

illumina®

# NextSeq 1000 和 2000

## 定序系統指南

ILLUMINA 所屬財產

文件# 1000000109376 v04 CHT

2021 年4 月

**僅供研究使用。不可用於診斷程序。**

此文件與其內容為 Illumina, Inc. 與其分支機構（「Illumina」）之專有財產，僅供客戶針對本文件所述之產品用途於契約規範內使用，不得移作他用。此文件與其內容不得基於其他用途而使用或散播，和/或在未事先取得 Illumina 的書面同意下，以任何方式流通、揭露或複製。Illumina 並未藉由本文件傳遞其專利、商標、版權或任何普通法權利或任何第三方之類似權利的任何授權。

本文件的指示必須由受過適當訓練的合格人員嚴格且明確地遵守，以確保此處所述之產品的適當與安全使用。在使用該產品之前，必須完整閱讀與了解文件的所有內容。

若未全文閱讀並明確遵守此處的所有指示，可能造成產品損壞、人員受傷（包括使用者或其他人），以及其他財產損壞，並導致產品保固失效。

對於不當使用本文所述產品（包括其零件或軟體）而造成的損失，Illumina 不承擔任何責任。

©2021 Illumina, Inc. 保留一切權利。

所有商標均為 Illumina, Inc. 或其各自所有權人所擁有。如需特定商標資訊，請參閱 [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html)。

# 修訂記錄

文件 #	日期	變更內容說明
1000000109376v04	2021 年 4 月	新增匯入基準檔案的指示。 新增 DRAGEN DNA Amplicon 工作流程。 新增 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3 的功能。 新增有關選擇代理伺服器的資訊。 更新的 RSB (含 Tween 20) 運送和存放溫度。 更新的 DRAGEN RNA 工作流程以納入差異基因表現。 更新的定序輸出資料夾結構。 更新的樣本工作表 v2 格式建議。
1000000109376v03	2020 年 11 月	修正的目錄編號。 有關新增使用者的新增資訊。
1000000109376v02	2020 年 10 月	新增的 NextSeq 1000/2000 P3 試劑組。 新增的 DRAGEN Single Cell RNA 工作流程。 新增的 DRAGEN Enrichment 工作流程。 新增的 FASTQ 壓縮選項。 安裝 DRAGEN 管道和授權更新的新增指示。 匯入自訂參考基因組的新增指示。 針對基因庫類型的已更新載入容積和濃度。 更新的基因庫稀釋指示。 自動清除試劑匣的新增指示。 有關循環支援數量的更新資訊。 更新的儀器自訂選項。 更新的「儀器執行設定」指示。 更新的 DRAGEN 定序輸出結構。 有關 DRAGEN QC 報告的新增資訊。 有關從硬碟移除自訂參考基因組的新增資訊。 有關執行系統檢查的新增資訊。 更新的樣本工作表 v2 設定。

文件 #	日期	變更內容說明
1000000109376v01	2020 年 6 月	<p>NextSeq 1000/2000 控制軟體的軟體更新說明。</p> <p>說明指南中雲端、混合、本機及獨立模式的差異。</p> <p>匣的存放和解凍更新指示。</p> <p>有關循環支援數量的更新資訊。</p> <p>設定次要分析的更新指示。</p> <p>更新的試劑組目錄編號。</p> <p>更新的定序協定圖。</p> <p>指定網路磁碟機作為預設輸出資料夾的更新指示。</p> <p>更新的支援基因庫類型表格。</p> <p>匯入自訂參考基因組的新增指示。</p> <p>使用自訂索引組件和自訂基因庫準備組件設定執行的新增指示。</p> <p>更新的使用者帳號和密碼要求。</p> <p>DRAGEN 輸出資料夾結構的新增詳細資訊。</p> <p>從匣中排放用過試劑的說明指示。</p> <p>Q 表格的新增背景資訊。</p> <p>安裝控制軟體更新的更新指示。</p> <p>有關如何將執行重新排入佇列的新增指示。</p> <p>更新 DRAGEN 管道和授權的新增指示。</p> <p>新增的儀器自訂指示。</p> <p>反映新標籤的更新示意圖。</p> <p>將指南中的「門」變更為「擋板」。</p> <p>兩個乙太網路連接埠的新增說明。</p>
1000000109376v00	2020 年 3 月	初版。

# 目錄

系統概覽 .....	1
其他資源 .....	2
儀器硬體 .....	3
整合式軟體 .....	5
流程管理 .....	6
定序協定圖 .....	7
定序的運作方式 .....	7
系統設定 .....	9
使用者帳號要求 .....	9
設定 BaseSpace Sequence Hub 和 Proactive Support .....	11
指定預設輸出資料夾位置 .....	12
匯入自訂參考基因組 .....	15
匯入雜訊基準檔案 .....	15
設定執行模式 .....	16
儀器自訂 .....	17
耗材與設備 .....	19
定序耗材 .....	19
輔助耗材 .....	23
輔助設備 .....	24
協定 .....	25
定序注意事項 .....	25
在 BaseSpace Sequence Hub 中規制定序執行 .....	26
解凍袋裝匣和流通池 .....	33
稀釋基因庫 .....	34
將耗材載入匣 .....	36
初始化定序執行 .....	38
定序輸出 .....	45
即時分析概覽 .....	45
即時分析工作流程 .....	47
定序輸出檔案 .....	50
DRAGEN 次要分析輸出檔案 .....	51
DRAGEN 次要分析輸出資料夾結構 .....	59
維護 .....	62
清除硬碟空間 .....	62
軟體更新 .....	62
DRAGEN 工作流程和授權更新 .....	63

更換空氣濾網 .....	65
疑難排解 .....	67
錯誤訊息解決方案 .....	67
將耗材放回儲存庫 .....	67
取消執行 .....	68
將執行重新排入佇列 .....	68
關閉儀器再重新啟動 .....	69
執行系統檢查 .....	70
還原至原廠設定 .....	70
擷取安裝的映像 .....	70
還原擷取的映像 .....	71
資源與參考資料 .....	72
樣本工作表 v2 設定 .....	72
暗週期定序 .....	81
索引 .....	84
<b>技術協助 .....</b>	<b>91</b>

# 系統概覽

Illumina® NextSeq™ 1000 定序系統和 Illumina® NextSeq™ 2000 定序系統為 NGS<sup>1</sup> 提供標靶式方法。這款以應用程式為主的系統將 Illumina 定序技術包裝成經濟實惠的桌面儀器，並具備下列功能：

- 可用性和可靠性 — NextSeq 1000/2000 具備本機 DRAGEN 分析與機上變性和稀釋功能。系統內建成像模組且耗材內建流體元件，可簡化儀器維護作業。
- 單步驟載入耗材 — 單次使用匣會預先裝入執行所需的各種試劑。基因庫和流通池會直接載入於匣中，然後再載入於儀器上。整合式辨識可準確進行追蹤。
- NextSeq 1000/2000 軟體 — 這套整合式軟體可控制儀器操作、處理影像並產生鹼基判定。
  - 雲端模式 — 使用 BaseSpace Sequence Hub 上的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 規劃您的執行。此模式會在雲端中自動啟動選定的分析工作流程。此外，亦會在雲端中提供執行資料和分析結果。
  - 混合模式 — 使用 BaseSpace Sequence Hub 上的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 規劃您的執行。接著，此模式會透過儀器上 DRAGEN 初始化選定的分析工作流程。
  - 本機模式 — 在本機上使用樣本工作表 v2 檔案格式規劃您的執行。此模式會透過儀器上的 DRAGEN 自動初始化選定的分析工作流程。
  - 獨立模式 — 不使用樣本工作表規劃您的執行。

本節提供系統概覽，包括硬體、軟體及資料分析的相關資訊。其中亦包含貫穿整個說明文件的重要概念和術語。

如需瞭解詳細規格、資料表、應用程式及相關產品，請參閱 Illumina 網站上的 [NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統產品頁面](#)。

---

<sup>1</sup>新一代定序

## 其他資源

Illumina 網站的 [NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統支援頁面](#) 提供其他系統資源。其中包括軟體、訓練、相容產品及下列說明文件。請務必查看支援頁面取得最新版本。

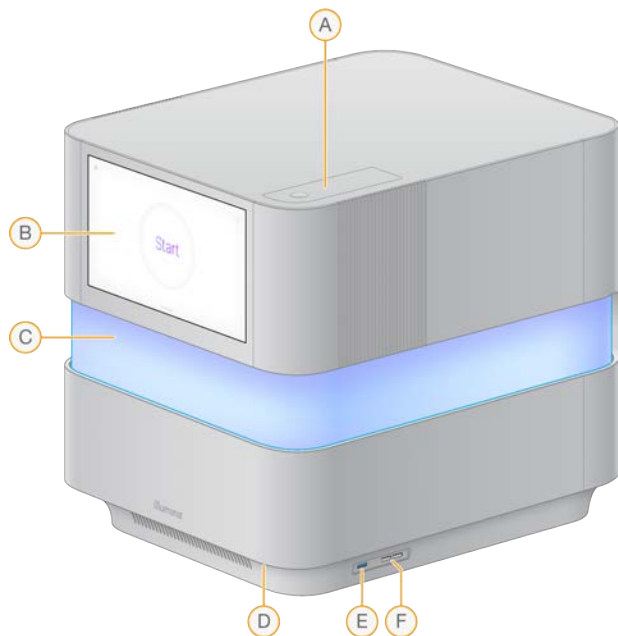
資源	說明
<a href="#">Custom Protocol Selector</a>	用於產生點對點說明的工具，該工具係針對基因庫準備方法、執行參數和分析方法而設計，並附有可進一步提供更詳盡資訊的選項。
<a href="#">NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統安全及合規指南</a> (文件 #1000000111928)	提供有關操作安全注意事項、合規聲明和儀器標籤的資訊。
<a href="#">RFID 讀取器模組合規指南</a> (文件 #1000000002699)	提供有關儀器的 RFID 讀取器、合規認證和安全注意事項的資訊。
<a href="#">NextSeq 1000 和 2000 變性與稀釋基因庫指南</a> (文件 #1000000139235)	提供手動變性和稀釋備妥之基因庫以供定序執行使用的指示，以及準備選用 PhiX 對照的指示。
<a href="#">NextSeq 1000 和 2000 自訂引子指南</a> (文件 #1000000139569)	提供以自訂定序引子取代 Illumina 定序引子的相關資訊。
<a href="#">NextSeq 2000 定序系統現場準備指南</a> (文件 #1000000109378)	提供實驗室空間、電力要求，以及環境和網路的規格考量。
<a href="#">BaseSpace 說明</a> ( <a href="http://help.baspace.illumina.com">help.baspace.illumina.com</a> )	提供有關使用 BaseSpace™ Sequence Hub 和可用分析選項的資訊。
<a href="#">索引轉接集區指南</a> (文件 #1000000041074)	提供集區指導原則和雙索引策略。
<a href="#">Illumina 轉接序列</a> (文件 #1000000002694)	提供 Illumina 基因庫準備組件的轉接序列清單。



## 儀器硬體

NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統包括電源按鈕、監視器、狀態列、耗材室及 USB 連接埠。

圖 1 外部系統元件



- A. 空氣濾網室 — 可使用可更換的空氣濾網
- B. 觸控螢幕監視器 — 啟用儀器上的設定以及使用控制軟體介面進行設定。
- C. 狀態列 — 系統執行工作流程時，指示燈顏色會隨著改變。藍色和紫色表示互動性（例如：執行前檢查），而多個顏色則表示值得注意的時間點和資料（例如：定序完成）。嚴重錯誤會以紅燈表示。
- D. 電源按鈕 — 控制儀器電源，並指出系統是否開啟（亮起）、關閉（熄滅），或者關閉但接上 AC 電源（閃爍）。
- E. 3.0 USB 連接埠 — 可用於連接外部可攜式磁碟機以進行資料轉移。
- F. 2.0 USB 連接埠 — 可用於連接滑鼠和鍵盤。

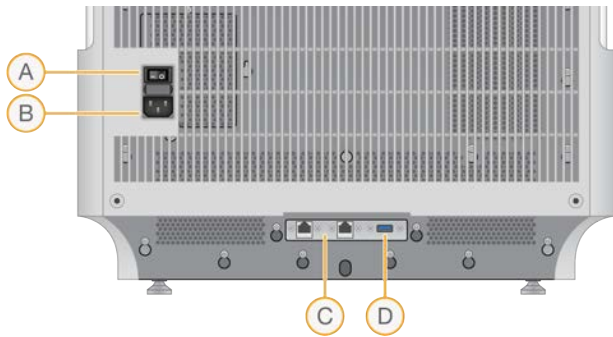
### 電源和輔助連接

您可以輕輕移動儀器以接觸儀器背面的電源開關、USB 連接埠及其他輔助連接。

儀器背面設有可控制儀器電源的開關和連接孔，以及可在選擇連接乙太網路時使用的兩個乙太網路連接埠。3.0 USB 連接埠提供可連接外部可攜式磁碟機以進行資料轉移的選項（此 Linux 平台不支援 exFAT）。

NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統配備兩個乙太網路連接埠，可擴大系統功能和彈性。例如，其中一個乙太網路連接埠可專門用來進行與內部網路磁碟機的通訊，另一個連接埠則可專門用來進行 BaseSpace Sequence Hub 或 Proactive Support 等外部通訊。

圖 2 後側面板元件

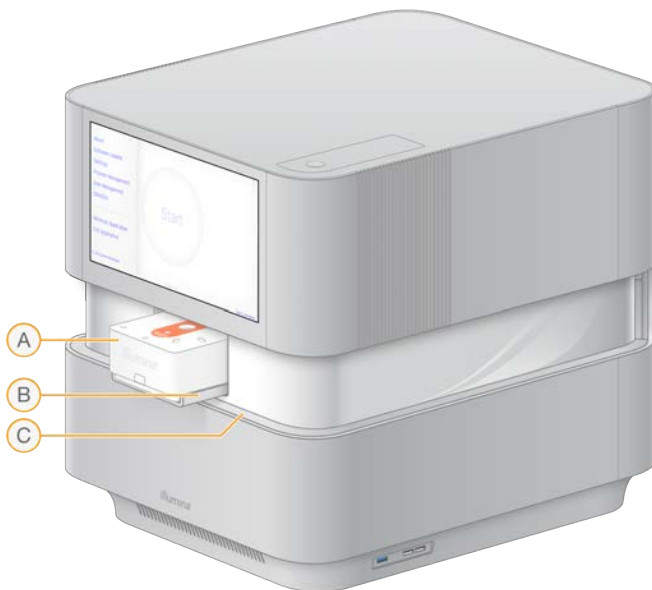


- A. 切換開關 — 開啟和關閉儀器電源。
- B. 電源座 — 連接電源線。
- C. 乙太網路連接埠 (2個) — 可選擇連接乙太網路纜線。
- D. 3.0USB 連接埠 — 可用於連接外部硬碟以進行資料轉移。

## 耗材室

耗材室包含用於定序执行的匣 (包括流通池和稀釋的基因庫)。

圖 3 已載入耗材室



- A. 匣 — 包含流通池、基因庫及試劑，並且收集執行時用過的試劑。
- B. 托盤 — 定序時托住匣。
- C. 擋板 — 開啟後可使用耗材室。

## 整合式軟體

系統軟體套件包括可執行定序執行和分析的整合式應用程式。

- NextSeq 1000/2000 控制軟體 — 控制儀器的操作，並提供用於設定系統、設定定序執行，以及在定序時監控執行統計資料的介面。
- 即時分析 (RTA3) — 可在執行期間執行影像分析和鹼基判定。如需詳細資訊，請參閱第 45 頁 [定序輸出](#)。
- 通用複製服務 (Universal Copy Service) — 將定序輸出檔案從執行資料夾複製到 BaseSpace Sequence Hub (若適用) 和輸出資料夾，您可以從該處加以存取。

控制軟體為互動式，並且可執行自動化背景處理。即時分析和通用複製服務僅限執行背景處理。

### 系統資訊

選擇左上角的控制軟體功能表以開啟 [About (關於)] 區段。[About (關於)] 區段包含 Illumina 聯絡資訊和下列系統資訊：

- 儀器序號
- 公司名稱
- 系統套件版本
- 映像作業系統 版本
- 執行次數總計

### 通知和警示

通知圖示位於右上角。發生警告或錯誤時，右側面板會滑出以顯示通知。隨時選擇圖示即可檢視警告和錯誤的目前或歷史通知清單。

- 警告需要留意，但不會停止執行或要求執行確認以外的其他操作。
- 在開始或繼續執行之前，必須針對錯誤採取行動。

### 控制軟體最小化

將控制軟體最小化以進入其他應用程式。例如，在 [File Explorer (檔案瀏覽器)] 瀏覽至輸出資料夾或找出樣本工作表。

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Minimize Application (最小化應用程式)]。  
控制軟體會最小化。
2. 若要最大化控制軟體，請從工具列中選擇 [NextSeq 1000/2000 Control Software (NextSeq 1000/2000 控制軟體)]。

## 流程管理

[Process Management (流程管理)] 畫面會顯示儲存在 `/usr/local/illumina/runs` 的臨時執行。每個執行都會以執行日期、名稱及 ID 作為識別。此外，亦會顯示每個執行的執行狀態、次要分析、輸出資料夾及雲端等資訊。選擇執行可檢視其他資訊，包括工作流程、Q30 平均百分比、總讀數 PF 及總產量。若要刪除執行並清除空間，請參閱 [第 62 頁 清除硬碟空間](#)。若要將儀器上分析重新排入佇列，請參閱 [第 68 頁 將執行重新排入佇列](#)。

### 執行狀態

此區段顯示定序執行的狀態：

- [In Progress (進行中)] — 定序執行進行中。
- [Complete (完成)] — 定序執行已完成。
- [Stopped (已停止)] — 定序執行已停止。
- [Errored (發生錯誤)] — 定序執行發生錯誤。

### 次要分析狀態

此區段顯示儀器上 DRAGEN 次要分析的狀態。如果分析發生在 BaseSpace Sequence Hub 中，則此處會顯示 N/A。

- [Not Started (未啟動)] — DRAGEN 分析尚未啟動。
- [In Progress (進行中)] — DRAGEN 分析進行中。
- [Stopped (已停止)] — DRAGEN 分析已停止。
- [Errored (發生錯誤)] — DRAGEN 分析發生錯誤。
- [Complete (完成)] — DRAGEN 分析已完成。

### 輸出資料夾狀態

此區段顯示已複製到輸出資料夾之檔案的狀態：

- [In Progress (進行中)] — 檔案正在複製到輸出資料夾。
- [Complete (完成)] — 檔案已成功複製到輸出資料夾。

### 雲端狀態 (BaseSpace Sequence Hub)

此區段顯示透過雲端上傳至 BaseSpace Sequence Hub 之檔案的狀態：

- In Progress (進行中) — 控制軟體正在將檔案上傳至 BaseSpace Sequence Hub。
- [Complete (完成)] — 檔案已成功上傳至 BaseSpace Sequence Hub。

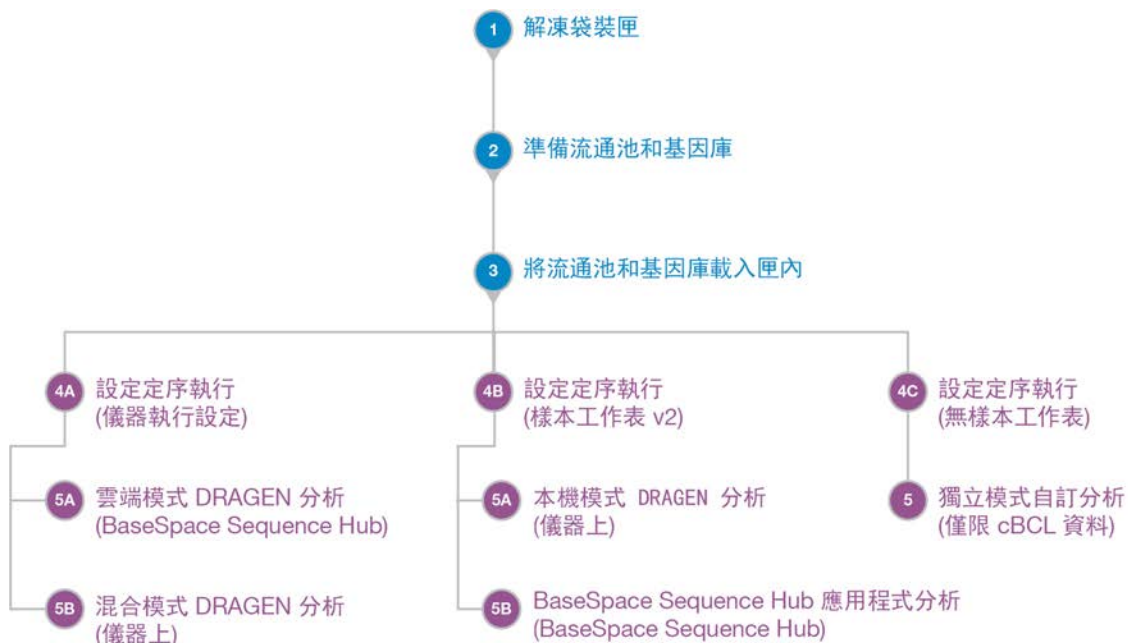
### 疑難排解狀態問題

- 如果正在執行，請關閉 [Process Management (流程管理)] 畫面、等候約五分鐘，然後重新開啟。

- 如果執行並非進行中，請關閉儀器再重新啟動，然後重新開啟 [Process Management (流程管理)] 畫面。請參閱第 69 頁 [關閉儀器再重新啟動](#)。

## 定序協定圖

下圖說明使用 NextSeq 1000/2000 的定序協定。



## 定序的運作方式

NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統上的定序作業包含叢集生成、定序及分析。每個步驟都會在定序執行時自動發生。根據系統設定而定，完成執行後可在儀器外進行進一步分析。

### 叢集生成

基因庫<sup>1</sup>會自動變性成單股，並且在儀器上進一步稀釋。叢集生成期間，單一 DNA 分子會與流通池的表面結合，並且經放大而形成多個叢集<sup>2</sup>。叢集生成需要約 4 小時。

<sup>1</sup>附加用於定序之轉接器的 DNA 或 RNA 樣本。準備方法可能不同。

<sup>2</sup>產生一個定序讀數之流通池上的一個 DNA 股無性群組。流通池上的各股 DNA 會產生模板，然後將其放大直到叢集包含上百或上千個複本。例如，包含 10,000 個叢集的流通池會產生 10,000 個單一讀數或 20,000 個雙端讀數。

## 定序

叢集使用雙通道化學（一個綠色通道和一個藍色通道）成像，以針對四個核苷酸資料進行編碼。流通池上的基因模版成像完成後，下一個基因模版就會進行成像。每個定序循環都會重覆此流程（每次循環約5分鐘）。分析影像後，即時分析軟體會執行鹼基判定<sup>1</sup>、過濾與品質評分。<sup>2</sup>

## 主要分析

執行進行時，控制軟體會自動將鹼基判定檔案<sup>3</sup> (\*.cbcl) 轉移至指定的輸出資料夾以進行資料分析。定序執行期間，即時分析 (RTA3) 軟體會執行影像分析、鹼基判定及解編<sup>4</sup>。定序完成後，即會開始進行次要分析。次要資料分析方法取決於您的應用程式和系統設定。

## 次要分析

BaseSpace Sequence Hub 是 Illumina 雲端運算環境，可用來進行執行監控、資料分析、儲存及共同協作。此環境可託管支援常見定序分析方法的 DRAGEN 和 BaseSpace Sequence Hub 應用程式。

完成初步的定序分析後，DRAGEN 會使用其中一個可用的分析管道來執行次要分析。

如果使用雲端或混合模式，DRAGEN 將會從 BaseSpace Sequence Hub 的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 中擷取樣本工作表、參考基因組並執行輸入檔案。若為雲端模式，cBCL 資料會自動上傳至 BaseSpace Sequence Hub，而且 BaseSpace Sequence Hub 會初始化 DRAGEN 次要分析。若為混合模式，DRAGEN 次要分析會在儀器上執行，而且輸出檔案可以儲存在選擇的資料夾或雲端中。

如果使用本機模式，DRAGEN 將會從 NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統擷取提供的樣本工作表、參考基因組並執行輸入檔案。DRAGEN 次要分析會在儀器上執行，而且輸出檔案會儲存在選擇的輸出資料夾中。如果選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，則在定序完成後，亦可透過 BaseSpace Sequence Hub 應用程式啟動分析。

如果使用獨立模式，請設定不含樣本工作表的執行。建議將此工作流程用於從 cBCL 資料開始的自訂分析工作流程。

- 如需 BaseSpace Sequence Hub 的詳細資訊，請參閱 [BaseSpace Sequence Hub 線上說明](#)。
- 如需 DRAGEN 的詳細資訊，請參閱 [DRAGEN Bio-IT Platform 支援頁面](#)。
- 如需所有應用程式的概覽，請參閱 [BaseSpace 應用程式](#)。

