идентификатор запуска)	Название запуска, присвоенное во время создания запуска.
Created By (Кем создан)	Имя пользователя, создавшего запуск.
Описание	Описание запуска, если представлено.
Output Run Folder (Папка выходных данных запуска)	Путь к папке запуска выходных данных запуска секвенирования. Выберите значок Copy to clipboard (Копировать в буфер обмена)  , чтобы быстро открыть папку выходных данных.
Total Clusters (Общее число кластеров)	Число кластеров в запуске.
% Clusters PF (% кластеров, проходящих через фильтр)	Процент кластеров, проходящих через фильтр.
% ≥ Q30 (Read 1) (% ≥ Q30 (Прочтение 1))	Процент прочтений в Read 1 (Прочтение 1) с показателем качества 30 (Q30) или выше.
% ≥ Q30 (Read 2) (% ≥ Q30 (Прочтение 2))	Процент прочтений в Read 2 (Прочтение 2) с показателем качества 30 (Q30) или выше.

Название раздела	Описание
Last Scored Cycle (Последний цикл с показателем качества)	Последний цикл в запуске с показателем качества. За исключением случаев, когда запуск завершился досрочно, это значение представляет собой последний цикл в запуске.


Вкладка Sequencing Information (Информация о секвенировании)

На вкладке Sequencing Information (Информация о секвенировании) приведены сводные параметры запуска секвенирования. На вкладке Sequencing Information (Информация о секвенировании) представлены указанные ниже данные.

Название раздела	Описание
Instrument Name (Название прибора)	Название прибора, на котором выполнялся запуск.
Секвенирование выполнено	Имя пользователя, который начал запуск.
Начало секвенирования	Дата и время начала запуска секвенирования.
Версия RTA	Версия программного обеспечения RTA, используемая для запуска.
Module Version (Версия модуля)	Версия аналитического модуля, назначенного для запуска.
Read Lengths (Длины прочтения)	Количество прочтений и циклов для каждого прочтения, выполненного во время запуска.
Flow Cell Information (Информация о проточной ячейке)	Штрих-код, номер по каталогу, номер партии и дата истечения срока годности проточной ячейки, используемой для запуска
Информация о буфере	Штрих-код, номер по каталогу, номер партии и дата истечения срока годности картриджа с буфером, используемого для запуска
Reagent Cartridge Information (Информация о картридже с реагентами)	Штрих-код, номер по каталогу, номер партии и дата истечения срока годности картриджа с реагентами, используемого для запуска.

Вкладка Samples and Results (Образцы и результаты)

Информация, представленная на вкладке Samples and Results (Образцы и результаты), относится к модулю анализа, используемому для анализа. Вкладка Samples and Results (Образцы и результаты) может содержать следующие информационные поля.

Название раздела	Описание
Select Analysis (Выбрать анализ)	Раскрывающийся список каждого анализа, выполненного с использованием данных, полученных в ходе запуска секвенирования. Каждый раз, когда выполняется анализ, присваивается порядковый номер. Результаты указываются отдельно.
Папка Analysis (Анализ)	Путь к папке анализа. Выберите значок Copy to clipboard (Копировать в буфер обмена)  , чтобы быстро открыть папку анализа.
Перезапуск анализа	Команда, позволяющая повторно проанализировать данные запуска секвенирования. Эта команда позволяет отредактировать параметры анализа или продолжить без изменений.

Возможные состояния запуска

Столбец Status (Статус) на информационной панели отображает статус каждого указанного запуска. В нижеприведенной таблице описаны возможные состояния запуска и указан цвет строки состояния в столбце Status Bar Color (Цвет строки состояния).

Состояние	Цвет строки состояния	Описание состояния
Ready for Sequencing (Готовность к секвенированию).	Нет	Ожидание начала запуска секвенирования.
Sequencing Running (Запуск секвенирования).	Синий	Секвенирование выполняется.
Sequencing Unsuccessful (Секвенирование не выполнено).	Красный	Ошибка секвенирования. Нет действий.
Sequencing Stopped (Секвенирование остановлено).	Красный	Секвенирование остановлено. Нет действий.
Секвенирование выполнено	Синий	Секвенирование завершено. Индикатор статуса указывает на 50 %.
Primary Analysis Complete (Первичный анализ выполнен)	Синий	Создание числовых показателей секвенирования завершено. Индикатор статуса указывает на 50 %.



Состояние	Цвет строки состояния	Описание состояния
Primary Analysis Unsuccessful (Первичный анализ не выполнен).	Красный	Сбой анализа RTA. Индикатор статуса указывает на 25 %.
Analysis Queued (Анализ поставлен в очередь).	Синий	Ожидание начала анализа.
Analysis Running (Выполнение анализа).	Синий	Анализ выполняется.
Analysis Unsuccessful (Анализ не выполнен).	Красный	Ошибка анализа. Нет действий.
Stopping Analysis (Остановка анализа).	Красный	Получен запрос на остановку анализа.
Analysis Stopped (Анализ остановлен).	Красный	Анализ остановлен. Нет действий.
Analysis Completed (Анализ выполнен).	Зеленый	Действие завершено. Индикатор статуса указывает на 100 %.

Перезапуск или прекращение анализа


Вы можете перезапустить анализ после его остановки, если завершить анализ не удалось или если вы хотите повторно проанализировать данные запуска с другими настройками. Для перезапуска или остановки анализа с помощью Illumina Run Manager см. Руководство по программному обеспечению Illumina Run Manager для прибора NextSeq 550Dx (документ No 200025239). Порядок перезапуска или остановки анализа с использованием Local Run Manager см. ниже.


Перезапустить анализ можно на информационной панели Local Run Manager или на вкладке Sample and Results (Образец и результаты). Можно отменить анализ Local Run Manager, начать другой цикл секвенирования, а затем вернуться к перезапуску анализа в исходном цикле позже.

Остановить анализ Local Run Manager


1. На странице Active Runs (Активные запуски) нажмите More Options (Дополнительные действия)  рядом с именем запуска, который вы хотите остановить.
2. Нажмите  Stop Analysis (Остановить анализ).

Перезапуск анализа со страницы Активные запуски

1. На странице Active Runs (Активные запуски) нажмите значок дополнительных действий  рядом с именем запуска, который вы хотите перезапустить.



2. Выберите  Requeue (Перезапустить).
3. Когда будет предложен выбор, выберите подходящий из представленных ниже вариантов.
 - Нажмите Edit Setup (Редактировать настройки), чтобы изменить параметры анализа. На странице Requeue Analysis (Перезапуск анализа) внесите изменения в предпочтительные настройки, а затем выберите Requeue Analysis (Перезапустить анализ).
 - Выберите Requeue (Перезапустить). Анализ начнется с использованием текущих параметров.

Перезапуск анализа со страницы Results (Результаты)

1. Выберите название запуска на странице Active Runs (Активные запуски).
2. [Необязательно] Измените папку выходных данных. См. [Изменить расположение папки выходных данных запуска на странице 45](#).
3. Перейдите на вкладку Samples and Results (Образцы и результаты).
4. Нажмите Requeue Analysis (Перезапустить анализ) .
5. Когда будет предложен выбор, выберите подходящий из представленных ниже вариантов.
 - Нажмите Edit Setup (Редактировать настройки), чтобы изменить параметры анализа. На странице Requeue Analysis (Перезапуск анализа) внесите изменения в предпочтительные настройки, а затем выберите Requeue Analysis (Перезапустить анализ).
 - Выберите Requeue (Перезапустить). Анализ начнется с использованием текущих параметров.

Изменить расположение папки выходных данных запуска

Местоположение папки выходных данных запуска можно изменить перед повторным выполнением запуска. Изменение папки выходных данных не требуется, поскольку при перезапуске не перезаписываются старые анализы.

1. На информационной панели Active Runs (Активные запуски) выберите запуск из списка.
2. Выберите Run Overview (Обзор запуска).
3. Выберите значок Edit (Редактировать)  и введите путь к новой папке.
Несмотря на то, что местоположение файла может измениться, вы не можете изменить имя выходной папки запуска. Обязательно следуйте рекомендациям UNC по пути к файлу, как описано в разделе [Настройка папки выходных данных по умолчанию на странице 26](#).
4. Выберите значок Save (Сохранить) .

Автоматическая промывка после запуска

После завершения запуска секвенирования программное обеспечение инициирует автоматическую промывку после запуска с использованием промывочного раствора, предоставленного в картридже с буфером, и NaOCl, предоставленного в картридже с реагентом.

Автоматическая промывка после запуска занимает около 90 минут. По завершении промывки кнопка Home (Главный экран) становится активной. Во время промывки результаты секвенирования по-прежнему отображаются на экране.

После промывки

После промывки сипперные трубки остаются в нижнем положении во избежание попадания воздуха в систему. Оставьте картриджи на месте до следующего запуска.

Выгрузка расходных материалов

В редких случаях может потребоваться выгрузка всех расходных материалов из прибора. Для этого используйте экран Quick Wash (Быстрая промывка) для выгрузки расходных материалов.

1. Выберите Perform Wash (Выполнение промывки), а затем – Quick Wash (Быстрая промывка).
2. Дверца проточной ячейки откроется, и картридж реагента переместится в положение разгрузки.
3. Извлеките проточную ячейку, картридж буфера и картридж реагента.
4. Снимите контейнер с использованными реагентами и утилизируйте содержимое согласно применимым стандартам.
5. Вставьте пустой контейнер для использованных реагентов в буферный отсек до упора. Отчетливый щелчок указывает на то, что контейнер установлен на место.
6. Выберите Exit (Выход), чтобы вернуться на главный экран NOS.

Техническое обслуживание

Введение

К процедурам технического обслуживания относятся ручная промывка прибора и замена воздушного фильтра. Также описаны параметры выключения и перезагрузки прибора.

- Промывка прибора – проведение автоматической промывки после каждого запуска секвенирования позволяет поддерживать эффективность работы прибора. Однако при определенных обстоятельствах требуется периодическая ручная промывка. См. [Выполнение ручной промывки на странице 47](#).
- Замена воздушного фильтра – регулярная замена воздушного фильтра обеспечивает надлежащий поток воздуха через прибор.