---

<sup>1</sup>在特定週期中，決定基因模版中之每個叢集的鹼基 (A、C、G 或 T)。

<sup>2</sup>計算每個鹼基判定的一組品質預測因子，然後使用預測值查看 Q-評分。

<sup>3</sup>包括鹼基判定及各定序週期之每個叢集的相關品質評分。

<sup>4</sup>可區別集區中之各基因庫讀數的分析流程。

# 系統設定

本節提供設定系統的指示，包括軟體設定的說明。

這些指示主要說明控制軟體，並提供有關設定網路和作業系統的部分資訊。

**i** | 在儀器上使用 Google Chrome 時，系統會提示您解除鎖定您的登入鑰匙圈。您可以安全地忽略並取消提示。

## 使用者帳號要求

Linux 作業系統有三個帳號：

- root (超級管理員)
- ilmnadmin (管理員)
- ilmnuser (使用者)

管理員帳號僅限用於套用系統更新，例如更新 NextSeq 1000/2000 控制軟體，或供 IT 員工使用以載入永久網路磁碟機。

使用者帳號可執行所有其他功能，包括定序。

### 密碼要求

儀器安裝完成後，現場維修工程師會為三個帳號初始化密碼變更。系統會每隔 180 天提示您更新各個密碼。

表 1 預設密碼原則

原則	設定
強制執行密碼歷程記錄	記住五個密碼
鎖定標準	10 次無效的登入嘗試
密碼最短長度	10 個字元
最低字元多樣性需求	以下項目各三個：數字、大寫字母、小寫字母及符號
重複字元上限	三個字元
密碼須符合複雜性規定	已停用
使用可逆加密方式儲存密碼	已停用

## 新增使用者

1. 登入 ilmnadmin。
2. 選擇電源按鈕，然後開啟 ilmnadmin 下拉式清單。
3. 選擇 [Account Settings (帳號設定)]。
4. 選擇 [Unlock (解除鎖定)]，然後輸入 ilmnadmin 密碼。
5. 選擇 [Add User (新增使用者)]。
6. 選擇標準帳號類型，然後輸入新的使用者名稱。
7. 選擇 [Set password now (立即設定密碼)]，然後輸入密碼。
8. 選擇 [Add (新增)]。  
新使用者即會新增至 [Users (使用者)] 清單。
9. 按照以下步驟授予使用者 NextSeq 1000/2000 控制軟體的存取權。
  - a. 開啟終端機。
  - b. 輸入下列內容：  

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <新的使用者名稱>
```
  - c. 如果出現提示，請輸入 ilmnadmin 密碼。
10. 若要確認使用者權限是否已成功設定，請按照以下步驟操作。
  - a. 登入新的使用者帳號。
  - b. 瀏覽至 NextSeq 1000/2000 控制軟體。
  - c. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
  - d. 在預設輸出資料夾下，確定您可以選擇並儲存輸出資料夾路徑。  
如果您可以正常選擇並儲存輸出資料夾路徑，則表示權限已成功設定。

## 重設密碼

本節將詳細說明如何重設 ilmnuser、ilmnadmin 或 root 密碼。無法使用密碼復原。在輸入太多次不正確的密碼後，重設您的密碼並不會略過帳號鎖定。您必須等候 10 分鐘的時間才能重設密碼或嘗試登入。

### 重設 ilmnuser 密碼

如果您知道 ilmnadmin 或 root 密碼，即可重設 ilmnuser 密碼。

1. 登入 ilmnadmin。
2. 開啟終端機。
3. 輸入 `sudo passwd ilmnuser`。
4. 在出現提示時，輸入 ilmnadmin 密碼。
5. 在出現提示時，輸入新的 ilmnuser 密碼。
6. 在出現提示時，再次輸入新的 ilmnuser 密碼以確認新密碼。



## 重設 ilmnadmin 密碼

如果您知道 root 密碼，即可重設 ilmnadmin 密碼。

1. 登入 root。
2. 開啟終端機。
3. 輸入 `passwd ilmnadmin` 以變更 ilmnadmin 密碼，或輸入 `passwd ilmnuser` 以變更 ilmnuser 密碼。
4. 在出現提示時，輸入新密碼。
5. 在出現提示時，再次輸入新密碼以確認新密碼。

## 重設 root 密碼

若要重設 root 密碼，請使用下列其中一個選項：

- 如果您知道上次擷取作業系統映像時的密碼，請還原至該已儲存映像。
- 如果您不記得密碼，請聯絡 Illumina 技術支援。

# 設定 BaseSpace Sequence Hub 和 Proactive Support

使用下列指示設定系統的 BaseSpace Sequence Hub 和 Proactive Support。若要設定 BaseSpace Sequence Hub 帳號，請參閱 [BaseSpace Sequence Hub 線上說明](#)。

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 若是 BaseSpace Sequence Hub 和 Proactive Support 設定，請選擇下列其中一個選項：

選項	說明和要求
Proactive Support Only* (僅限 Proactive Support*)	將儀器效能資料傳送至 Illumina 以加快疑難排解速度。 需要網際網路連線。
Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)	將 InterOp 和記錄檔傳送至 BaseSpace Sequence Hub 進行遠端執行監控，此為預設選項。 需要 BaseSpace Sequence Hub 帳號和網際網路連線。
Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)	將 InterOp 檔案、記錄檔及執行資料傳送至 BaseSpace Sequence Hub 進行遠端監控和分析。 需要 BaseSpace Sequence Hub 帳號、網際網路連線及樣本工作表。
無	中斷 BaseSpace Sequence Hub 帳號的執行作業，且不傳送用於 Illumina Proactive Support 的儀器效能資料。

\* 根據控制軟體版本而定，軟體介面的設定名稱可能與本指南內的設定名稱有所不同。

選擇 [None (無)] 以外的任何選項時，Proactive Support 將會啟用。此為免費服務，可讓您在 MyIllumina 客戶儀表板上查看效能資料，並讓 Illumina 的服務團隊更快地對問題進行疑難排解。

**i** | [Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)] 預設為開啟。若要退出此服務，請選擇 [None (無)]。

3. 如果在步驟 2 選擇 [None (無)]，請選擇 [Save (儲存)] 完成設定，否則，請繼續執行至步驟 6。
4. 在主控位置清單中，選擇將資料上傳至其中的 BaseSpace Sequence Hub 伺服器位置。請務必使用位於或最靠近您所在地區的主控位置。
5. 如果您有企業版訂閱，請輸入用於 BaseSpace Sequence Hub 帳號的網域名稱 (URL)。例如：https://yourlab.basespace.illumina.com。
6. 選取 [Save (儲存)]。

## 指定預設輸出資料夾位置

使用本節中的指示選擇預設輸出資料夾位置。您可以在執行設定時變更每個執行的輸出資料夾。此軟體會將 cBCL 檔案<sup>1</sup> 和其他執行資料儲存至輸出資料夾。

除非 BaseSpace Sequence Hub 設定為 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，否則一律需要輸出資料夾。請務必使用外部或網路磁碟機作為預設輸出資料夾。使用儀器上的輸出資料夾會對定序執行造成負面影響。

### 指定外部磁碟機輸出資料夾

使用下列指示選擇外部可攜式磁碟機作為預設輸出資料夾。建議使用格式為 NTFS 或 GPT/EXTA 的自行供電磁碟機。

1. 使用儀器側面或背面的 3.0 USB 連接埠插入外部可攜式磁碟機。  
確認外部可攜式磁碟機允許寫入權限。如果磁碟機設為「唯讀」，控制軟體即無法將資料儲存到其中。
2. 在外部可攜式磁碟機上建立新資料夾。此資料夾將成為預設輸出資料夾位置。  
NextSeq 1000/2000 控制軟體至少需要兩層巢狀資料夾，才能將此位置識別為外部可攜式磁碟機。
3. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
4. 在預設輸出資料夾下方，選擇現有的資料夾路徑並瀏覽至外部可攜式磁碟機上的新資料夾。
5. [選用] 如果您在 [Run Mode (執行模式)] 下方選擇 [Online Run Setup (線上執行設定)]，請從 [Hosting Location (主控位置)] 下拉式功能表中選擇選項。
6. 選取 [Save (儲存)]。

### 指定網路磁碟機預設輸出資料夾

使用下列指示載入永久網路磁碟機並指定預設輸出資料夾位置。伺服器訊息區塊 (SMB) / Common Internet File System (CIFS) 和 Network File System (NFS) 為在 NextSeq 1000/2000 上載入永久網路磁碟機的唯一支援方式。

<sup>1</sup>包括鹼基判定及各定序週期之每個叢集的相關品質評分。

## SMB/CIFS 載入指示

1. 如果已開啟 NextSeq 1000/2000 控制軟體，請選擇 [Minimize Application (最小化應用程式)]。
2. 登入 ilmadmin。
3. 選擇 [Applications (應用程式)]。
4. 在 [Favorites (我的最愛)] 下方，選擇 [Terminal (終端機)]。
5. 輸入 `sudo touch /root/.smbcreds`，然後選擇 [Enter (輸入)]。
6. 出現提示時，請輸入 ilmadmin 密碼。  
您每次使用 `sudo` 指令時，都必須輸入 ilmadmin 密碼。
7. 輸入 `sudo gedit /root/.smbcreds`，然後選擇 [Enter (輸入)] 以開啟名為 smbcreds 的文字檔。
8. 當 .smbcreds 文字檔開啟時，以下列格式輸入您的網路登入認證。  

```
username=<使用者名稱>
password=<密碼>
domain=<網域名稱>
```

使用者名稱、密碼及網域認證不需要使用括弧。只有當遠端帳號屬於網域的一部分時，才需要網域認證。
9. 選擇 [Save (儲存)] 並結束檔案。
10. 識別 SMB/CIFS 伺服器的伺服器名稱和共用名稱。  
伺服器名稱和共用名稱不能使用空格，例如：  
伺服器名稱：192.168.500.100 或 Myserver-myinstitute-03  
共用名稱：/share1
11. 在終端機中，輸入 `sudo chmod 400 /root/.smbcreds`，然後選擇 [Enter (輸入)] 以授予 .smbcreds 文字檔的讀取權限。
12. 輸入 `sudo mkdir /mnt/<本機名稱>`。  
<本機名稱> 是您網路磁碟機中的新目錄名稱，可包含空格。這是會出現在儀器上的目錄。
13. 選擇 [Enter (輸入)]。
14. 輸入 `sudo gedit /etc/fstab`，然後選擇 [Enter (輸入)]。
15. 當 fstab 檔案開啟時，請在檔案的結尾輸入下列內容，然後選擇 [Enter (輸入)]。  

```
//<伺服器名稱>/<共用名稱> /mnt/<本機名稱> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-
systemd.automount,sec=ntlmssp 00
```
16. 選擇 [Save (儲存)] 並結束檔案。
17. 在終端機中輸入 `sudo mount -a -vv`，然後選擇 [Enter (輸入)]。  
網路磁碟機現在已載入為 /mnt/<本機名稱>。
18. 若要確認此載入作業是否成功，請輸入 `<df|grep <本機名稱>>`，然後選擇 [Enter (輸入)]。  
應會出現檔案共用的名稱。
19. 輸入 `sudo mkdir /mnt/<本機名稱>/<輸出目錄>` 以在本機目錄中建立子資料夾。<輸出目錄> 代表您的預設輸出資料夾位置。

NextSeq 1000/2000 控制軟體至少需要兩層巢狀資料夾，才能將此位置識別為掛載的網路磁碟機。

20. 關閉儀器再重新啟動。請參閱第 69 頁 [關閉儀器再重新啟動](#)。
21. 將永久掛載的網路磁碟機設為預設輸出資料夾。請參閱第 14 頁 [指定永久網路磁碟機作為預設輸出資料夾](#)。

## NFS 載入指示

1. 如果已開啟 NextSeq 1000/2000 控制軟體，請選擇 [Minimize Application (最小化應用程式)]。
2. 登入 ilmnadmin。
3. 識別 NFS 伺服器的伺服器名稱。  
伺服器名稱不能使用空格，例如：  
伺服器名稱：192.168.500.100 或 Myserver-myinstitute-03
4. 選擇 [Applications (應用程式)]。
5. 在 [Favorites (我的最愛)] 下方，選擇 [Terminal (終端機)]。
6. 輸入 `sudo mkdir /mnt/<本機名稱>`，然後選擇 [Enter (輸入)]。  
<本機名稱> 是您網路磁碟機中的新目錄名稱。
7. 輸入 `sudo gedit /etc/fstab`，然後選擇 [Enter (輸入)]。
8. 當開啟 fstab 檔案時，請輸入下列內容，然後選擇 [Enter (輸入)]。  
伺服器名稱:/share //mnt/<本機名稱> nfs x-systemd.automount,defaults00
9. 選擇 [Save (儲存)] 並結束檔案。
10. 在終端機中輸入 `sudo mount -a -vv`，然後選擇 [Enter (輸入)]。  
網路磁碟機現在已載入在 <本機名稱> 資料夾內的 /mnt/directory 中。
11. 在 <本機名稱> 資料夾內建立新的 <子資料夾>。子資料夾代表您的預設輸出資料夾位置。  
NextSeq 1000/2000 控制軟體至少需要兩層巢狀資料夾，才能將此位置識別為掛載的網路磁碟機。
12. 關閉儀器再重新啟動。請參閱第 69 頁 [關閉儀器再重新啟動](#)。
13. 將永久掛載的網路磁碟機設為預設輸出資料夾。請參閱第 14 頁 [指定永久網路磁碟機作為預設輸出資料夾](#)。

## 指定永久網路磁碟機作為預設輸出資料夾

1. 登入 ilmnuser
2. 在 NextSeq 1000/2000 控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
3. 在 [Default Output Folder (預設輸出資料夾)] 下方，選擇載入於 /mnt/<本機名稱>/<輸出目錄> 的永久網路磁碟機。
4. [選用] 如果您在 [Run Mode (執行模式)] 下方選擇 [Online Run Setup (線上執行設定)]，請從 [Hosting Location (主控位置)] 下拉式功能表中選擇選項。
5. 選取 [Save (儲存)]。

## 匯入自訂參考基因組

新的自訂參考基因組只能使用管理員帳號匯入。如需所有相容的參考基因組清單，請造訪「NextSeq 1000/2000 產品相容性」頁面。

1. 使用 Reference Builder for Illumina Instruments BaseSpace Sequence Hub 應用程式建立參考基因組。如需詳細資訊，請參閱 *Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 應用程式線上說明*。
2. 選擇控制軟體功能表，然後選擇 [Process Management (流程管理)]。
3. 確認沒有進行中的定序執行或儀器上次要分析。
4. 在控制軟體功能表中，選擇 [Minimize Application (最小化應用程式)]。
5. 登入 ilmnadmin。
6. 選擇控制軟體功能表，然後選擇 [DRAGEN]。
7. 在 [Genome (基因組)] 區段中，選擇 [View Installed Genomes (檢視安裝的基因組)] 以檢視目前安裝的所有 Illumina 和自訂基因組。
8. 關閉強制回應。
9. 選擇 [Import New Reference Genomes (匯入新的參考基因組)] 下方的 [Choose (選擇)]，在可攜式或掛載的網路磁碟機上瀏覽至參考基因組檔案 (\*.tar.gz)，然後選擇 [Open (開啟)]。
10. 選擇 [Import (匯入)]。

## 匯入雜訊基準檔案

如果在體池模式下使用 DRAGEN Enrichment 工作流程，您可以使用雜訊基準檔案過濾出定序或系統性雜訊。您可以從 [Illumina 支援網站](#) 下載標準自訂雜訊檔案或建立自訂雜訊基準檔案。

### 產生自訂雜訊基準檔案

如果使用體池模式，您可以產生自訂雜訊基準檔案。雜訊基準檔案是使用與樣本來源主體不相符的標準樣本所建立。建議的標準樣本數量為 50。

若要產生自訂雜訊基準檔案，請使用下列其中一種方法：

- 使用 DRAGEN Bio-IT Platform 伺服器。請參閱 *DRAGEN Bio-IT Platform 線上說明* 以取得相關指示。
- 在 BaseSpace Sequence Hub 上使用 DRAGEN Baseline Builder 應用程式。在 BaseSpace Sequence Hub 的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 中使用 BCL Convert 管道，以產生 FASTQ 檔案。完成定序執行並取得 50 個樣本後，請將 FASTQ 檔案輸入至 DRAGEN Baseline Builder 應用程式。

### 透過使用者介面匯入基準檔案

匯入基準檔案後，您可以在體池模式下使用 DRAGEN Enrichment 工作流程設定定序執行。

1. 從 [Illumina 支援網站](#) 下載標準基準檔案，或從 DRAGEN 伺服器或 DRAGEN Baseline Builder 應用程式下載自訂基準檔案。
2. 在控制軟體功能表中，選擇 [Minimize Application (最小化應用程式)]。

3. 登入 ilmnadmin。
4. 選擇 [Applications (應用程式)]，然後選擇 [Favorites (我的最愛)]。
5. 選擇 [+Other Locations (+其他位置)]，然後選擇 [Computer (電腦)]。
6. 連按兩下 usr，然後連按兩下 local。
7. 連按兩下 illumina，然後連按兩下 aux\_files。
8. 將雜訊基準檔案拖曳到 aux\_files。

## 使用終端機匯入基準檔案

匯入基準檔案後，您可以在體池模式下使用 DRAGEN Enrichment 工作流程設定定序執行。

1. 從 [Illumina 支援網站](#) 下載標準基準檔案，或從 DRAGEN 伺服器或 DRAGEN Baseline Builder 應用程式下載自訂基準檔案。
2. 在控制軟體功能表中，選擇 [Minimize Application (最小化應用程式)]。
3. 登入 ilmnadmin。
4. 選擇 [Applications (應用程式)]。
5. 在 [Favorites (我的最愛)] 下方，選擇 [Terminal (終端機)]。
6. 輸入下列指令。