Профилактическое техническое обслуживание

Illumina рекомендует запланировать ежегодное проведение профилактического технического обслуживания. Если у вас нет контракта на обслуживание, свяжитесь с территориальным специалистом по работе с клиентами или со службой технической поддержки Illumina и организуйте платный сеанс профилактического технического обслуживания.

Выполнение ручной промывки

Запуск ручных промывок выполняется на экране Home (Главная страница). Варианты промывки включают быструю промывку и ручную промывку после запуска.

Типы промывки	Описание
Быстрая промывка Длительность: 20 минут	<p>Промывка системы с использованием приобретаемого пользователем промывочного раствора, который состоит из ультрачистой воды и Твин 20 (в картридже для промывочного буфера).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Требуется проводить через каждые 14 дней холостой работы прибора с установленными картриджем с реагентами и картриджем с буфером. • Требуется проводить через каждые 7 дней нахождения прибора в «сухом» состоянии (без картриджа с реагентами и картриджа с буфером).

Типы промывки	Описание
Ручная промывка после запуска Длительность: 90 минут	Промывка системы с использованием приобретаемого пользователем промывочного раствора, который состоит из ультрачистой воды и Твин 20 (в картридже для промывочного буфера), и 0,12 % раствора гипохлорита натрия (в картридже для промывочного реагента). Требуется проводить в случае невыполнения автоматической промывки после запуска.

Ручная промывка требует использования картриджа для промывочного реагента и картриджа для промывочного буфера, поставляемых с прибором, а также использованной проточной ячейки. Для промывки прибора использованную проточную ячейку можно применять до 20 раз.

Рисунок 19 Оригинальные картридж для промывочного реагента и картридж для промывочного буфера

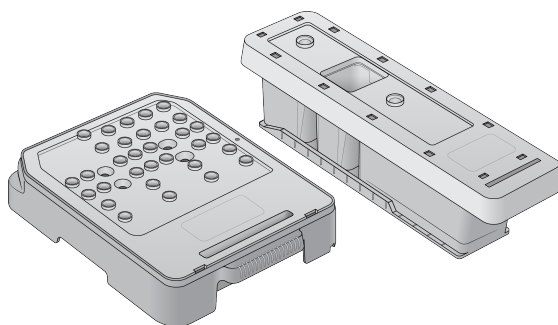
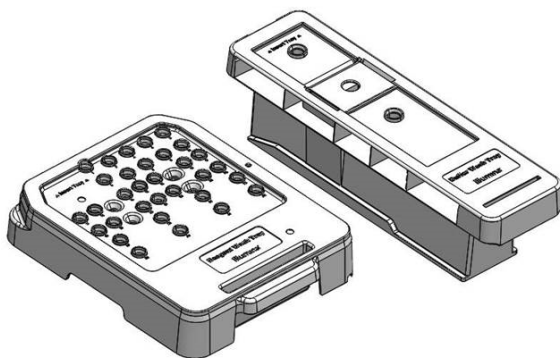


Рисунок 20 Новые картридж для промывочного реагента и картридж для промывочного буфера



Подготовка к ручной промывке после запуска

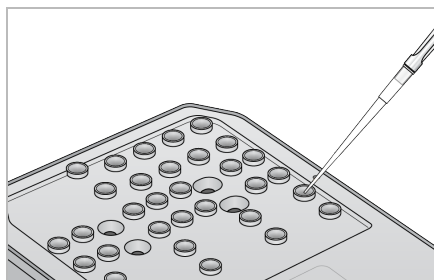
Выберите либо подготовку к ручной промывке после запуска, как описано ниже, либо подготовку к быстрой промывке (следующий раздел). Если вы собираетесь выполнить ручную промывку после запуска, пропустите раздел быстрой промывки и перейдите к [Загрузка использованной проточной ячейки и картриджей для промывки на странице 50](#).

Расходные материалы, приобретаемые пользователем	Объем и описание
NaOCl	1 мл, разбавленный до 0,12 %. Загружается в картридж для промывочного реагента (положение № 28)
100%-ный Твин 20 Ультрочистая вода	Используется для приготовления 125 мл 0,05 % промывочного раствора Твин 20 Загружается в картридж для промывочного буфера (центральная емкость)

ПРИМЕЧАНИЕ Используйте только свежеразбавленный раствор NaOCl, приготовленный в течение последних 24 часов. Если объем приготовленного раствора превышает 1 мл, храните остаток раствора при температуре от 2 до 8 °C и используйте его в течение 24 часов. Если это невозможно, утилизируйте оставшийся разбавленный NaOCl.

- Смешайте в пробирке для микроцентрифуги следующие количества веществ, чтобы получить 1 мл 0,12 % раствора NaOCl:
 - 5 % раствор NaOCl (24 мкл);
 - ультрочистая вода (976 мкл).
- Переверните пробирку, чтобы перемешать содержимое.
- Добавьте 1 мл 0,12 % раствора NaOCl в картридж для промывочного реагента. Правильная емкость эквивалентна положению № 28 в предварительно заполненном картридже.

Рисунок 21 Заправка NaOCl



- Смешайте указанные далее объемы растворов для получения 0,05%-ного промывочного раствора Твин 20.
Оригинальный картридж для промывочного буфера:
 - 100 % Твин 20 (62 мкл);
 - ультрочистая вода (125 мл);

- добавьте 125 мл промывочного раствора в центральную емкость картриджа для промывочного буфера.

Новый картридж для промывочного буфера:

- 100 % Твин 20 (75 мкл);
- ультрачистая вода (150 мл);
- добавьте 150 мл промывочного раствора в центральную емкость картриджа для промывочного буфера.

5. Выберите Perform Wash (Выполнение промывки), а затем – Manual Post-Run Wash (Ручная промывка после запуска).

Подготовка к быстрой промывке

Вы можете подготовиться к быстрой промывке, как описано ниже в качестве альтернативы [Подготовка к ручной промывке после запуска на странице 48](#).

Расходные материалы, приобретаемые пользователем	Объем и описание
100%-ный Твин 20	Используется для приготовления 40 мл 0,05 % промывочного раствора Твин 20 Загружается в картридж для промывочного буфера (центральная емкость)
Ультрачистая вода	

1. Смешайте указанные далее объемы растворов для получения 0,05%-ного промывочного раствора Твин 20.
 - 100%-ный Твин 20 (20 мкл);
 - ультрачистая вода (40 мл).
2. Добавьте 40 мл промывочного раствора в центральную емкость картриджа для промывочного буфера.
3. Выберите Perform Wash (Выполнение промывки), а затем – Quick Wash (Быстрая промывка).

Загрузка использованной проточной ячейки и картриджей для промывки

1. Если использованная проточная ячейка не установлена, загрузите использованную проточную ячейку. Нажмите Load (Загрузить), а затем – Next (Далее).

2. Снимите контейнер с использованными реагентами и утилизируйте содержимое согласно применимым стандартам.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

3. Вставьте пустой контейнер для использованных реагентов в буферный отсек до упора.
4. Извлеките использованный картридж с буфером, если он остался после выполнения предыдущего запуска.
5. Загрузите картридж для промывочного буфера, содержащий промывочный раствор.
6. Извлеките использованный картридж с реагентами, если он остался после выполнения предыдущего запуска.
7. Загрузите картридж для промывочного реагента.
8. Нажмите Next (Далее). Автоматически начнется проверка перед промывкой.

Запуск промывки

1. Нажмите Start (Пуск).
2. По завершении промывки нажмите Home (Главная страница).

После промывки

После промывки сипперные трубки остаются в нижнем положении во избежание попадания воздуха в систему. Оставьте картриджи на месте до следующего запуска.

Замена воздушного фильтра

Новые системы укомплектованы тремя запасными воздушными фильтрами. Их необходимо хранить и использовать по мере получения от прибора запросов на замену фильтра.

Воздушный фильтр обеспечивает поток воздуха через прибор. Каждые 90 дней программное обеспечение отображает уведомление о необходимости сменить воздушный фильтр. Получив

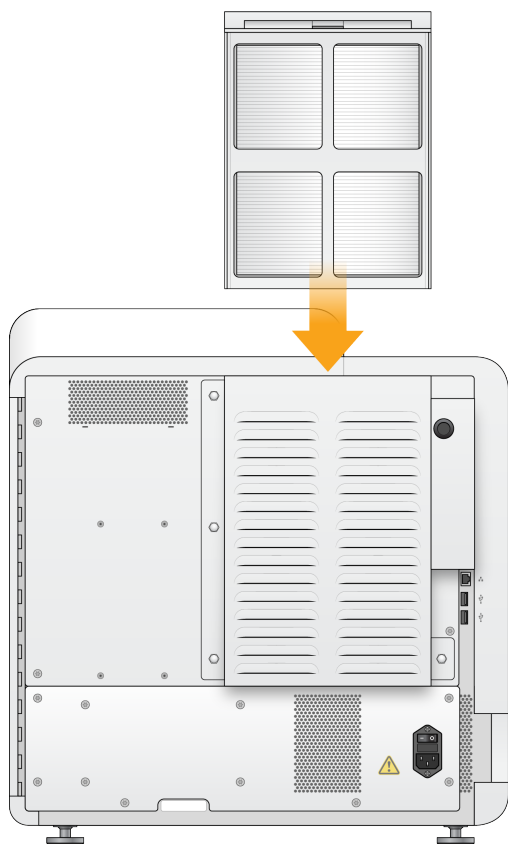
соответствующее указание, выберите Remind in 1 day (Напомнить через 1 день) или же выполните приведенную ниже процедуру и выберите Filter Changed (Фильтр заменен). 90-дневный отсчет обнуляется после того, как вы выберете Filter Changed (Фильтр заменен).

1. Извлеките новый воздушный фильтр из упаковки и запишите на его рамке дату установки фильтра.
2. Надавите на верхнюю часть лотка для воздушного фильтра, расположенного в задней части прибора, чтобы выдвинуть лоток.
3. Возьмитесь за верхнюю часть лотка для фильтра и потяните вверх, чтобы полностью извлечь его из прибора.
4. Выньте и утилизируйте старый воздушный фильтр.
5. Вставьте новый воздушный фильтр в лоток.

ПРИМЕЧАНИЕ Вставленный задом наперед воздушный фильтр не будет правильно работать. Обязательно вставьте воздушный фильтр в лоток так, чтобы видеть зеленую стрелку с надписью «Up» (Вверх) и не видеть этикетку с предупреждением. Стрелка должна указывать на ручку лотка для фильтра.