```
cp [/path/to/baselinefile] /usr/local/illumina/aux_files
```

## 設定執行模式

執行模式適用於所有執行，並可決定輸入執行參數的位置和資料分析方式。

### 雲端或混合模式

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 在 BaseSpace Sequence Hub 服務和 Proactive Support 下方選擇 [Online Run Setup (線上執行設定)]。
3. 選擇下列項目以適當設定其他設定：
  - a. [Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)] 或 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]。
  - b. [Hosting Location (主控位置)] 的下拉式功能表。
  - c. [選用] 輸入 [Private Domain Name (私人網域名稱)]。
4. 選取 [Save (儲存)]。

### 本機或獨立模式

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 在 BaseSpace Sequence Hub 服務和 Proactive Support 下方選擇 [Local Run Setup (本機執行設定)]。
3. 選擇下列項目以適當設定其他設定：

- a. [Proactive Support Only (僅限 Proactive Support)]、[Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)]、[Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)] 或 [None (無)]。



如果選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，則 BaseSpace Sequence Hub 將僅可使用重新排入佇列功能。在樣本工作表無效的情況下，此選項可讓您修正樣本工作表並將解編分析重新排入佇列。如需瞭解儀器上重新排入佇列功能，請參閱第 68 頁 [將執行重新排入佇列](#)。

- b. [Hosting Location (主控位置)] 的下拉式功能表。
  - c. [選用] 輸入 [Private Domain Name (私人網域名稱)]。
4. 選取 [Save (儲存)]。

### 樣本工作表注意事項 (適用於本機或獨立模式)

您必須使用樣本工作表 v2 檔案格式才能透過 DRAGEN 進行分析。樣本工作表 v2 檔案格式也與未啟用 DRAGEN 的 BaseSpace Sequence Hub 應用程式相容。如需有關以 v2 檔案格式建立樣本工作表的資訊，請參閱第 72 頁 [樣本工作表 v2 設定](#)。

## 儀器自訂

本節包含有關設定可用自訂設定的相關資訊。若要設定預設輸出資料夾，請參閱第 12 頁 [指定預設輸出資料夾位置](#)。

### 為儀器命名

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 選擇 [Instrument Nickname (儀器別稱)]，然後輸入想要的儀器名稱。  
此名稱會在每個畫面上方顯示。
3. 選取 [Save (儲存)]。

### 設定變性和稀釋偏好設定

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 選擇是否要在儀器上自動變性和稀釋基因庫。設定預設為針對上一次執行所選的選項。
  - 若要在儀器上自動變性和稀釋基因庫，請選擇 [Denature and Dilute On Board (機上變性和稀釋)] 核取方塊。
  - 若要手動變性和稀釋基因庫，請取消選擇 [Denature and Dilute On Board (機上變性和稀釋)] 核取方塊。

請參閱「[NextSeq 1000 和 2000 變性與稀釋基因庫指南](#)」(文件 #1000000139235)，以取得有關手動變性和稀釋基因庫的指示。

## 設定自動清除試劑偏好設定

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 選擇系統是否要在每次執行後將未使用的試劑自動清除至用過的試劑室中，以簡化執行完成後的試劑廢棄物棄置作業：
  - 若要自動清除，請選擇 [Purge Reagent Cartridge (清除試劑匣)] 核取方塊。
  - 若要略過自動清除，請取消選擇 [Purge Reagent Cartridge (清除試劑匣)] 核取方塊 (此為預設設定)。清除未使用的試劑最多會使工作流程增加 2 小時。
3. 選取 [Save (儲存)]。

## 設定軟體更新

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 選擇是否由系統自動檢查軟體更新：
  - 若要自動檢查，請選擇 [Autocheck for software updates (自動檢查軟體更新)] 核取方塊。
  - 若要手動檢查，請取消選擇 [Autocheck for software updates (自動檢查軟體更新)] 核取方塊。自動檢查軟體更新必須有網際網路連線。如需有關安裝軟體更新的詳細資訊，請參閱第 62 頁 [軟體更新](#)。
3. 選取 [Save (儲存)]。

## 變更 LCD 亮度

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 將 LCD 亮度滑桿移至需要的百分比。
3. 選取 [Save (儲存)]。

## 設定代理伺服器

代理伺服器支援僅適用於 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3。

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Settings (設定)]。
2. 選擇目前的代理設定以開啟 [Proxy Settings (代理設定)] 畫面。
3. 選擇 [Enable Proxy (啟用代理)] 核取方塊，然後輸入伺服器 IP 連接埠位址。
4. [選用] 如果代理伺服器需要驗證，請選擇 [Requires Username and Password (需要使用者名稱和密碼)] 核取方塊，然後輸入使用者名稱和密碼。
5. 選擇 [Save (儲存)] 以儲存並驗證代理資訊。
6. 選擇下列其中一個選項：
  - 選擇 [Yes, I'm Finished (是，我已完成)] 以重新啟動系統並套用新的代理設定。
  - 選擇 [No, Take Me Back (否，帶我返回)] 以返回 [Settings (設定)] 畫面。系統會儲存新的代理設定，但要在重新啟動系統後才會套用。



# 耗材與設備

本節列出試劑組包含的所有項目及儲存條件。您也可以查看自己必須購買哪些輔助耗材和設備，才能完成協定並執行維護和疑難排解程序。

## 定序耗材

若要在 NextSeq 1000/2000 上進行定序，則需要單次使用的 Illumina NextSeq 1000/2000 P2 試劑組或單次使用的 Illumina NextSeq 1000/2000 P3 試劑組。NextSeq 1000/2000 P2 試劑組有三種大小（100 次循環、200 次循環、300 次循環），而 NextSeq 1000/2000 P3 試劑組有四種大小（50 次循環、100 次循環、200 次循環、300 次循環）。

NextSeq 1000 定序系統僅與 Illumina NextSeq 1000/2000 P2 試劑組相容。

試劑組提供用於定序的匣和流通池。當您收到 NextSeq 1000/2000 P2 試劑組或 Illumina NextSeq 1000/2000 P3 試劑組時：

- 立即依照指示溫度存放元件，以確保提供適當效能。
- 請於指示時再打開任何銀色錫箔包裝。
- 將匣存放在盒子中，以避免撕開或刺穿錫箔包裝。
- 以箭頭朝上的方向存放匣。

**!** 如果匣標籤未朝上，將會對定序資料造成負面影響。

表 2 試劑組元件

耗材	數量	儲存溫度	尺寸
匣	1	-25°C 至 -15°C	29.2 公分 × 17.8 公分 × 12.7 公分 (11.5 英寸 × 7 英寸 × 5 英寸)
流通池	1	2°C 至 8°C*	21.6 公分 × 12.7 公分 × 1.9 公分 (8.5 英寸 × 5 英寸 × 0.75 英寸)
RSB (含 Tween 20)	1	-25°C 至 -15°C	(4 公分 × 6.6 公分 × 5 公分) (1.6 英寸 × 2.6 英寸 × 2 英寸)

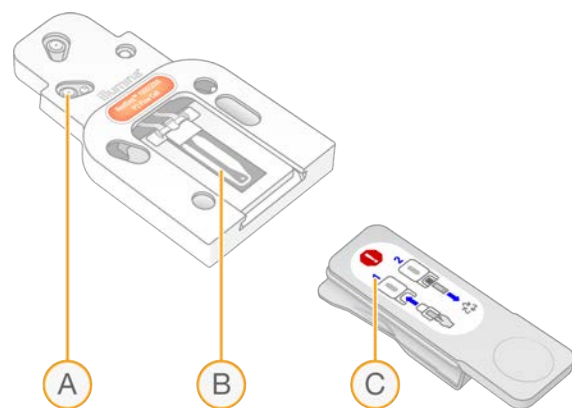
\*在室溫下運送。

這兩種耗材都有識別碼，可供追蹤並確保相容性。匣和流通池使用 RFID<sup>1</sup>。

<sup>1</sup>無線射頻辨識

## 流通池

流通池為模式化單通道流通池。塑膠匣可裝入玻璃式流通池。灰色耳片覆寫流通池並向外伸出，以確保安全處理。

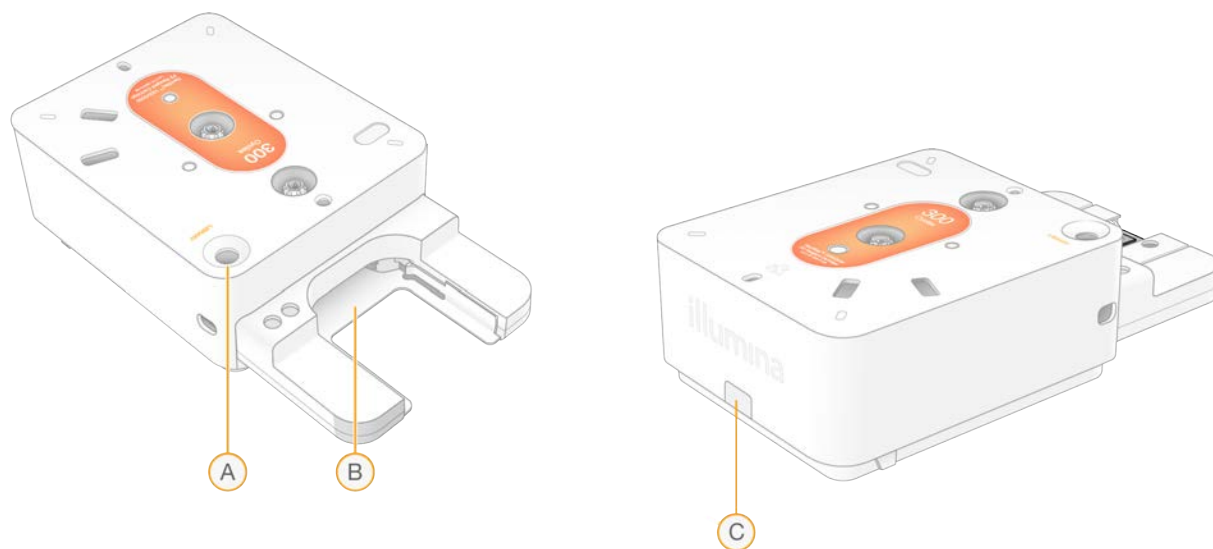


- A. 塑膠匣
- B. 流通池
- C. 灰色耳片

數百萬個奈米井覆寫流通池的內部表面。奈米井中會產生叢集，接著會執行定序反應。模式化排列的奈米井可增加輸出讀數和資料。

## 匣

定序試劑匣已預先填充叢集、定序、雙端及索引試劑。已為基因庫保留以錫箔密封的貯池，也為流通池保留前方插槽。



- A. 基因庫貯池
- B. 流通池插槽
- C. 排放塞

此匣可容納執行用的所有耗材：試劑、基因庫及流通池。基因庫和流通池會載入入已解凍的匣中，然後載入儀器。開始執行後，試劑和基因庫會自動從匣轉移到流通池。

匣包含泵浦、閥及系統各種流體，包括匣底部的貯池，可用來收集用過的試劑。執行後便可棄置匣，因此不必清洗儀器。

## 支援的循環數

匣上的標籤代表已分析的循環數，而非執行過的循環數。流通池與所有循環數和所有讀數類型相容。

所有 100 次循環和 200 次循環匣均包含額外的 38 次循環。300 次循環匣包含額外的 27 次循環。例如，300 次循環匣提供的試劑足以執行高達 327 次定序循環。如需有關定序循環數的資訊，請參閱第 26 頁 [讀數中的循環數](#)。

## 符號說明

下表說明耗材或耗材包裝上的各種符號。

符號	說明
	耗材的到期日。為得到最佳結果，請於此日期之前使用耗材。
	代表製造商（Illumina）。
	耗材僅供研究使用（RUO）。
	代表用於辨識耗材的零件編號。 <sup>1</sup>
	代表用於辨識耗材製造批次或批號的批次代碼。 <sup>1</sup>
	代表具有健康危害。
	儲存溫度範圍（以攝氏度為單位）。請將耗材儲存於指定的溫度範圍內。 <sup>2</sup>

## 輔助耗材

購買下列用於定序和維護的耗材。

### 定序用耗材

表 3 定序用耗材

耗材	供應商	用途
無粉末的拋棄式手套	一般實驗室供應商	一般用途。
NextSeq 1000/2000 P2 (v3) 試劑組	Illumina: 目錄 # 20046811 (100 次循環) 目錄 # 20046812 (200 次循環) 目錄 # 20046813 (300 次循環)	提供試劑匣、流通池及 NextSeq 1000/2000 RSB (含 Tween 20) 供單一執行。與 NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 相容。
NextSeq 2000 P3 試劑組	Illumina: 目錄 # 20046810 (50 次循環) 目錄 # 20040559 (100 次循環) 目錄 # 20040560 (200 次循環) 目錄 # 20040561 (300 次循環)	提供試劑匣、流通池及 NextSeq 1000/2000 RSB (含 Tween 20) 供單一執行。僅相容於 NextSeq 2000。
微量離心管, 1.5 毫升	Fisher Scientific, 目錄編號 14-222-158, 或同等的微量離心管	將基因庫稀釋為載入濃度。
滴液管尖, 10 微升	一般實驗室供應商	稀釋基因庫。
滴液管尖, 20 微升	一般實驗室供應商	稀釋並載入基因庫。
滴液管尖, 200 微升	一般實驗室供應商	稀釋基因庫。
滴液管尖, 1000 微升	一般實驗室供應商	刺穿基因庫貯池錫箔。
[選用] PhiX 對照 v3	Illumina, 目錄編號 FC-110-3001	僅執行 PhiX 或加入 PhiX 對照。
[選用] 紙巾	一般實驗室供應商	在浸水後將匣擦乾。

### 維護用耗材

表 4 維護用耗材

耗材	供應商	用途
無粉末的拋棄式手套	一般實驗室供應商	一般用途。
NextSeq 1000/2000 空氣濾網更換*	Illumina, 目錄編號 20029759	每六個月更換空氣濾網。

\* 儀器送達時已安裝一組, 並隨附一組備用。如果儀器不在保固期限內, 使用者需自行更換。使用前請勿將備用品從包裝中取出。

## 輔助設備

購買下列用於定序的設備。

項目	來源	用途
冷凍庫, -25°C 至 -15°C	一般實驗室供應商	用於存放匣。
冰桶	一般實驗室供應商	擱置基因庫直到定序為止。
滴管, 10 微升	一般實驗室供應商	將基因庫稀釋為載入濃度。
滴管, 20 微升	一般實驗室供應商	將基因庫稀釋至載入濃度, 並將基因庫裝入匣內。
滴管, 200 微升	一般實驗室供應商	將基因庫稀釋為載入濃度。
冷藏庫, 2°C 至 8°C	一般實驗室供應商	存放流通池或使匣解凍。
[選用] 下列其中一種溫控水浴 或可將溫度維持在 25°C 的同等 水浴:		讓匣解凍。
<ul style="list-style-type: none"> <li>· Thermo Scientific Precision 35L 循環水浴 (可同時容納5個匣)</li> <li>· SHEL LAB 22L 數位循環水浴 (可同時容納3個匣)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Thermo Fisher Scientific, 目錄編號 TSCIR 35</li> <li>· Shel Lab, 目錄編號 SWBC22</li> </ul>	

# 協定

本節提供有關如何準備耗材、稀釋基因庫，以及在四個執行模式中設定定序執行的逐步指示（雲端、混合及本機模式使用 DRAGEN 或 BaseSpace Sequence Hub，但獨立模式是獨立執行，適用於產生僅供自訂分析工作流程使用的 cBCL 資料）。

處理試劑和其他化學物質時，請穿戴護目鏡、實驗衣及無粉末手套。

開始協定之前，請務必備妥需要的耗材和設備。請參閱第 19 頁 [耗材與設備](#)。