6. Вставьте лоток для фильтра в прибор. Нажмите на верхнюю часть лотка для фильтра до щелчка. Фильтр зафиксируется на месте.

Рисунок 22 Установка воздушного фильтра



Настройки и задачи администратора Local Run Manager

Введение

Следующие настройки и задачи требуют административных полномочий пользователя:

- Управление учетными записями пользователей – добавление пользователей, назначение разрешений и установка паролей.
- Редактировать NOS системные настройки – позволяет редактировать NOS с помощью значка Manage Instrument (Управление прибором) на экране Home (Главная страница) NextSeq 550Dx прибора.
- Управление Local Run Manager системными настройками – Устанавливает параметры безопасности системы, интервалы обслуживания и учетные записи служб.
- Связать папку запуска – если папка запуска удалена, а затем восстановлена, позволяет связать запуск в восстановленной папке для перезапуска анализа.
- Просмотр записей журналов регистрации событий – выполняет мониторинг частоты доступа и активности пользователя.
- Разрешения для выполнения следующей задачи настраиваются в системе управления пользователями:
- Перезагрузка в режим исследования только для использования – позволяет перезагрузиться до команды режима исследования, которая изменяет программное обеспечение системы на режим исследования (RUO).
- Редактирование параметров модуля – Позволяет настраивать параметры модуля, такие как загрузка файлов манифестов для использования во всех запусках с использованием конкретного модуля анализа.
- Перезапустить анализ – позволяет редактировать параметры, а затем выполнять запуск анализа повторно. См. [Перезапуск или прекращение анализа на странице 44](#).

Управление пользователями


Все учетные записи пользователей представлены на странице User Management (Управление пользователями), которая содержит имя и фамилию, а также имя пользователя для каждой учетной записи. В данных каждой учетной записи можно управлять ролями и соответствующими правами доступа. Возможны две роли: Admin (Администратор) или User (Пользователь).

- Роль Администратор – для этой роли по умолчанию предусмотрены все права доступа.

- Роль Пользователь – настройки этой роли зависят от набора возможных прав доступа. Создавать запуски могут все пользователи, независимо от настроек прав доступа.

Только администратор может просматривать страницу управления пользователями.

ПРИМЕЧАНИЕ Создайте более одной учетной записи администратора. Если единственный пользователь-администратор на приборе заблокирован, разблокировать прибор может только служба Illumina технической поддержки.

ПРИМЕЧАНИЕ В зависимости от размера экрана, на котором вы просматриваете программное обеспечение, меню Tools (Инструменты) может быть свернуто под  меню в верхнем левом углу.

Права доступа пользователя


Разрешение	Описание	Роль администратора	Роль пользователя
Редактирование параметров системы Local Run Manager	Настройте параметры учетных записей службы безопасности, технического обслуживания и сервиса.	Разрешено	Не разрешено
Выход в Windows	Выход NOS и доступ к компьютеру прибора.	Разрешено	Не разрешено
Редактирование параметров модуля	Загрузка файлов манифеста для аналитических модулей.	Разрешено	Разрешено, если выбрано
Управление учетными записями пользователя	Создание и редактирование учетных записей пользователя.	Разрешено	Не разрешено
Сворачивание NOS и доступ к компьютеру	Сведите к минимуму NOS и получите доступ к компьютеру прибора.	Разрешено	Не разрешено
Перезапуск анализа	Повторный анализ запусков, редактирование параметров анализа.	Разрешено	Разрешено, если выбрано
Перезагрузка для работы только в режим исследования	Переключение программного обеспечения прибора в режим RUO.	Разрешено	Разрешено, если выбрано

Разрешение	Описание	Роль администратора	Роль пользователя
Просмотр записей журналов регистрации событий	Просмотр, фильтр и экспорт журналов регистрации событий.	Разрешено	Не разрешено

Создание нового пользователя



1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите User Management (Управление пользователями).
2. На экране User Management (Управление пользователями) выберите Create User (Create пользователя).
3. В диалоговом окне Create New User (Создать нового пользователя) введите имя и фамилию нового пользователя.
4. В поле User Name (Имя пользователя) введите имя пользователя. Имена пользователей должны быть уникальными, не подлежат повторному использованию и не могут быть изменены.
5. В поле New Password (Новый пароль) введите временный пароль. Временные пароли не сохраняются в истории паролей и могут использоваться повторно.
6. В поле Confirm Password (Подтвердить пароль) повторно введите временный пароль.
7. Чтобы выбрать роль, выберите Admin (Администратор) или User (Пользователь) для переключения между параметрами.
8. На основании указанной роли выберите права доступа пользователя.
9. Нажмите Create User (Создать пользователя).

Сброс пароля пользователя


1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите User Management (Управление пользователями).
2. Найдите имя пользователя, которое вы хотите изменить, и нажмите на значок Edit (Редактировать) .
3. В поле New Password (Новый пароль) введите временный пароль. Временные пароли не сохраняются в истории паролей и могут использоваться повторно.
4. В поле Confirm Password (Подтвердить пароль) повторно введите временный пароль.
5. Выберите Update User (Обновить пользователя).

Разблокировать пароль пользователя


1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите User Management (Управление пользователями).

2. Найдите имя пользователя, которое вы хотите изменить, и нажмите на значок Edit (Редактировать) .
3. В диалоговом окне Edit User (Редактировать пользователя) выберите  Unlock User (Разблокировать пользователя).
4. В поле New Password (Новый пароль) введите временный пароль.
5. В поле Confirm Password (Подтвердить пароль) повторно введите временный пароль.
6. Выберите Update User (Обновить пользователя).

Изменение прав доступа пользователя

1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите User Management (Управление пользователями).
2. Найдите имя пользователя, которое вы хотите изменить, и нажмите на значок Edit (Редактировать) .
3. Чтобы изменить роль, выберите Admin (Администратор) или User (Пользователь) для переключения между параметрами.
4. На основании указанной роли выберите права доступа пользователя.
5. Выберите Update User (Обновить пользователя).

Удалить пользователя

1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите User Management (Управление пользователями).
2. Найдите имя пользователя, которое вы хотите изменить, и нажмите на значок Edit (Редактировать) .
3. В диалоговом окне Create New User (Создать нового пользователя) выберите Delete User (Удалить пользователя).
После удаления пользователя вы не сможете снова создать учетную запись с таким именем.
4. При появлении запроса на удаление пользователя выберите Delete (Удалить).


Параметры системы

Параметры системы являются глобальными параметрами безопасности пользователей и автоматического обслуживания данных.

- Параметры безопасности пользователя включают продолжительность истечения срока действия пароля, максимальное количество попыток входа в систему и продолжительность ожидания бездействия.
- Настройки обслуживания данных включают автоматическую очистку неактивных папок запусков и частоту резервного копирования базы данных, а также команду немедленного резервного копирования базы данных.

- Установите учетные записи службы анализа и службы заданий для Windows, если папка вывода находится на сетевом пути. По умолчанию используется учетная запись локальной системы.

Только пользователь с правами администратора может просматривать страницу System Settings (Параметры системы).

ПРИМЕЧАНИЕ В зависимости от размера экрана, на котором вы просматриваете программное обеспечение, меню Tools (Инструменты) может быть свернуто под меню  в верхнем левом углу.

Настройка параметров безопасности системы

1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите System Settings (Параметры системы).
2. Выберите вкладку Security (Безопасность).
3. Укажите количество дней до истечения срока действия пароля, которое необходимо сбросить.
4. Укажите, за какое число дней до истечения срока действия пароля пользователь должен получить напоминание о сбросе пароля.
5. Укажите максимальное число попыток ввода пользователем недействительных учетных данных без блокировки системой.
6. Укажите, сколько минут простоя системы допускается до автоматического завершения сеанса работы пользователя.
7. Нажмите Save (Сохранить).

Настройка параметров технического обслуживания системы

1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите System Settings (Параметры системы).
2. Нажмите вкладку Maintenance (Техническое обслуживание).
3. Чтобы включить автоматическое удаление неактивных папок, установите флажок Enable Automatic Deletion (Включить автоматическое удаление).
Если этот параметр включен, система удаляет неактивные папки из папки анализа по умолчанию по истечении указанного времени.
4. Если установлен флажок Enable Automatic Deletion (Включить автоматическое удаление), укажите количество дней бездействия до активации команды автоматического удаления.
5. Чтобы указать местоположение резервного копирования базы данных, введите предпочтительный путь к местоположению резервного копирования. Для восстановления резервной базы данных обратитесь в службу технической поддержки Illumina.
6. В поле Backup Period (Период резервного копирования) укажите в днях интервал между сессиями резервного копирования.

7. Чтобы создать немедленную резервную копию, выберите Backup Now (Начать резервное копирование).
8. Нажмите Save (Сохранить).

Настройка учетных записей служб системы


1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите System Settings (Параметры системы).
2. Выберите вкладку Service Accounts (Учетные записи службы).
3. Чтобы включить учетные записи Analysis Service (Службы анализа) Windows и Job Service (Службы заданий), выберите Windows Account (Учетная запись Windows).
Убедитесь, что у введенной учетной записи службы есть разрешение на прочтение и запись в папку вывода запуска.
4. В поле User Name (Имя пользователя) введите имя пользователя.
Для приборов, работающих с локальной учетной записью под управлением Windows 10, добавьте .\ к имени пользователя (например, .имя пользователя). Для пользователей домена имя домена в имени пользователя указывается перед обратной косой чертой (например, домен\имя пользователя).
5. В поле Password (Пароль) введите пароль.
Операционная система Windows 10 требует менять пароль Windows каждые 180 дней. Обязательно обновляйте учетную запись Windows в Local Run Manager с использованием того же пароля, что и в операционной системе Windows.
6. Нажмите Save (Сохранить).

Параметры модуля

На странице Modules Settings (Параметры модуля) на левой панели навигации представлен список установленных модулей анализа. При нажатии на название любого модуля анализа открывается страница, на которой указаны версия модуля и дата последнего изменения.

Для модулей, для которых требуется манифест, добавьте файлы манифеста в модуль, чтобы сделать их доступными для всех запусков. Необходимы полномочия на уровне пользователя администратора.

1. На панели навигации информационной панели щелкните меню Tools (Инструменты), а затем щелкните Module Settings (Настройки модуля).

ПРИМЕЧАНИЕ В зависимости от размера экрана, на котором отображается программа, меню Tools (Инструменты), может располагаться в уменьшенном виде под верхним левым меню .

2. Щелкните имя модуля на левой панели навигации.
3. Нажмите Добавить манифест(-ы).


4. Перейдите к файлу манифеста, выберите манифест, который хотите добавить, и нажмите Open (Открыть).

Журналы регистрации событий


Журналы регистрации событий фиксируют информацию о конкретных действиях, например о доступе пользователя, изменениях в его профиле, а также об изменениях в параметрах системы, запуска или анализа. Все записи в журналах регистрации событий содержат указанную далее информацию.

- When (Когда) в виде даты (ГГГГ-ММ-ДД) и времени в 24-часовом формате.
- Who (Кто) в виде имени пользователя, инициировавшего действие.
- What (Что) в виде краткого предварительно заданного описания выполненного действия.
- Affected Item (Затронутая позиция) в виде 4 категорий затронутых позиций: User (Пользователь), Run (Запуск), Analysis (Анализ) или System (Система).
- Чтобы отсортировать список с журналами регистрации событий по возрастанию или убыванию, выберите любой заголовок столбца.

Просматривать страницу Audit Trails (Журналы регистрации событий) может только пользователь с правами администратора.



ПРИМЕЧАНИЕ В зависимости от размера экрана, на котором отображается программа, меню Tools (Инструменты), может располагаться в уменьшенном виде под верхним левым меню .

Фильтр журналов регистрации событий

1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите Audit Trails (Журналы регистрации событий).
2. На странице Audit Trails (Журналы регистрации событий) выберите значок Filter (Фильтр) .

ПРИМЕЧАНИЕ Вы можете применить фильтры к уже отфильтрованным результатам, чтобы ещё больше сузить список. Чтобы применить фильтры ко всей базе данных журналов регистрации событий, перед тем как продолжить, сбросьте предыдущие фильтры.

Фильтр по дате

1. Нажмите на значок Calendar (Календарь)  и выберите дату From (С).
2. Нажмите на значок Calendar (Календарь)  и выберите дату To (До).
3. Выберите Filter (Фильтр).

Фильтр по имени пользователя

1. В поле Who (Кто) введите имя пользователя.
Вы можете вести любую часть имени пользователя. Звездочки (*) указывать не обязательно.
2. Выберите Filter (Фильтр).





Фильтр по действию

1. В поле What (Что) введите описание действия.
Вы можете ввести любую часть описания действия. Звездочки (*) указывать не обязательно.
2. Выберите Filter (Фильтр).


Фильтр по описанию затронутой позиции


1. В поле Affected Item (Затронутая позиция) введите любую часть описания затронутой позиции.
Описание может подразумевать, например, название запуска, имя пользователя, название аналитического модуля или название отчета. Вы можете ввести любую часть описания. Звездочки (*) указывать не обязательно.
2. Выберите Filter (Фильтр).

Фильтр по категории затронутой позиции

1. Чтобы отфильтровать по категории затронутой позиции, выберите значок Category (Категория)  и выберите необходимые варианты из перечисленных ниже.
 -  Пользователь – в отфильтрованном списке отображает действия пользователя и действия по проверке подлинности пользователя.
 -  Запуск – в отфильтрованном списке отображает изменения в параметрах запуска или его статусе.
 -  Анализ – в отфильтрованном списке отображает изменения в параметрах анализа или его статусе.
 -  Система – в отфильтрованном списке отображает действия на уровне системы, например отправку файлов в систему, техническое обслуживание системы или настройки безопасности.
2. Выберите Filter (Фильтр).

Экспорт журналов регистрации событий





1. В навигационной строке информационной панели выберите меню Tools (Инструменты), а затем выберите Audit Trails (Журналы регистрации событий).
2. На странице Audit Trails (Журналы регистрации событий) выберите значок Filter (Фильтр) .

3. Примените необходимые фильтры.
4. Выберите значок Export (Экспорт) .

Программное обеспечение сформирует отчет в формате PDF, в котором будут указаны имя пользователя, дата экспорта и параметры фильтра.

Значки журналов регистрации событий

На экране Audit Trails (Журналы регистрации событий) используются следующие значки.

Значок	Ф.И.О.	Описание
	Анализ	Указывает на изменение параметров анализа или статуса анализа.
	Запуск	Указывает на изменение параметров или состояния запуска.
	Система	Указывает на изменение настроек модуля или системы.
	Пользователь	Указывает на действие пользователя или действие аутентификации пользователя.

Поиск и устранение неисправностей

Введение

В случае проблем с качеством запуска или его выполнением обратитесь в отдел технической поддержки компании Illumina. См. [Техническая помощь на странице 90](#).

Проверка системы

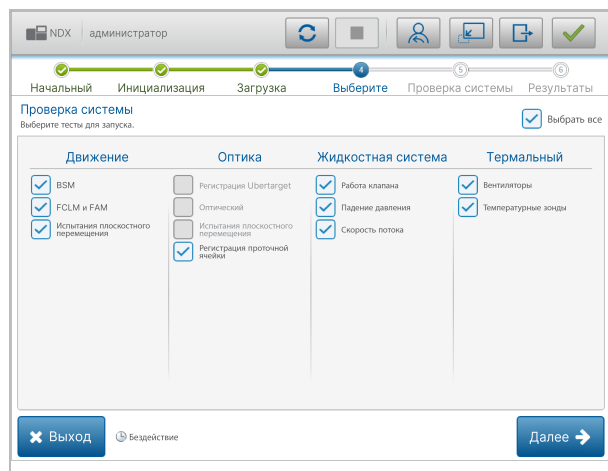
В обычном режиме работы системы или при техническом обслуживании прибора проверка системы не требуется. Однако представитель отдела технической поддержки Illumina может попросить вас выполнить проверку системы для поиска и устранения неисправностей.

ПРИМЕЧАНИЕ Если необходима промывка прибора, выполните промывку перед началом проверки системы.

Запуск проверки системы автоматически приводит к закрытию управляющего программного обеспечения и к запуску служебного программного обеспечения NSS NextSeq 550Dx. Запустится служебное программное обеспечение и откроется экран загрузки, который настроен на использование опции расширенной загрузки.

Чтобы войти в систему сервисного программного обеспечения, используйте учетные данные администратора для Local Run Manager перед появлением экрана загрузки.

Рисунок 23 Имеющиеся системные проверки



Недоступные для работы с ними поля опций на экране Select (Выбор) означают, что соответствующие проверки могут быть проведены только при условии помощи выездного специалиста компании Illumina.

Выполнение проверки системы

1. На экране Manage Instrument (Управление прибором) выберите System check (Проверка системы). Когда появится указание закрыть NOS, выберите Yes (Да).
2. Загрузите расходные материалы, как описано далее.
 - a. Если в приборе еще нет использованной проточной ячейки, загрузите использованную проточную ячейку.
 - b. Опорожните контейнер с использованными реагентами и верните его в прибор.
 - c. Поместите 120 мл ультрачистой воды в центральную емкость картриджа для промывочного буфера и загрузите его.
 - d. Загрузите картридж для промывочного реагента. Убедитесь, что картридж для промывочного реагента пустой и чистый.
3. Нажмите Load (Загрузка). Программное обеспечение переместит проточную ячейку и картридж для промывочного реагента в нужное положение. Нажмите Next (Далее).
4. Нажмите Next (Далее). Начнется проверка системы.
5. [Необязательно] По завершении проверки системы нажмите View (Просмотр) рядом с названием проверки, чтобы просмотреть значения для каждой проверки.
6. Нажмите Next (Далее). Откроется отчет о проверке системы.
7. Нажмите Save (Сохранить), чтобы сохранить отчет в архивированном файле. Чтобы сохранить файл, выберите нужное место в сети.
8. По окончании нажмите Exit (Выход).
9. Когда появится указание закрыть сервисное программное обеспечение и перезапустить NOS, выберите Yes (Да). Управляющее программное обеспечение перезапустится автоматически.

Проверки движения

Проверка системы	Описание
BSM	Проверяет усиление и расстояние для механизма подачи буфера (BSM, Buffer Straw Mechanism) для подтверждения правильности работы модуля.
FCLM и FAM	Проверяет усиление и расстояние для механизма загрузки проточной ячейки (FCLM, Flow Cell Load Mechanism) и модуля автоматизации работы с жидкостями (FAM, Fluid Automation Module) для подтверждения правильности работы модулей.
Stage Tests (Испытания плоскостного перемещения)	Проверяет пределы перемещения и производительность в плоскости XY и по 6 вертикальным осям (осям Z), по 1 для каждой камеры.

Проверка оптики

Проверка системы	Описание
Flow Cell Registration (Регистрация проточной ячейки)	Измеряет наклон проточной ячейки в оптической плоскости, проверяет работу камеры, тестирует модуль визуализации и проверяет регистрацию проточной ячейки в правильном положении для визуализации.

Проверки жидкостных систем

Проверка системы	Описание
Valve Response (Работа клапана)	Проверяет точность движений клапана и насоса, а также испытывает диапазон движения шприцевого насоса.
Pressure Decay (Падение давления)	Проверяет скорость утечки из герметизированной жидкостной системы, что подтверждает правильность установки проточной ячейки в положении для секвенирования.
Flow Rate (Скорость потока)	Проверяет функциональность датчиков пузырьков, используемых для выявления воздуха в линиях реагентов. Измеряет скорости потока для проверки наличия закупорок или утечек.

Проверки температуры

Проверка системы	Описание
Fans (Вентиляторы)	Проверяет скорость вентиляторов системы в импульсах в минуту (PPM, pulse per minute) для подтверждения работы вентиляторов. Неисправные вентиляторы дают отрицательное значение.
Thermal Probes (Температурные зонды)	Проверяет среднюю температуру каждого температурного датчика. Неисправные температурные датчики дают отрицательное значение.

Файлы поиска и устранения неисправностей

Представитель отдела технической поддержки компании Illumina может запросить у вас копии файлов, относящихся к определенному запуску или определенному сканированию, чтобы провести поиск и устранение неисправностей. Как правило, для поиска и устранения неисправностей используются следующие файлы.