請使用指定的容量、溫度和期間，並依照指示的順序遵循協定。

## 定序注意事項

開始協定之前，請檢閱下列資訊以為稀釋基因庫和設定執行做準備。達到最佳載入濃度是成功完成定序和分析的關鍵。輸入讀數中的正確循環數可協助確保最佳資料輸出。

### 載入容量及濃度

載入容積為 20 微升。載入濃度會因基因庫類型而異：

基因庫類型	載入濃度（微微莫耳）
AmpliSeq™ for Illumina Library PLUS	750
Illumina DNA Prep	750
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750
Illumina Stranded mRNA Prep	750
Illumina DNA PCR-Free	1000
100% PhiX	650
TruSeq DNA Nano 350	1200
TruSeq DNA Nano 550	1500
TruSeq Stranded mRNA	1000

若為其他基因庫類型，建議使用 650 微微莫耳作為初始載入濃度。請在後續執行中讓載入濃度達到最佳狀況，以確定載入濃度可穩定產生符合規格的資料。

**i** 若要達到最佳載入濃度，請在執行完成後使用可用之 PrimaryAnalysisMetrics.csv 輸出檔案中的百分比載入濃度計量。如果百分比載入濃度 < 95%，請在後續執行中以 100 微微莫耳為單位來增加載入濃度。

## 讀數中的循環數

每個讀數最少輸入 26 次循環、最多 151 次循環，均可確保資料品質。精確的循環數需依據您的實驗而定。NextSeq 1000/2000 控制軟體要求讀數 1 至少有 1 次循環，但當讀數 1 中的循環數低於 26 時會顯示警告。

讀數 1、索引 1、索引 2 及讀數 2 的總循環數不可大於組件支援的循環數，以及適用於 100 循環和 200 循環組件的 38 次循環和適用於 P3 300 循環組件的 27 次循環。當索引 1 和索引 2 低於 6 次循環時，NextSeq 1000/2000 控制軟體將會顯示警告。如果索引 1 或索引 2 為 0 次循環，則不會顯示警告。

最少和最多循環數包含額外循環。請務必在需要的讀數長度上多加一次循環，以修正定相和定相超前的效果。讀數長度是讀數一和讀數二中的定序循環數，不包含額外循環和索引循環。如需詳細資訊，請參閱第 47 頁 [即時分析工作流程](#) 中的「定相校正」。

執行設定範例：

- 若讀數長度為 35 (單一讀數)，請在 [Read 1 (讀數 1)] 欄位中輸入 36。
- 若每個讀數的讀數長度為 150 (雙端)，請在 [Read 1 (讀數 1)] 欄位中輸入 151，在 [Read 2 (讀數 2)] 欄位中輸入 151。

## 在 BaseSpace Sequence Hub 中規制定序執行

使用 BaseSpace Sequence Hub 中的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 建立並設定您的執行設定。如果您要在雲端模式或混合模式下設定執行，請將執行設定提交至 [Planned Runs (規劃的執行)] 索引標籤中，透過您的 BaseSpace Sequence Hub 帳號所規劃的執行清單。可在 NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統上進行定序的執行會顯示在 [Planned Runs (規劃的執行)] 索引標籤中。如果您要在本機模式下設定執行，請使用 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 以 v2 檔案格式建立和匯出您的樣本工作表。或者，請參閱第 72 頁 [樣本工作表 v2 設定](#) 以使用提供的範本建立樣本工作表，而不透過 BaseSpace Sequence Hub。

BaseSpace Sequence Hub 的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 不支援超過 1,536 個樣本。

### 設定執行

1. 瀏覽至 BaseSpace Sequence Hub。
2. 輸入您的電子郵件地址和 BaseSpace Sequence Hub 密碼，然後選擇 [Sign In (登入)]。
3. 選擇 [Runs (執行)] 索引標籤，然後選擇 [New Run (新執行)] 下拉式清單。
4. 選擇 [NextSeq 1000/2000]。
5. 在 [Run Name (執行名稱)] 欄位中，輸入您想要用於識別目前執行的唯一名稱。執行名稱最多可包含 225 個英數字元、空格、虛線及底線。
6. 選擇下列其中一個分析位置。
  - BaseSpace — 在雲端中分析定序資料。
  - 本機 — 在儀器上分析定序資料或產生適用於本機或混合模式的樣本工作表 v2。
7. 選擇分析類型和版本。



如需次要分析的詳細資訊，請參閱第 51 頁 [DRAGEN 次要分析輸出檔案](#) 或 BaseSpace Sequence Hub 應用程式說明文件。如果您選擇 DRAGEN Single Cell RNA 分析，請參閱 NextSeq 1000/2000 產品檔案頁面，以取得第三方單池 RNA 基因庫準備組件相容性的相關資訊。

**i** | 若為儀器上分析，則所選版本必須與安裝在儀器上的 DRAGEN 版本相符。若要確認儀器上安裝的 DRAGEN 版本，請參閱第 63 頁 [DRAGEN 工作流程和授權更新](#)。

8. [選用] 按照以下步驟設定自訂索引組件。

如果您正在使用多個基因庫，則基因庫必須具有相同的索引讀數長度。

- 選擇 [Index Adapter Kit (索引轉接組件)] 下方的 [Add Custom Index Adapter Kit (新增自訂索引轉接組件)]。
- 選擇範本類型，然後輸入組件名稱、轉接序列、索引策略及索引定序。  
確認第二個索引 (i5) 轉接序列處於正向方向。
- 選擇 [Create New Kit (建立新組件)]。

9. [選用] 按照以下步驟設定自訂基因庫準備組件。

- 選擇 [Library Prep Kit (基因庫準備組件)] 下拉式清單下方的 [Add Custom Library Prep Kit (新增自訂基因庫準備組件)]。
- 輸入自訂基因庫準備組件的名稱、讀數類型、預設讀數循環及相容的索引轉接組件。
- 選擇 [Create New Kit (建立新組件)]。

10. 選擇下列儀器設定。視基因庫準備組件而定，系統會自動選擇建議的選項。部分基因庫準備組件具有不可變更的索引讀數和讀數類型硬式編碼數量。

- 基因庫準備組件
- 索引轉接組件
- 索引讀數數量
- 讀數類型
- 每個讀數的定序循環數

**i** | 如果將基因庫準備組件選擇為 [Not Specified (未指定)]，則在將索引定序輸入 [Sample Data (樣本資料)] 區段之前，索引讀數數量將不會更新。

11. 使用下列其中一個選項將樣本資訊輸入 [Sample Data (樣本資料)] 試算表。若要在下游分析期間將樣本分組以進行資料彙總，請在 [Project (專案)] 欄位中為群組指派名稱。

- 選擇 [Import Data (匯入資料)]，然後選擇您的樣本工作表。確認您的樣本工作表符合格式要求。請參閱第 72 頁 [樣本工作表 v2 設定](#)。在初次安裝後更改樣本工作表可能會導致分析失敗。
- 從外部檔案直接貼上樣本 ID 和索引板正確位置或 i7 和 i5 索引。貼上之前，請在 [Rows (資料列)] 欄位中輸入樣本資料列數量，然後選擇 +。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元、連字號及底線。

**i** | 固定配置索引板必須輸入正確位置。沒有固定配置的索引必須輸入 i7 和 i5 索引。您必須以正向方向輸入 i5 索引。

- 手動輸入樣本 ID 和對應的正確位置或索引。如果將基因庫準備組件選擇為 [Not Specified (未指定)]，請以正向方向輸入索引 2 (i5) 定序。

12. 選擇 [Next (下一步)]。

## 設定次要分析

設定為執行所選分析類型的設定。如需 DRAGEN 分析工作流程的詳細資訊，請參閱第 51 頁 [DRAGEN 次要分析輸出檔案](#)

### Illumina DRAGEN BCL Convert

使用下列步驟設定 Illumina DRAGEN BCL Convert 分析。

1. 輸入下列選用設定。

設定	說明
AdapterRead1	讀數 1 的轉接序列。如果使用 Illumina 基因庫準備組件，請將 [AdapterRead1] 欄位保留為空白。
AdapterRead2	讀數 2 的轉接序列。如果使用 Illumina 基因庫準備組件，請將 [AdapterRead2] 欄位保留為空白。
BarcodeMismatchesIndex1	第一個索引讀數和索引定序之間允許的不相符項目數量。預設值為 1。如果條碼為 6bp，則建議值為 0。
BarcodeMismatchesIndex2	第二個索引讀數和索引定序之間允許的不相符項目數量。預設值為 1。如果條碼為 6bp，則建議值為 0。
OverrideCycles	用於指定 UMI 循環和覆寫讀數循環的字串。允許使用下列值： <ul style="list-style-type: none"> <li>· N — 指定要忽略的循環。</li> <li>· Y — 指定定序循環。</li> <li>· I — 指定索引循環。</li> <li>· U — 指定要修剪的 UMI 循環。</li> </ul> 每個元素均以分號區隔。下列是 OverrideCycles 輸入的範例。 U8Y143; I8; I8; U8Y143 N10Y66; I6; N10Y66

2. 選擇是否要儲存 FASTQ 檔案的複本。只有選擇保留 FASTQ 檔案時，才會產生 FASTQ 檔案。

3. 選擇下列其中一個 FASTQ 輸出格式選項：

- gzip — 以 gzip 格式儲存 FASTQ 檔案。
- DRAGEN — 以 ora 格式儲存 FASTQ 檔案。

4. 完成執行設定。

- 若要將執行設定傳送至 BaseSpace Sequence Hub 帳號，請選擇 [Submit Run (提交執行)]。提交至 BaseSpace Sequence Hub 的執行會出現在規劃的執行清單中，且適用於使用雲端模式或混合模式的系統。

- 若要將執行設定儲存成 v2 檔案格式的樣本工作表，請從 [Submit Run (提交執行)] 下拉式清單中選擇 [Export Sample Sheet (匯出樣本工作表)]。需要樣本工作表才能在使用本機模式的系統上啟動執行。只有選擇 [Local (本機)] 作為分析位置時，才能使用此選項。

## Illumina DRAGEN Enrichment

使用下列步驟設定 Illumina DRAGEN Enrichment 分析。

1. 選擇參考基因組。  
請盡可能使用具替代功能的參考基因組。
2. 選擇包含您目標區域的 \*.bed 檔案，或上傳新的自訂檔案。  
確認 BED 檔案的參考基因組與在步驟 1 中所選的參考基因組相符。若為新的自訂 BED 檔案，請使用下列命名格式：name\_of\_panel\_versionNumber.referencegenome.bed。
  - 本機模式 — 選擇 [Select Custom File (Local) (選擇自訂檔案 - 本機)] 以針對單一執行上傳，或選擇 [Upload Custom File (BaseSpace) (上傳自訂檔案 - BaseSpace)] 以便重複使用。
  - 雲端或混合模式 — 選擇 [Upload Custom File (上傳自訂檔案 - BaseSpace)]。自訂 BED 檔案只能在其所上傳的工作群組中使用。
3. 選擇生殖系列或體池變異判定工具。
4. [選用] 如果使用體池變異判定工具，請選擇雜訊基準檔案。如需詳細資訊，請參閱第 15 頁 [匯入雜訊基準檔案](#)。
5. 選擇對應/校準輸出格式。
6. 選擇是否要儲存 FASTQ 檔案的複本。只有選擇保留 FASTQ 檔案時，才會產生 FASTQ 檔案。
7. 選擇下列其中一個 FASTQ 輸出格式選項：
  - gzip — 以 gzip 格式儲存 FASTQ 檔案。
  - DRAGEN — 以 ora 格式儲存 FASTQ 檔案。
8. 完成執行設定。
  - 若要將執行設定傳送至 BaseSpace Sequence Hub 帳號，請選擇 [Submit Run (提交執行)]。提交至 BaseSpace Sequence Hub 的執行會出現在規劃的執行清單中，且適用於使用雲端模式或混合模式的系統。
  - 若要將執行設定儲存成 v2 檔案格式的樣本工作表，請從 [Submit Run (提交執行)] 下拉式清單中選擇 [Export Sample Sheet (匯出樣本工作表)]。樣本工作表和次要分析支援檔案會下載到 \*.zip 資料夾中，且需要這些檔案才能使用本機模式在系統上啟動執行。只有選擇 [Local (本機)] 作為分析位置時，才能使用此選項。

## Illumina DRAGEN Germline

使用下列步驟設定 Illumina DRAGEN Germline 分析。

1. 選擇您的參考基因組。  
請盡可能使用具替代功能的參考基因組。
2. 選擇對應/校準輸出格式。
3. 選擇是否要儲存 FASTQ 檔案的複本。只有選擇保留 FASTQ 檔案時，才會產生 FASTQ 檔案。
4. 選擇下列其中一個 FASTQ 輸出格式選項：
  - gzip — 以 gzip 格式儲存 FASTQ 檔案。
  - DRAGEN — 以 ora 格式儲存 FASTQ 檔案。
5. 完成執行設定。
  - 若要將執行設定傳送至 BaseSpace Sequence Hub 帳號，請選擇 [Submit Run (提交執行)]。提交至 BaseSpace Sequence Hub 的執行會出現在規劃的執行清單中，且適用於使用雲端模式或混合模式的系統。
  - 若要將執行設定儲存成 v2 檔案格式的樣本工作表，請從 [Submit Run (提交執行)] 下拉式清單中選擇 [Export Sample Sheet (匯出樣本工作表)]。樣本工作表和次要分析支援檔案會下載到 \*.zip 資料夾中，且需要這些檔案才能使用本機模式在系統上啟動執行。只有選擇 [Local (本機)] 作為分析位置時，才能使用此選項。

## Illumina DRAGEN RNA

使用下列步驟設定 Illumina DRAGEN RNA 分析。

1. 選擇您的參考基因組。  
請盡可能使用不具替代功能的參考基因組。
2. 選擇您的對應/校準輸出格式。
3. 選擇是否要儲存 FASTQ 檔案的複本。只有選擇保留 FASTQ 檔案時，才會產生 FASTQ 檔案。