Файлы поиска и устранения неисправностей в запусках секвенирования

Основной файл	Папка	Описание
Файл с информацией о запуске (RunInfo.xml)	Корневой каталог	Содержит следующую информацию: <ul style="list-style-type: none"> • Run name (Название запуска) • число циклов в запуске секвенирования; • число циклов в каждом прочтении; • является ли прочтение прочтением индекса; • число полос и областей сканирования в поточной ячейке.
Файл параметров запуска (RunParameters.xml)	Корневой каталог	Содержит информацию о параметрах запуска и компонентах запуска. В информацию входят RFID, серийный номер, номер по каталогу и дата истечения срока годности.
Файл конфигурации RTA (RTAConfiguration.xml)	Корневой каталог	Содержит настройки конфигурации RTA для запуска. Файл RTAConfiguration.xml создается в начале запуска секвенирования.
Файлы InterOp (*.bin)	InterOp	Двоичные файлы отчетов. Файлы InterOp обновляются по мере выполнения запуска.
Файлы журнала	Logs (Журналы)	Файлы журнала описывают каждый шаг, выполненный прибором для каждого запуска, и содержат список версий программного и аппаратного обеспечения, использовавшихся для запуска. В файле [InstrumentName]_CurrentHardware.csv содержится список серийных номеров компонентов прибора.
Файлы журнала ошибок (*ErrorLog*.txt)	Журналы RTA	Журнал ошибок RTA. Файлы журнала ошибок обновляются каждый раз после возникновения ошибки.

Основной файл	Папка	Описание
Файлы глобального журнала (*GlobalLog*.tsv)	Журналы RTA	Журнал всех событий в RTA. Файлы глобального журнала обновляются по мере выполнения запуска.
Файлы журнала дорожки (*LaneLog*.txt)	Журналы RTA	Журнал событий в RTA, возникших в связи с обработкой. Файлы журнала дорожки обновляются по мере выполнения запуска.

Ошибки RTA

Для поиска и исправления ошибок RTA вначале проверьте журнал ошибок RTA, хранящийся в папке RTALogs. Данный файл отсутствует для успешных запусков. Обращаясь в отдел технической поддержки компании Illumina в случае проблем, включите в сообщение отчет об ошибках.

Исправление ошибок автоматической проверки

Если во время автоматической проверки возникают ошибки, примите указанные далее рекомендуемые меры по их устранению.

Проверки по запускам секвенирования

В случае сбоя проверки перед запуском RFID картриджа с реагентами не блокируется и может быть использован для последующего запуска. Однако во время инициализации управляющего программного обеспечения блокируются RFID проточной ячейки, картриджа с реагентами и картриджа с буфером, которые могут потребоваться для устранения ошибки. Поэтому перед перезапуском системы необходимо извлечь из прибора проточную ячейку, картридж с реагентами и картридж с буфером. Кроме того, после прокола крышек из фольги блокируются RFID расходных материалов. После считывания RFID проточной ячейки программным обеспечением запускается 7-часовой таймер, прежде чем проточная ячейка считается заблокированной и непригодной для использования.

Системные проверки	Рекомендованное действие
Doors Closed (Дверцы закрыты)	Убедитесь, что дверцы отсеков закрыты.

Системные проверки	Рекомендованное действие
Consumables Loaded (Расходные материалы загружены)	Датчики расходных материалов не выполняют регистрацию. Убедитесь, что все расходные материалы загружены надлежащим образом. На экранах подготовки запуска нажмите Back (Назад), чтобы вернуться к этапу загрузки, и повторите этапы подготовки запуска.
Required Software (Необходимое программное обеспечение)	Критические компоненты программного обеспечения отсутствуют. Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Instrument Disk Space (Дисковое пространство прибора)	На жестком диске прибора недостаточно свободного места для выполнения запуска. Возможно, данные предыдущего запуска остались неперенесенными. Удалите данные запуска с жесткого диска прибора.
Сетевое подключение	Сетевое соединение было нарушено. Проверьте состояние сети и наличие физического соединения с сетью.
Network Disk Space (Дисковое пространство в сети)	Сетевой сервер заполнен.
Температура	Рекомендованное действие
Температура	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Temperature Sensors (Датчики температуры)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Fans (Вентиляторы)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Система визуализации	Рекомендованное действие
Imaging Limits (Пределы визуализации)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

Система визуализации	Рекомендованное действие
Z Steps-and-Settle (Передвижения и остановки по оси Z)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Bit Error Rate (Частота ошибок по битам)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Flow Cell Registration (Регистрация проточной ячейки)	<p>Возможно, проточная ячейка установлена неправильно.</p> <ul style="list-style-type: none"> На экранах подготовки запуска нажмите Back (Назад), чтобы вернуться к этапу загрузки проточной ячейки. Откроется дверца отсека визуализации. Извлеките и вновь установите проточную ячейку, чтобы убедиться в правильности ее размещения.
Подача реагентов	Рекомендованное действие
Valve Response (Работа клапана)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Pump (Насос)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Buffer Mechanism (Буферный механизм)	Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.
Spent Reagents Empty (Удаление использованных реагентов)	Опорожните контейнер с использованными реагентами и повторно загрузите пустой контейнер.

Контейнер с использованными реагентами заполнен

Всегда начинайте запуск с пустым контейнером для использованных реагентов.

Если начать запуск, не опорожнив контейнер с использованными реагентами, датчики системы подадут программному обеспечению сигнал о приостановке запуска в случае заполнения контейнера. Датчики системы не инициируют приостановку запуска во время кластеризации, ресинтезирования парных концевых фрагментов или автоматической промывки после запуска.

При приостановке выполнения запуска откроется диалоговое окно с предложением поднять сипперные трубки и опорожнить полный контейнер.

Опорожнение контейнера с использованными реагентами

1. Нажмите Raise Sippers (Поднять сипперные трубки).
2. Извлеките контейнер с использованными реагентами и утилизируйте содержимое надлежащим образом.
3. Установите пустой контейнер обратно в буферный отсек.
4. Нажмите Continue (Продолжить). Запуск возобновится автоматически.

Сообщение об ошибке RAID

Компьютер NextSeq 550Dx оснащен четырьмя жесткими дисками: двумя для режима диагностики и двумя для режима исследования. Если происходит сбой жесткого диска, система создает сообщение об ошибке RAID и предлагает обратиться в службу технической поддержки компании Illumina. Обычно в таком случае требуется замена жесткого диска.

Можно продолжить выполнение этапов подготовки запуска и эксплуатировать прибор как обычно. Цель появления этого сообщения состоит в напоминании о необходимости запланировать техническое обслуживание, чтобы предотвратить нарушения в ходе обычной работы прибора. Предупреждение RAID может быть подтверждено только администратором. Использование прибора только с одним жестким диском может привести к потере данных.

Ошибка сетевого хранения

Ошибки сетевого хранения могут возникать по одной из следующих причин.

- Недостаточно дискового пространства для папки выходных данных – увеличьте объем памяти на запоминающем устройстве или переместите папку выходных данных в место хранения с достаточным объемом дискового пространства.
- Не получается связаться с сетевым хранилищем – проверьте правильность пути к папке выходных данных. См. [Настройка папки выходных данных по умолчанию на странице 26](#).
- Система не может сохранить данные в сетевом хранилище – обратитесь к системному администратору для проверки прав доступа. Учетной записи Windows в операционной системе прибора требуется право доступа к папке выходных данных для чтения и записи данных.

Учетной записи Windows в Local Run Manager также требуется право доступа к папке выходных данных для прочтения и записи данных. См. [Настройка учетных записей служб системы на странице 58](#).

Конфигурирование настроек системы

Конфигурирование системы осуществляется во время ее установки. Однако если требуется изменение настроек или реконфигурация системы, воспользуйтесь опциями конфигурирования системы. Только учетная запись администратора Windows имеет разрешение на доступ к параметрам конфигурации системы.

- Конфигурация сети – содержит опции для настройки IP-адреса, адреса сервера доменных имен (DNS, domain name server), имени компьютера и доменного имени.

Настройка сетевой конфигурации

1. На экране Manage Instrument (Управление прибором) выберите System configuration (Конфигурация системы).
2. Выберите Obtain an IP address automatically (Получать IP-адрес автоматически), чтобы получать IP-адрес от сервера с протоколом динамической настройки узла (DHCP, Dynamic Host Configuration Protocol).

ПРИМЕЧАНИЕ DHCP является стандартным сетевым протоколом, используемым IP-сетями для динамического распределения параметров конфигурации сети.

Или же выберите Use the following IP address (Использовать следующий IP-адрес) для подключения прибора к другому серверу вручную, как описано далее. Для получения адресов, используемых в конкретном учреждении, обратитесь к сетевому администратору.

- Введите IP-адрес. IP-адрес представляет собой серию из 4 цифр, разделенных точкой, например 168.62.20.37.
 - Введите маску подсети, являющейся частью сети IP.
 - Введите используемый по умолчанию шлюз, являющийся маршрутизатором сети, подключенной к Интернету.
3. Выберите Obtain a DNS server address automatically (Получить адрес сервера DNS автоматически), чтобы подключить прибор к серверу доменных имен, связанных с IP-адресом.

Или же выберите Use the following DNS server addresses (Использовать следующие адреса сервера DNS), чтобы подключить прибор к серверу доменных имен вручную, как описано далее.

- Введите желаемый адрес DNS. Адрес DNS – это имя сервера, используемого для преобразования доменных имен в IP-адреса.
 - Укажите альтернативный адрес DNS-сервера. Дополнительный адрес используется, если желаемый DNS не преобразует конкретное доменное имя в IP-адрес.
4. Нажмите Save (Сохранить), чтобы перейти к следующему экрану Computer (Компьютер).

ПРИМЕЧАНИЕ Имя компьютера прибора присваивается компьютеру прибора во время его изготовления. Любые изменения имени компьютера могут повлиять на возможность подключения и требуют участия сетевого администратора.

5. Подключите компьютер прибора к домену или рабочей группе, как описано далее.

- Для приборов, подключенных к сети Интернет – выберите Member of domain (Член домена), затем введите название домена, относящееся к интернет-соединению учреждения. Для изменения домена требуется ввод имени пользователя и пароля сетевого администратора.
 - Для приборов, не подключенных к сети Интернет – выберите Member of work group (Член рабочей группы) и введите название рабочей группы. Название рабочей группы уникально для учреждения.
6. Нажмите Save (Сохранить).

Анализ в режиме реального времени (Real-Time Analysis)

Обзор программного обеспечения в режиме реального времени (Real-Time Analysis)

Прибор NextSeq 550Dx использует реализацию Real-Time Analysis (RTA) программного обеспечения под названием RTA2. RTA2 работает на компьютере прибора и извлекает интенсивности из изображений, выполняет распознавание оснований и присваивает балл качества распознаванию основания, RTA2 а операционное программное обеспечение обменивается данными через веб-интерфейс HTTP и общие файлы памяти. Если прекратить работу программы RTA2, обработка не возобновится и данные запуска сохранены не будут.

Входные данные RTA2

Для выполнения обработки RTA2 требует наличия следующих данных на входе:

- Изображения областей сканирования, хранящиеся в локальной памяти системы.
- `RunInfo.xml`, который генерируется автоматически в начале запуска и содержит название запуска, количество запусков, индексируется ли считывание и количество областей сканирования на проточной ячейке.
- `RTA.exe.config`, файл конфигурации программного обеспечения в формате XML.

RTA2 получает команды от управляющего программного обеспечения в отношении места расположения файла `RunInfo.xml` и относительно того, указано ли иное расположение папки для выходных данных.

Файлы выходных данных в RTA v2

Изображения по каждому каналу передаются в память в виде областей сканирования. Области сканирования – это небольшие области визуализации проточной ячейки, определяемые как поле обзора камеры. Из этих изображений средствами программного обеспечения создаются выходные данные, представляющие собой набор файлов распознанных оснований с показателями качества и файлов фильтра. Все остальные файлы представляют собой вспомогательные выходные файлы.

Тип файла	Описание
Файлы распознанных оснований	Каждая проанализированная область сканирования включается в объединенные файлы распознанных оснований (*.bcl.bgzf) для каждой дорожки и каждого цикла. Объединенные файлы распознанных оснований содержат информацию о распознавании основания и соответствующем показателе качества для каждого кластера в этой дорожке.
Файлы фильтра	От каждой области сканирования система получает информацию фильтра, объединяемую в 1 файл фильтра (*.filter) для каждой дорожки. В файлах фильтра указывается, прошли ли кластеры через фильтры.
Файлы расположения кластеров	Файлы расположения кластеров (*.locs) содержат координаты X и Y каждого кластера в области сканирования. Во время создания матрицы для каждой дорожки создается файл расположения кластера.
Файлы индекса определения оснований	Для сохранения исходной информации областей сканирования для каждой дорожки создается файл индексов распознанных оснований (*.bcj). Файл индексов содержит пары значений для каждой области сканирования (номер области сканирования и число кластеров в ней).

RTA2 в режиме реального времени предоставляет числовые показатели для оценки качества запуска; они сохраняются как файлы InterOp. Файлы InterOp представляют собой двоичные выходные данные, содержащие показатели области сканирования, цикла и уровня прочтения.

Обработка ошибок

Программное обеспечение RTA2 создает файлы журнала и записывает их в папку RTALogs. Ошибки регистрируются в файле ошибок в формате *.tsv.

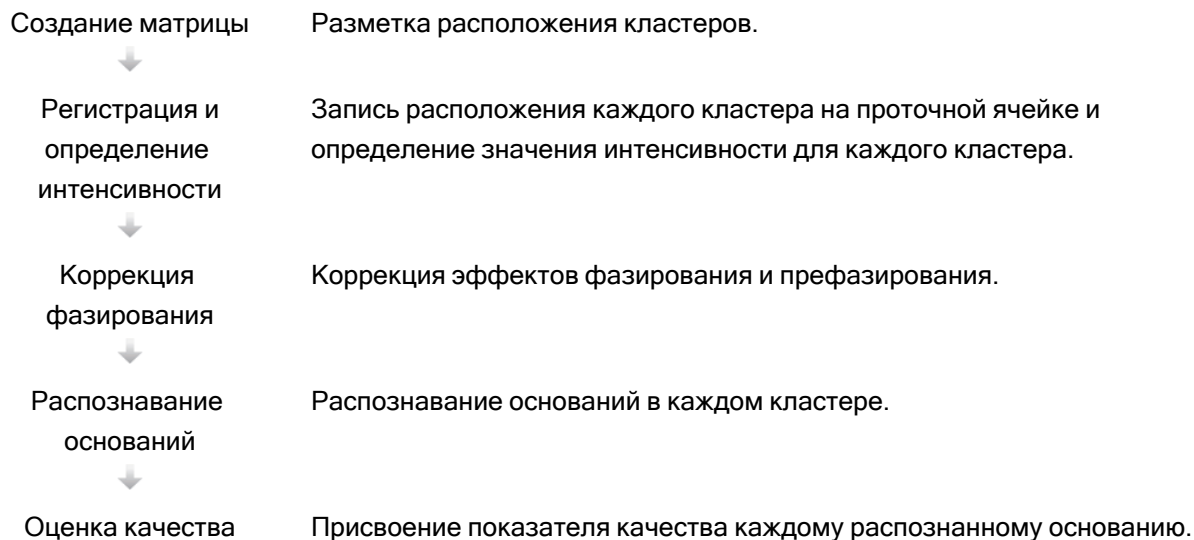
В конце обработки указанные ниже файлы журнала и ошибок переносятся в окончательное место размещения выходных данных:

- *GlobalLog*.tsv: содержит сводку важных событий в запуске.
- *LaneNLog*.tsv: содержит список событий обработки для каждой дорожки.
- *Error*.tsv: содержит список ошибок, возникших в ходе запуска.
- *WarningLog*.tsv: содержит список предупреждений, выданных в ходе запуска.

Universal Copy Service

NextSeq 550Dx включает универсальную службу копирования (Universal Copy Service). Программное обеспечение RTA2 отправляет в службу запрос на копирование файлов из исходного местоположения в целевое местоположение, и служба обрабатывает запросы на копирование в порядке получения. Если имеет место исключение, посылается повторный запрос на копирование файла, исходя из числа файлов в очереди на копирование.

Рабочий процесс анализа в режиме реального времени (Real-Time Analysis)



Создание матрицы

Первый этап рабочего процесса программного обеспечения RTA заключается в создании матрицы, которая определяет положение каждого кластера в области сканирования, используя координаты X и Y.

Для создания матрицы используются данные изображений, полученные в первых 5 циклах запуска. Матрица создается после визуализации областей сканирования последнего цикла формирования матрицы.

ПРИМЕЧАНИЕ Для выявления кластера во время создания матрицы в первых 5 циклах необходимо хотя бы 1 основание, отличное от G. Для индексных последовательностей RTA2 требует наличия не менее одного основания, отличного от G, в первых 2 циклах.

Матрица используется как эталон на последующих этапах регистрации и определения интенсивности. Положения кластеров для всей проточной ячейки записываются в файлы положения кластеров (*.locs), по 1 файлу на дорожку.

Регистрация и определение интенсивности

Регистрация и определение интенсивности начинаются после создания матрицы.

- Регистрация совмещает изображения, полученные при каждом последующем цикле визуализации, с матрицей.

- Определение интенсивности позволяет измерить значение интенсивности для каждого кластера в матрице для данного изображения.

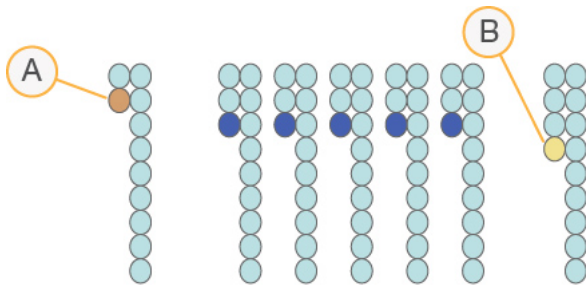
В случае сбоя регистрации для любого изображения в цикле для этой области сканирования в данном цикле распознанные основания не генерируются.

Коррекция фазирования

Во время реакции секвенирования каждая цепочка ДНК в кластере удлиняется на 1 основание за цикл. Фазирование и префазирование происходят, когда цепочка выбивается из фазы текущего цикла встраивания оснований.

- Фазирование происходит в случае недостающего основания.
- Префазирование происходит в случае присоединения лишнего основания.

Рисунок 24 Фазирование и префазирование



- A. Прочтение с недостающим основанием при фазировании
- B. Прочтение с лишним основанием при префазировании.

Программное обеспечение RTA2 позволяет исправлять эффекты фазирования и префазирования, что повышает качество данных на каждом отдельном цикле во время всего запуска.

Распознавание оснований

В процессе определения последовательности нуклеотидов для каждого кластера данной области сканирования в конкретном цикле определяется основание (A, C, G или T). В системе Прибор NextSeq 550Dx используется 2-канальное секвенирование, при котором нужны только 2 изображения для кодирования всех 4 оснований ДНК: одно изображение из красного канала и одно из зеленого канала.

В результате извлечения значений интенсивности из изображения после сравнения с результатами другого изображения будут получены 4 разные популяции, каждая из которых соответствует отдельному нуклеотиду. Процесс распознавания оснований позволяет установить, к какой популяции принадлежит каждый кластер.

Рисунок 25 Визуализация значений интенсивности кластера

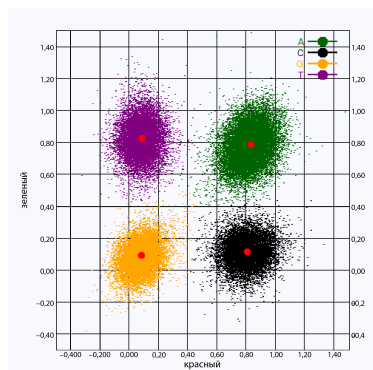


Таблица: 1 Распознавание оснований при двухканальном секвенировании

Основание	Красный канал	Зеленый канал	Результат
A	1 (есть)	1 (есть)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал и в красном, и в зеленом каналах.
C	1 (есть)	0 (нет)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал только в красном канале.
G	0 (нет)	0 (нет)	Кластеры, не дающие интенсивного сигнала в известном положении.
T	0 (нет)	1 (есть)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал только в зеленом канале.

Кластеры, проходящие через фильтр

Во время запуска RTA2 отфильтровывает исходные данные, удаляя результаты прочтений, не соответствующих пороговому показателю качества данных. Перекрывающиеся кластеры и кластеры низкого качества удаляются.