4. 選擇下列其中一個 FASTQ 輸出格式選項：
  - gzip — 以 gzip 格式儲存 FASTQ 檔案。
  - DRAGEN — 以 ora 格式儲存 FASTQ 檔案。
5. [選用] 以基因轉移格式 (GTF) 上傳 RNA 標註檔案。
  - 本機模式 — 選擇 [Select Custom File (Local) (選擇自訂檔案 - 本機)] 以針對單一執行上傳，或選擇 [Upload Custom File (BaseSpace) (上傳自訂檔案 - BaseSpace)] 以便重複使用。
  - 雲端或混合模式 — 選擇 [Upload Custom File (上傳自訂檔案 - BaseSpace)]。GTF 檔案只能在其所上傳的工作群組中使用。

將 GTF 檔案上傳至 BaseSpace Sequence Hub 工作群組後，請從下拉式功能表中選擇 [RNA Annotation (RNA 標註)] 檔案。
6. 選擇是否要啟用差異表現。

7. 如果啟用差異表現，請為每個樣本選擇對照值或比較值。  
在每個比較群組中，任何標示為對照的樣本均會與標示為比較的所有樣本 進行比較。如果樣本不包含對照值或比較值，請選擇 [N/A (不適用)] 作為值。
8. 完成執行設定。
  - 若要將執行設定傳送至 BaseSpace Sequence Hub 帳號，請選擇 [Submit Run (提交執行)]。提交至 BaseSpace Sequence Hub 的執行會出現在規劃的執行清單中，且適用於使用雲端模式或混合模式的系統。
  - 若要將執行設定儲存成 v2 檔案格式的樣本工作表，請從 [Submit Run (提交執行)] 下拉式清單中選擇 [Export Sample Sheet (匯出樣本工作表)]。如果已提供選用的 GTF 檔案，則樣本工作表和次要分析支援檔案會下載到 \*.zip 資料夾中，且需要這些檔案才能使用本機模式在系統上啟動執行。只有選擇 [Local (本機)] 作為分析位置時，才能使用此選項。

## Illumina DRAGEN Single Cell RNA

使用下列步驟設定 Illumina DRAGEN Single Cell RNA 分析。

1. 選擇您的參考基因組。  
請盡可能使用不具替代功能的參考基因組。
2. [選用] 以基因轉移格式 (GTF) 上傳 RNA 標註檔案。
  - 本機模式 — 選擇 [Select Custom File (Local) (選擇自訂檔案 - 本機)] 以針對單一執行上傳，或選擇 [Upload Custom File (BaseSpace) (上傳自訂檔案 - BaseSpace)] 以便重複使用。
  - 雲端或混合模式 — 選擇 [Upload Custom File (上傳自訂檔案 - BaseSpace)]。GTF 檔案只能在其所上傳的工作群組中使用。

將 GTF 檔案上傳至 BaseSpace Sequence Hub 工作群組後，請從下拉式功能表中選擇 [RNA Annotation (RNA 標註)] 檔案。
3. 選擇您的對應/校準輸出格式。
4. 選擇是否要儲存 FASTQ 檔案的複本。只有選擇保留 FASTQ 檔案時，才會產生 FASTQ 檔案。
5. 選擇下列其中一個 FASTQ 輸出格式選項：
  - gzip — 以 gzip 格式儲存 FASTQ 檔案。
  - DRAGEN — 以 ora 格式儲存 FASTQ 檔案。
6. 選擇與您的基因庫準備組件類型相同的設定。  
例如，如果您選擇 Single Cell RNA Library Kit 1 作為基因庫準備組件，請選擇 [Type 1 (類型 1)] 作為 [Configuration Type (設定類型)]。
7. 選擇條碼讀數。
8. [選用] 編輯條碼和 UMI 中的鹼基數量。值會根據基因庫準備組件和選擇的設定類型自動填入。
9. 選擇股的方向。
10. [選用] 選擇包含條碼定序的檔案或上傳新的自訂檔案。
11. 如果使用 [Advanced/Custom (進階/自訂)] 設定類型，請輸入覆寫循環數、條碼位置及 UMI 位置的值。

## 12. 完成執行設定。

- 若要將執行設定傳送至 BaseSpace Sequence Hub 帳號，請選擇 [Submit Run (提交執行)]。提交至 BaseSpace Sequence Hub 的執行會出現在規劃的執行清單中，且適用於使用雲端模式或混合模式的系統。
- 若要將執行設定儲存成 v2 檔案格式的樣本工作表，請從 [Submit Run (提交執行)] 下拉式清單中選擇 [Export Sample Sheet (匯出樣本工作表)]。如果已提供選用的 GTF 檔案，則樣本工作表和次要分析支援檔案會下載到 \*.zip 資料夾中，且需要這些檔案才能使用本機模式在系統上啟動執行。只有選擇 [Local (本機)] 作為分析位置時，才能使用此選項。

## Illumina DRAGEN Amplicon

使用下列步驟設定 Illumina DRAGEN Amplicon 分析。

1. 選擇您的參考基因組。
2. 選擇包含您目標區域的 \*.bed 檔案，或上傳新的自訂檔案。  
確認 BED 檔案的參考基因組與在步驟 1 中所選的參考基因組相符。若為新的自訂 BED 檔案，請使用下列命名格式：name\_of\_panel\_versionNumber.referencegenome.bed。
  - 雲端或混合模式 — 選擇 [Upload Custom File (上傳自訂檔案 - BaseSpace)]。自訂 BED 檔案只能在其所上傳的工作群組中使用。
  - 本機模式 — 選擇 [Select Custom File (Local) (選擇自訂檔案 - 本機)] 以針對單一執行上傳，或選擇 [Upload Custom File (BaseSpace) (上傳自訂檔案 - BaseSpace)] 以便重複使用。
3. 選擇生殖系列或體池變異判定工具。
4. 選擇您的對應/校準輸出格式。
5. [本機] 選擇是否要儲存 FASTQ 檔案的複本。只有選擇保留 FASTQ 檔案時，才會產生 FASTQ 檔案。
6. 選擇是否要儲存 FASTQ 檔案的複本。只有選擇保留 FASTQ 檔案時，才會產生 FASTQ 檔案。
7. 選擇下列其中一個 FASTQ 輸出格式選項：
  - gzip — 以 gzip 格式儲存 FASTQ 檔案。
  - DRAGEN — 以 ora 格式儲存 FASTQ 檔案。
8. 完成執行設定。
  - 若要將執行設定傳送至 BaseSpace Sequence Hub 帳號，請選擇 [Submit Run (提交執行)]。提交至 BaseSpace Sequence Hub 的執行會出現在規劃的執行清單中，且適用於使用雲端模式或混合模式的系統。
  - [本機] 若要將執行設定儲存成 v2 檔案格式的樣本工作表，請從 [Submit Run (提交執行)] 下拉式清單中選擇 [Export Sample Sheet (匯出樣本工作表)]。樣本工作表和次要分析支援檔案會下載到 \*.zip 資料夾中，且需要這些檔案才能使用本機模式在系統上啟動執行。只有選擇 [Local (本機)] 作為分析位置時，才能使用此選項。

## 解凍袋裝匣和流通池

此步驟將解凍未開封袋內的匣並準備流通池。使用以下三種方法的其中一種解凍袋裝匣：可控水浴、冷藏庫或室溫空氣。請在解凍後立即使用匣，請勿重新冷凍。如果您無法在解凍後立即使用匣，請參閱第 67 頁 [將耗材放回儲存庫](#)。

圖 4 袋裝匣



### 在可控水浴中解凍匣

1. 戴上一雙無粉末的新手套，然後將匣從儲存庫中取出。
2. 從盒子中取出匣，但請勿打開銀色錫箔袋。

**!** 在水浴中解凍已撕開或破掉的包裝可能會導致定序失敗。請改為在室溫或冷藏庫中解凍。

3. 在可控的 25°C 水浴中解凍袋裝匣 6 小時：

- 無論您正在解凍多少個匣，請一律維持至少 9.5 - 10 公分的水深。
- 將溫控水浴設為 25°C。
- 包裝標籤朝上並放入水浴內，請勿完全浸入水中。

**!** 請勿嘗試施力將匣壓入水中。如果解凍期間包裝標籤未朝上或匣倒置，將會對定序資料造成負面影響。

- 請勿放置在水浴中超過 8 小時。
- 請勿同時解凍多於水浴所支援的匣數量。如需瞭解相容的水浴，請參閱第 24 頁 [輔助設備](#)。
- 請勿堆疊匣。

4. 將匣從水浴中取出，然後用紙巾擦乾。

## 在冷藏庫中解凍匣

1. 戴上一雙無粉末的新手套。
2. 在預期執行的前一天，將匣從 -25°C 至 -15°C 的儲存庫中取出。
3. 從盒子中取出匣，但請勿打開銀色錫箔袋。
4. 將匣放置在室溫下，讓包裝標籤朝上且空氣可以在側邊和上方循環。
  - ❗ 如果包裝標籤未朝上，將會對定序資料造成負面影響。
5. 在室溫下解凍 6 小時。
6. 將匣放置在 2°C 至 8°C 的冷藏庫中，讓標籤朝上且空氣可以在側邊循環。
  - ❗ 如果包裝標籤未朝上，將會對定序資料造成負面影響。
7. 在冷藏庫中解凍 12 小時。請勿超過 72 小時。

## 在室溫下解凍匣

1. 戴上一雙無粉末的新手套。
2. 將匣從 -25°C 至 -15°C 的儲存庫中取出。
3. 從盒子中取出匣，但請勿打開銀色錫箔袋。
4. 將匣放置在定位，讓標籤朝上且空氣可以在側邊和上方循環。
  - ❗ 如果包裝標籤未朝上，將會對定序資料造成負面影響。
5. 在室溫下解凍 9 小時。請勿超過 16 小時。

## 準備流通池和匣

1. 依照下述方法準備流通池。
  - a. 從 2°C 至 8°C 儲存庫中取出新的流通池。
  - b. 將未開封的包裝放在室溫下約 10 - 15 分鐘，以避免從包裝中取出流通池時凝結水珠。立刻準備流通池，確保可及時達到室溫。
2. 使用冷藏庫解凍方法時：
  - a. 將已解凍的匣從 2°C 至 8°C 的儲存庫中取出。
  - b. 將未開封的匣放在室溫下至少 15 分鐘，然後再進行定序。請勿超過 1 小時。

## 稀釋基因庫

如果使用機上變性和稀釋，則此步驟會將基因庫稀釋至適用的載入濃度。選用加入的 2% PhiX<sup>1</sup> 可提供額外計量、鹼基多樣性或正對照。對於鹼基多樣性較低的基因庫，應增加 PhiX 添加百分比。

---

<sup>1</sup>PhiX 是一種立即可用的小型 Illumina 基因庫，具有平衡的核苷酸表現。



如果要手動變性和稀釋基因庫，請使用「NextSeq 1000 和2000 變性與稀釋基因庫指南」（文件 # 1000000139235）。此步驟僅適用於機上變性和稀釋。

## 將基因庫稀釋至 2 奈莫耳

1. [選用] 將 10 奈莫耳 PhiX 從 -25°C 至 -15°C 的儲存庫中取出。  
PhiX 只有選用加入或僅執行 PhiX 時需要。
2. [選用] 讓 PhiX 在室溫下解凍 5 分鐘，然後使用 Qubit 等螢光方法進行量化以確認 PhiX 濃度。  
如果無法進行量化，請繼續使用 10 奈莫耳濃度。
3. 稍微震盪基因庫或 PhiX，然後在 280 × g 的情況下離心處理 1 分鐘。
4. 使用 RSB (含 Tween 20) 作為稀釋劑，在微量離心管中配製至少 24 微升的 2 奈莫耳基因庫。  
如需 PhiX 加入指示，請參閱第 36 頁 [加入 PhiX 對照 \(選用\)](#)。
5. 稍微攪拌後在 280 × g 的情況下離心處理 1 分鐘。

## 將 2 奈莫耳基因庫稀釋至載入濃度

1. 在微量離心管內，按照下列容量注入液體，以配製稀釋至適當載入濃度的 24 微升基因庫：

基因庫類型*	載入濃度 (微微莫耳)	2 奈莫耳基因 庫容積 (微升)	RSB (含 Tween 20) 容積 (微升)
Ampliseq for Illumina Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000	12	12
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15
Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-Free	1000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1200	14.4	9.6
TruSeq DNA Nano 550	1500	18	6
TruSeq Stranded mRNA	1000	12	12
100% PhiX	650	7.8	16.2

\* 針對未列出的基因庫類型，以 650 微微莫耳的載入濃度開始，並於後續執行中達到最佳狀況。

這份表格列出載入濃度的範例。NextSeq 1000/2000 系統與所有 Illumina 基因庫準備組件相容，但最佳載入濃度可能會根據基因庫類型而有所不同。

2. 稍微攪拌後在 280 × g 的情況下離心處理 1 分鐘。
3. 將稀釋的基因庫放置在冰塊上，直到準備進行定序為止。  
在將基因庫稀釋為載入濃度當天進行定序。

- 請依照以下說明進行。
  - 如果要加入 PhiX，請參閱第 36 頁 [加入 PhiX 對照 \(選用\)](#)。
  - 如果沒有要加入 PhiX 或執行僅限 PhiX 執行，請參閱第 36 頁 [將耗材載入匣](#)。

## 加入 PhiX 對照 (選用)

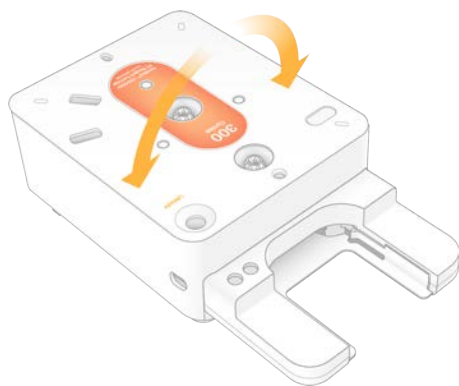
- 在微量離心管中，按照下列容積注入液體，以配製 20 微升的 1 奈莫耳 PhiX：
  - 10 奈莫耳 PhiX (2 微升)
  - RSB (含 Tween 20) (18 微升)
- 稍微攪拌後在 280 × g 的情況下離心處理 1 分鐘。
- 在稀釋至最終載入濃度的 24 微升基因庫中加入 1 微升的 1 奈莫耳 PhiX。  
這些量可配置成加入約 2% PhiX 的對照組，實際百分比則視基因庫的品質和數量而定。
- 將加入的 PhiX 放置在冰塊上，直到準備定序為止。  
在稀釋加入 PhiX 的基因庫當天進行定序。

## 將耗材載入匣

此步驟將混合預先充填的試劑並載入稀釋的基因庫和流通池，以準備用於定序的匣。

### 準備匣

- 從兩側的上方缺口撕開或用剪刀剪開，以打開匣的包裝。
- 將匣從包裝中取出。丟棄包裝和乾燥劑。
- 將匣翻轉 10 次以混合試劑。  
倒置時內部元件會咯噠作響，此為正常現象。



### 載入流通池

- 從兩側的上方切口撕開或用剪刀剪開，以打開銀色錫箔包裝。  
如果無法立即使用流通池，請參閱第 67 頁 [將耗材放回儲存庫](#)。

2. 將流通池從包裝中拉出。

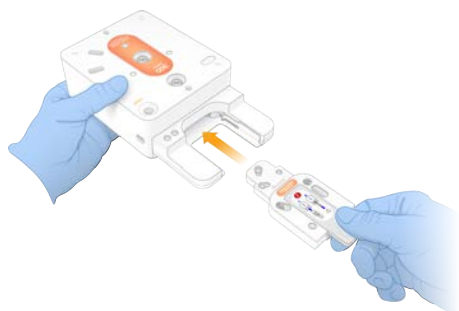
保留錫箔包裝和乾燥劑，以防您需要將流通池放回儲存庫。乾燥劑包含在位於錫箔包裝底部的小袋子中。請於定序開始時，再將其丟棄。



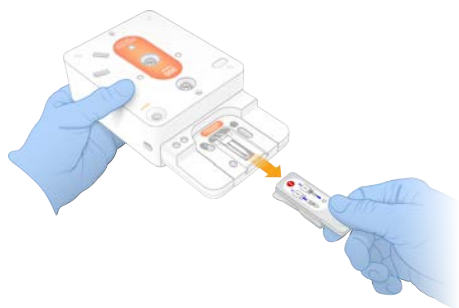