Для 2-канального анализа при определении чистоты распознавания оснований RTA2 использует систему на основе популяции кластеров. Кластеры проходят через фильтр (PF), если в первых 25 циклах не более одного основания оказывается распознано со значением чистоты $< 0,63$. Для кластеров, не прошедших через фильтр, распознавание оснований не выполняется.

Замечания по индексированию

Процесс распознавания оснований в ходе прочтения индекса отличается от распознавания оснований в ходе других прочтений.

Прочтения индекса должны начинаться в случае, когда в первых 2 циклах обнаружено хотя бы 1 основание, отличное от G. Если прочтение индекса начинается с 2 оснований, распознанных как G, интенсивность сигнала не генерируется. Чтобы обеспечить выполнение демультимплексирования, сигнал должен присутствовать хотя бы в одном из 2 первых циклов.

Для повышения устойчивости демультимплексирования выбирайте индексные последовательности, обеспечивающие сигнал хотя бы в 1 канале (предпочтительно в обоих каналах) в каждом цикле.

Следование этому правилу позволит избежать комбинаций индекса, состоящих только из оснований G в любом цикле.

- Красный канал – A или C
- Зеленый канал – A или T

Такой процесс распознавания оснований обеспечивает точность при анализе малоплексных образцов.

Оценка качества

Показатель качества (показатель Q) представляет собой оценку вероятности неверного распознавания основания. Чем выше показатель Q, тем выше качество распознавания основания и тем вероятнее получение правильного результата.

Величина показателя Q представляет собой компактный способ описания низких вероятностей ошибки. Показатели качества имеют вид Q(X), где X – это значение показателя. В приведенной ниже таблице показана связь между показателем качества и вероятностью ошибки.

Показатель качества Q(X)	Вероятность ошибки
Q40	0,0001 (1 к 10 000)
Q30	0,001 (1 к 1000)
Q20	0,01 (1 к 100)
Q10	0,1 (1 к 10)

ПРИМЕЧАНИЕ Оценка качества основана на модифицированной версии алгоритма Phred.

При оценке качества вычисляется набор предикторов для каждого распознанного основания, а затем значения предикторов используются для определения показателя Q по таблице качества. Таблицы качества созданы для обеспечения оптимально точного прогноза качества для запусков, выполняемых с использованием конкретной конфигурации платформы секвенирования и версии химической реакции.

После определения значения Q результаты регистрируются в файлах распознанных оснований (*.bcl.bgzf).

Файлы и папки выходных данных

Структура папки выходных данных

Управляющее программное обеспечение создает название папки выходных данных автоматически.

📁 Data

📁 Intensities

📁 BaseCalls

📁 L001 – файлы распознанных оснований для дорожки номер 1; данные объединяются в один файл за цикл.

📁 L002 – файлы распознанных оснований для дорожки номер 2; данные объединяются в один файл за цикл.

📁 L003 – файлы распознанных оснований для дорожки номер 3; данные объединяются в один файл за цикл.

📁 L004 – файлы распознанных оснований для дорожки номер 4; данные объединяются в один файл за цикл.

📁 L001 – объединенный файл *.locs для дорожки 1.

📁 L002 – объединенный файл *.locs для дорожки 2.

📁 L003 – объединенный файл *.locs для дорожки 3.

📁 L004 – объединенный файл *.locs для дорожки 4.

📁 Images

📁 Focus

📁 L001 – изображения фокуса для дорожки 1.

📁 L002 – изображения фокуса для дорожки 2.

📁 L003 – изображения фокуса для дорожки 3.

📁 L004 – изображения фокуса для дорожки 4.

📁 InterOp – двоичные файлы.


📁 Logs – файлы журналов, описывающие этапы эксплуатации.

📁 Recipe – специфический для запуска секвенирования файл с набором параметров и идентификационным номером картриджа с реагентами.

📁 RTALogs – файлы журналов, описывающие этапы анализа.

📄 RTAComplete.txt

📄 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

Файлы выходных данных секвенирования

Тип файла	Описание, место расположения и имя файла
Файлы распознанных оснований	<p>Каждая проанализированная область сканирования включается в файл распознанных оснований с объединением в 1 файл данных для каждой дорожки и каждого цикла. Объединенные файлы содержат информацию о распознавании основания и зашифрованный показатель качества для каждого кластера в этой дорожке.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L00 [X] – файлы сохраняются в папках, по 1 папке для каждой дорожки.</p> <p>[Cycle].bcl.bgzf, где [Cycle] означает 4-значный номер цикла. Файлы распознанных оснований сжимаются с использованием алгоритма блочного сжатия gzip</p>
Файл индексов распознавания оснований	<p>Для каждой дорожки в двоичном файле индекса перечисляется исходная информация областей сканирования в форме пар значений для каждой области сканирования (номер области сканирования и число кластеров в ней).</p> <p>Файлы индексов распознанных оснований создаются при первом создании файла распознанных оснований этой дорожки.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L00 [X] – файлы сохраняются в папках, по 1 папке для каждой дорожки.</p> <p>s_[lane].bci</p>
Файлы расположения кластеров	<p>Координаты X и Y каждого кластера каждой области сканирования объединяются в 1 файл расположения кластера для каждой дорожки. Файлы расположения кластеров являются результатом создания матрицы.</p> <p>Data\Intensities\L00 [X] – файлы сохраняются в папках, по 1 папке для каждой дорожки.</p> <p>s_[lane].locs</p>
Файлы фильтра	<p>В файлах фильтра указывается, прошли ли кластеры через фильтры. Информация о прохождении фильтра объединяется в 1 файл фильтра для каждой дорожки и прочтения.</p> <p>Файлы фильтра создаются на 26-м цикле с использованием данных 25 циклов.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L00 [X] – файлы сохраняются в папках, по 1 папке для каждой дорожки.</p> <p>s_[lane].filter</p>
Файлы InterOp	<p>Двоичные файлы отчетов. Файлы InterOp обновляются по мере выполнения запуска.</p> <p>Папка InterOp</p>

Тип файла	Описание, место расположения и имя файла
Файл конфигурации RTA	Файл конфигурации RTA создается в начале запуска секвенирования; в нем перечисляются настройки для запуска секвенирования. [Название папки запуска], RTAConfiguration.xml
Файл с информацией о запуске	Содержит название запуска, число циклов в каждом прочтении, указание на то, является ли прочтение прочтением индекса, а также число полос и областей сканирования на проточной ячейке. Файл с информацией о запуске создается в начале запуска. [Корневой каталог], RunInfo.xml

Области сканирования поточной кюветы

Области сканирования – это небольшие области визуализации проточной ячейки, определяемые как поле обзора камеры. Общее число областей сканирования зависит от числа дорожек, полос и поверхностей, визуализируемых на проточной ячейке, и того, как взаимодействуют между собой камеры, получающие изображения. В высокопроизводительных проточных ячейках всего имеется 864 области сканирования.

Таблица: 2 Области сканирования поточной кюветы

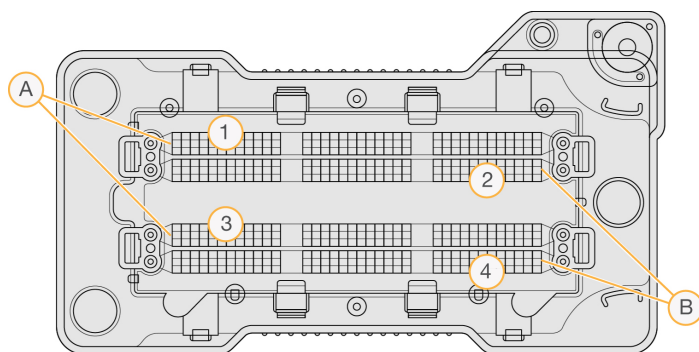
Компонент поточной ячейки	Высокая производительность	Описание
Дорожки	4	Дорожка – это физический канал с собственными портами входа и выхода.
Поверхности	2	Проточная ячейка визуализируется по 2 поверхностям: верхней и нижней. Вначале визуализируется верхняя поверхность одной области сканирования, затем нижняя поверхность той же области сканирования, после этого осуществляется переход к следующей области сканирования.
Число полос на дорожку	3	Полоса – это столбец областей сканирования в дорожке.
Сегменты камеры	3	В приборе используется 6 камер для получения изображений проточной ячейки в 3 сегментах по каждой дорожке.

Компонент поточной ячейки	Высокая производительность	Описание
Число областей сканирования на полосу на сегмент камеры	12	Область сканирования – это часть площади проточной ячейки, которую камера показывает как одно изображение.
Общее число визуализируемых областей сканирования	864	Общее число областей сканирования равно: дорожки × поверхности × полосы × сегменты камеры × области сканирования на полосу на сегмент.

Нумерация дорожек

Дорожки 1 и 3, называемые парой дорожек А, визуализируются одновременно. Дорожки 2 и 4, называемые парой дорожек В, визуализируются, когда завершится получение изображения пары дорожек А.

Рисунок 26 Нумерация дорожек

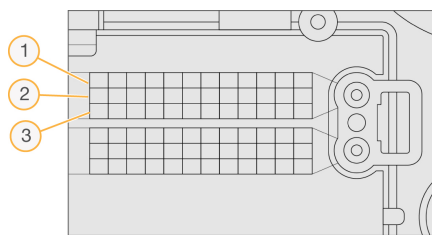


- А. Пара дорожек А – дорожки 1 и 3
- В. Пара дорожек В – дорожки 2 и 4

Нумерация полос

Каждая дорожка визуализируется в 3 полосы. Для проточных ячеек с высокой производительностью полосы нумеруются с 1 по 3.

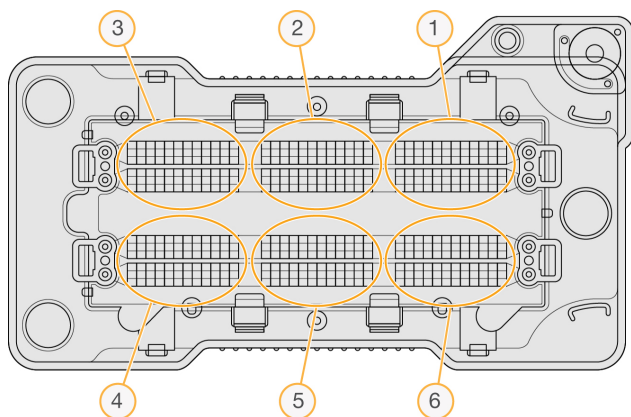
Рисунок 27 Нумерация полос



Нумерация камер

В приборе Прибор NextSeq 550Dx используется шесть камер для визуализации проточной ячейки. Камеры пронумерованы от 1 до 6. Камеры 1-3 дают изображения дорожки номер 1. Камеры 4-6 дают изображения дорожки номер 3. После завершения визуализации дорожек 1 и 3 модуль визуализации сдвигается по оси X и начинает визуализировать дорожки 2 и 4.

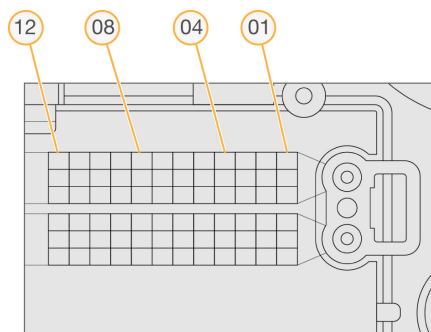
Рисунок 28 Нумерация камер и сегментов (показана проточная ячейка с высокой производительностью)



Нумерация областей сканирования

В каждой полосе каждого сегмента камеры имеется 12 областей сканирования. Области сканирования имеют номер с 01 по 12 независимо от номера полосы или сегмента камеры; номер области сканирования состоит из 2 цифр.

Рисунок 29 Нумерация областей сканирования



Полный номер области сканирования включает 5 цифр, которые представляют ее положение, как указано далее.

- Поверхность – 1 означает верхнюю поверхность; 2 означает нижнюю поверхность.
- Полоса – 1, 2 или 3.
- Камера – 1, 2, 3, 4, 5 или 6.
- Область сканирования – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 или 12.

Пример: Номер области сканирования 12508 означает верхнюю поверхность, полосу 2, камеру 5 и область сканирования 8.

Полный пятизначный номер области сканирования используется в названиях файлов миниатюр изображений и файлов эмпирической коррекции фазирования. Для получения дополнительной информации см. [Файлы выходных данных секвенирования на странице 80](#).

Индекс

L

Local Run Manager
 значки 16
 параметры модуля 58
 пароли пользователей 20
 просмотр 14-15

R

RunInfo.xml 65, 80-81

U

Universal Copy Service 73

W

Windows
 выход 28
 доступ 12

A

алгоритм Phred 77
анализ
 выходные выходных данных 80
 перезапуск 44
 просмотр результатов 41
анализ, первичный 76
аудио 25

Б

буферный отсек 3

В

вероятность ошибки 77

визуализация, двухканальное
 секвенирование 75
вкладка Sequencing Information (Информация
 о секвенировании) 42
воздушный фильтр 4, 51
время ожидания системы 57
выключение прибора 27
выходные файлы, секвенирование 80

Г

генерация кластеров 29
гипохлорит натрия, промывка 49

Д

данные
 период резервного копирования 57
длина прочтения 29, 31
документация 1, 90

Ж

журналы регистрации событий
 значки 61
 просмотр 59
 фильтр 59
 экспорт 60

З

замечания по индексированию 76
запуск
 запуск установки 25
запуски
 активные 18
 вкладка Run Overview (Обзор запуска) 41
 контакт 19
 поиск 19
 прогресс 39

- редактирование 19
 - скрыть 18
 - фильтр 18
 - значения интенсивности 75
 - значки
 - Local Run Manager 16
 - журналы регистрации событий 61
 - ошибки и предупреждения 12
 - свернуть NCS 12
 - состояние 12
- ## И
- имя пользователя и пароль 23
 - имя пользователя системы и пароль 23
 - использованные реагенты
 - полный контейнер 68
 - утилизация 34, 50
- ## К
- картридж с буфером 8, 36
 - картридж с реагентами
 - емкость № 6 37
 - емкость № 28 49
 - обзор 7
 - клавиатура 25
 - кластеры, проходящие через фильтр 76
 - кнопка питания 4, 23
 - компоненты
 - буферный отсек 3
 - отсек визуализации 3
 - отсек реагентов 3
 - строка состояния 3
- ## М
- местоположение кластера
 - создание матрицы 74
 - местоположение резервного копирования 57
 - моя учетная запись 21

- ## Н
- настройка параметров учетной записи службы 58
 - настройки и задачи администратора 53
 - настройки конфигурации 69
 - нумерация дорожек
 - пары дорожек 82
 - нумерация камер 83
 - нумерация областей сканирования 83
 - нумерация полос 82
- ## О
- образцы
 - вкладка Образцы и результаты 42
 - поиск 19
 - обучение онлайн 1
 - отсек визуализации 3
 - отсек реагентов 3
 - отслеживание RFID 5
 - ошибка сетевого хранения 69
 - ошибки и предупреждения 12, 73
 - ошибки проверки перед запуском 66
- ## П
- папка запуска
 - изменение местоположения 45
 - пересоздать ссылки 20
 - удалить 20
 - установка вывода 26
 - установка местоположения 25-26
 - параметры
 - распознавание оснований 75
 - параметры обслуживания 57
 - параметры системы 24, 56
 - пароли
 - пользователь 20
 - пароль
 - изменение 21
 - истечение срока действия 57
 - попыток разрешено 57

- разблокировать 55
- сброс 55
- создать 55
- состояния 21
- управление 53
- передача данных
 - служба универсального копирования 73
- перезагрузка
 - прибор 26-27
 - режим исследования 27
- перезагрузка в режим исследования 24
- перезапуск 27
- перезапуск анализа 44
- переключатель питания 23
- платформа BaseSpace 1
- поддержка клиентов 90
- поиск и устранение неисправностей
 - контейнер с использованными реагентами 68
 - проверка перед запуском 66
 - проверка системы 62
 - файлы, относящиеся к запуску 65
- показатели Q 77
- помощь, техническая 90
- права доступа пользователя
 - изменение 56
- права пользователя
 - удаление 56
- предупреждения о состоянии 12
- прибор
 - аватар 24
 - выключение 26-27
 - данные о производительности 25
 - запуск 23
 - индикаторы режима 24
 - кнопка питания 4
 - настройки конфигурации 69
 - перезагрузка 26
 - перезапуск 27
 - псевдоним 24
- проверка перед запуском 38
- проверка системы 62
- программное обеспечение
 - анализ изображений, распознавание оснований 11
 - инициализация 23
 - на приборе 11
 - настройки конфигурации 69
 - проверка пространства на диске 11
 - продолжительность запуска 29, 31
 - программное обеспечение Real-Time Analysis 1, 11
 - рабочий процесс 74
 - результаты 80
 - фазирование 75
- продолжительность запуска 29, 31
- продолжительность ожидания в режиме ожидания 57
- промывка
 - автоматическая 45
 - компоненты промывки 47
 - расходные материалы, приобретаемые пользователем 47
 - ручная промывка 47
- промывка после запуска 45
- промывка прибора 47
- пространство на диске
 - проверка 11
- проточная ячейка
 - визуализация 83
 - направляющие штыри 33
 - номер полосы 82
 - нумерация дорожек 82
 - нумерация областей сканирования 83
- обзор 6
- области сканирования 81
- очистка 32
- пары дорожек 6
- типы 1
- упаковка 32
- профилактическое техническое обслуживание 47
- прохождение фильтра (ПФ) 76

Р

рабочий процесс

- гипохлорит натрия 49
- замечания по индексированию 76
- использованные реагенты 34
- картридж с буфером 36
- картридж с реагентами 36
- обзор 30
- подготовка проточной ячейки 32
- проверка перед запуском 38
- продолжительность запуска 29, 31
- проточная ячейка 33
- секвенирование 74
- числовые показатели запуска 39

Рабочий процесс Local Run Manager 15

рабочий процесс секвенирования 30, 74

распознавание оснований 75

- замечания по индексированию 76

расположение кластера

- файлы 80

расходные материалы 5, 8

- запуски секвенирования 9
- картридж с реагентами 7
- проточная ячейка 6
- расходные материалы для промывки 47, 49
- техническое обслуживание прибора 10
- ультрачистая вода 10

расходные материалы, приобретаемые

- пользователем 9-10

реагенты

- комплект 5
- надлежащая утилизация 36

режим RUO 24, 27

С

секвенирование

- введение 29
- расходные материалы, приобретаемые пользователем 9

секвенирование во время анализа 15

служба активного мониторинга Illumina 25

Служба мониторинга Illumina Proactive 25

совместимость

- отслеживание RFID 5
- отслеживание по RFID 7
- проточная ячейка, картридж с реагентами 5

создание матрицы 74

Создание матрицы 74

сообщение об ошибке RAID 69

справка

- документация 1
- строка состояния 3

Т

техническая поддержка 90

техническое обслуживание прибора

- расходные материалы 10

техническое обслуживание,

- профилактическое 47

У

удаление неактивных папок 57

удаление пользователя 56

указания в отношении ультрачистой воды 10

управление инструментом

- выключение 28

управление пользователями 53

управление прибором

- выключение 27

управляющее программное обеспечение 11

Ф

фазирование, предварительное

- фазирование 75

файлы InterOp 65, 81

файлы locs 80

файлы выходных данных 80

файлы распознанных оснований 80

файлы фильтра 80

фильтр чистоты 76
формаид, положение № 6 37
формирование кластеров 40

Ц

циклы в прочтении 29

Ч

числовые показатели
 циклы интенсивности 40
 циклы плотности кластеров 40
числовые показатели запуска 39
чистота сигнала 76

Э

эмпирическое фазирование 75

Техническая помощь

Для получения технической помощи свяжитесь со службой технической поддержки Illumina.

Веб-сайт: www.illumina.com
Электронная почта: techsupport@illumina.com

Паспорта безопасности веществ (SDS) – см. на веб-сайте компании Illumina по адресу support.illumina.com/sds.html.

Документацию о продукции – можно скачать с веб-сайта support.illumina.com.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 США
+1-800-809-ILMN (4566)
+1-858-202-4566 (за пределами Северной
Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands

Спонсор в Австралии
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Австралия

ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO.

© 2023 Illumina, Inc. Все права защищены.

illumina®