3. 捏住流通池的灰色耳片，讓耳片上的標籤朝上。

4. 推動流通池，將其插入匣前方的插槽。

聽到卡住的声音表示流通池已卡入定位。正確載入後，灰色耳片會從匣向外伸出。



5. 將灰色耳片往後拉並取下以使流通池露出。回收耳片。



## 載入基因庫

1. 使用新的 P1000 滴管管尖刺穿基因庫貯池，然後將錫箔推至邊緣以擴大開口。
2. 棄置滴管管尖以避免污染。

3. 在分配之前，將滴管管尖緩慢降低至貯池底部，以在貯池底部加入 20 微升的稀釋基因庫。避免接觸錫箔。



## 初始化定序執行

此步驟將在以下四個模式中初始化定序執行：

- 雲端模式 — 從 NextSeq 1000/2000 控制軟體的規劃執行清單中選擇執行。在定序期間，cBCL 資料會上傳至 BaseSpace Sequence Hub。定序之後，BaseSpace Sequence Hub 中的 DRAGEN 便會自動啟動。
- 混合模式 — 從 NextSeq 1000/2000 控制軟體的規劃執行清單中選擇執行。定序之後，儀器上分析便會自動啟動。cBCL 資料和 DRAGEN 次要分析輸出檔案會儲存在選定輸出資料夾中。
- 本機模式 — 將 v2 檔案格式的樣本工作表手動匯入至 NextSeq 1000/2000 控制軟體。定序之後，儀器上分析便會自動啟動。cBCL 資料和 DRAGEN 次要分析輸出檔案會儲存在選定輸出資料夾中。如果選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，則在定序完成後，亦可透過 BaseSpace Sequence Hub 應用程式啟動分析。
- 獨立模式 — 設定執行，並按照 NextSeq 1000/2000 控制軟體中的指示產生 cBCL 資料。

⚠ | 在執行前檢查或執行期間打開擋板會導致執行失敗。

⚠ | 在擋板開啟和關閉期間，請勿觸碰儀器以免受傷。

### 初始化雲端或混合執行

1. 按照第 16 頁 [設定執行模式](#)。
2. 選擇 [Start (開始)]。
3. 輸入您的 BaseSpace Sequence Hub 登入認證，然後選擇 [Sign In (登入)]。
4. 如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，請選擇包含您在 BaseSpace Sequence Hub 的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 中所建立執行的工作群組。

**!** 必須選擇工作群組才能避免發生錯誤。請確認您已選擇工作群組，然後再繼續進行。

5. 選擇 [Next (下一步)]。
6. 選擇您的執行。
7. 確認分析、執行長度及次要分析版本是否與正確的執行相符。  
分析顯示 Cloud\_to，表示分析發生在 BaseSpace Sequence Hub 中。
8. 選擇 [Review (檢視)]。
9. [選用] 輸入自訂讀數引子和自訂索引引子位置。  
如需有關準備和新增自訂引子的資訊，請參閱「NextSeq 1000 和 2000 自訂引子指南」(文件 # 1000000139569)。請務必造訪適用於基因庫準備組件的「相容產品」頁面，以確認是否需要使用 Illumina 自訂引子。
10. [選用] 選擇自訂配方。如需詳細資訊，請參閱第 81 頁 [暗週期定序](#)。  
如果使用 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3 和 Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus 組件或 Illumina Stranded mRNA Prep 組件，系統將自動選擇自訂配方。
11. [選用] 若要手動變性和稀釋基因庫，請取消選擇 [Denature and Dilute On Board (機上變性和稀釋)] 核取方塊。請參閱「NextSeq 1000 和 2000 變性與稀釋基因庫指南」(文件 # 1000000139235)。  
NextSeq 1000/2000 控制軟體設定中已設定此預設選項。
12. [選用] 若要變更輸出資料夾，請選擇 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位，然後輸入新的位置。  
系統會從預設設定自動填入 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位，而且除非已選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，否則必須使用此欄位。  
如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，則 [Save to BaseSpace Sequence Hub (儲存至 BaseSpace Sequence Hub)] 會顯示 [Enabled (啟用)]。  
如果您選擇 [Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)]，則 [Save to BaseSpace Sequence Hub (儲存至 BaseSpace Sequence Hub)] 會顯示 [Disabled (停用)]。
13. 檢視您的執行資訊，然後選擇 [Prep (準備)]。

## 初始化本機執行

1. 按照第 16 頁 [設定執行模式](#)。
2. 選擇 [Start (開始)]。
3. 如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)] 或 [Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)]，請輸入您的 BaseSpace Sequence Hub 登入認證，然後選擇 [Sign In (登入)]。
4. 如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，請選擇要將執行儲存在其中的 BaseSpace Sequence Hub 工作群組，然後選擇 [Next (下一步)]。

**!** 必須選擇工作群組才能避免發生錯誤。請確認您已選擇工作群組，然後再繼續進行。

5. 選擇 [Start With Sample Sheet (開始使用樣本工作表)] 下方的 [Choose... (選擇...)]，然後在 NextSeq 1000/2000 儀器、可攜式磁碟機或掛載的網路磁碟機上，瀏覽至 v2 格式的樣本工作表。樣本工作表檔案名稱不可包含特殊字元。

NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3 會自動偵測樣本工作表中的 DRAGEN 版本，並視需要提示您切換版本。系統上必須安裝此 DRAGEN 版本。如需安裝資訊，請參閱第 62 頁 [軟體更新](#)。

- 使用 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] — 選擇包含樣本工作表 v2 和支援檔案的 .zip 資料夾 (若適用)。否則，請選擇樣本工作表 v2。
- 未使用 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] — 確認次要分析支援檔案與樣本工作表 v2 位於相同的目錄中。

**i** | 所選樣本工作表必須為 v2 格式。若要建立樣本工作表 v2，請從 BaseSpace Sequence Hub 的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 下載產生的樣本工作表，或編輯 NextSeq 1000/2000 支援頁面提供的樣本工作表 v2 範本。如需樣本工作表 v2 格式及要求的詳細資訊，請參閱第 72 頁 [樣本工作表 v2 設定](#)。確認樣本工作表中參考的所有檔案與樣本工作表位於相同資料夾中。

6. 選擇 [Review (檢視)]。
7. [選用] 輸入自訂讀數引子和自訂索引引子位置。  
如需有關準備和新增自訂引子的資訊，請參閱「[NextSeq 1000 和2000 自訂引子指南](#)」(文件 # 1000000139569)。請務必造訪基因庫準備組件的「相容產品」頁面，以確認是否需要使用 Illumina 自訂引子。
8. [選用] 選擇自訂配方。如需詳細資訊，請參閱第 81 頁 [暗週期定序](#)。  
如果使用 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3 和 Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus 組件或 Illumina Stranded mRNA Prep 組件，系統將自動選擇自訂配方。
9. [選用] 若要手動變性和稀釋基因庫，請取消選擇 [Denature and Dilute On Board (機上變性和稀釋)] 核取方塊。請參閱「[NextSeq 1000 和2000 變性與稀釋基因庫指南](#)」(文件 # 1000000139235)。  
NextSeq 1000/2000 控制軟體設定中已設定此預設選項。
10. [選用] 若要變更輸出資料夾，請選擇 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位，然後輸入新的位置。  
系統會從預設設定自動填入 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位，而且除非已選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，否則必須使用此欄位。  
如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，則 [Save to BaseSpace Sequence Hub (儲存至 BaseSpace Sequence Hub)] 會顯示 [Enabled (啟用)]。  
如果您選擇 [Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)]，則 [Save to BaseSpace Sequence Hub (儲存至 BaseSpace Sequence Hub)] 會顯示 [Disabled (停用)]。
11. 檢視您的執行資訊，然後選擇 [Prep (準備)]。

## 初始化獨立執行

1. 按照第 16 頁 [設定執行模式](#)。
2. 選擇 [Start (開始)]。
3. 如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)] 或 [Proactive and Run Monitoring (Proactive 和執行監控)]，請輸入您的 BaseSpace Sequence Hub 登入認證，然後選擇 [Sign In (登入)]。

4. 如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，請選擇要將執行儲存在其中的 BaseSpace Sequence Hub 工作群組，然後選擇 [Next (下一步)]。
5. 選擇 [Set Up New Run (設定新的執行)]。
6. 在 [Run Name (執行名稱)] 欄位中，輸入您想要用於識別目前執行的唯一名稱。  
執行名稱可包含英數字元、虛線、連字號及底線。
7. 針對 [Read Type (讀數類型)]，請選擇要執行的定序讀數數量：
  - 單一讀數 — 執行單一讀數，這是比較簡單、快速的選項。
  - 雙端 — 執行兩個讀數，兩者一致可產生品質較高的資料，校準時也更加精確。
8. 輸入在每個讀數中執行的循環數：
 

索引循環數沒有上限，但讀數循環和索引循環的總和必須小於匣標籤上指示的循環數加 27 次循環數。

讀數 1 — 輸入 1 - 151 次循環。

索引 1 — 輸入索引 1 (i7) 引子的循環數。僅執行 PhiX 時，請於兩個索引欄位中輸入 0。

索引 2 — 輸入索引 2 (i5) 引子的循環數。

讀數 2 — 輸入最多 151 次循環。此值通常與讀數 1 的值相同。
9. 如果您選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，請選擇 [Choose... (選擇...)] 以匯入樣本工作表。
 

NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3 會自動偵測樣本工作表中的 DRAGEN 版本，並視需要提示您切換版本。系統必須安裝此 DRAGEN 版本。如需安裝資訊，請參閱第 62 頁 [軟體更新](#)。

**i** | 所選樣本工作表必須為 v2 格式。若要建立樣本工作表 v2，請從 BaseSpace Sequence Hub 的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 下載產生的樣本工作表，或編輯 NextSeq 1000/2000 支援頁面提供的樣本工作表 v2 範本。如需樣本工作表 v2 格式及要求的詳細資訊，請參閱第 72 頁 [樣本工作表 v2 設定](#)。確認樣本工作表中參考的所有檔案與樣本工作表位於相同資料夾中。
10. [選用] 輸入自訂讀數引子和自訂索引引子位置。
 

如需有關準備和新增自訂引子的資訊，請參閱「[NextSeq 1000 和2000 自訂引子指南](#)」(文件 # 1000000139569)。請務必造訪基因庫準備組件的「相容產品」頁面，以確認是否需要使用 Illumina 自訂引子。
11. [選用] 選擇自訂配方。如需詳細資訊，請參閱第 81 頁 [暗週期定序](#)
12. [選用] 若要手動變性和稀釋基因庫，請取消選擇 [Denature and Dilute On Board (機上變性和稀釋)] 核取方塊。請參閱「[NextSeq 1000 和2000 變性與稀釋基因庫指南](#)」(文件 # 1000000139235)。  
NextSeq 1000/2000 控制軟體設定中已設定此預設選項。
13. [選用] 若要變更輸出資料夾，請選擇 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位，然後輸入新的位置。  
系統會從預設設定自動填入 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位，而且除非已選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，否則必須使用此欄位。
14. 選擇 [Prep (準備)]。

## 將耗材載入儀器

1. 載入流通池（灰色耳片已取下）和稀釋的基因庫之前，請確認匣先前已解凍並倒置 10 次以進行混合。
2. 選擇 [Load (載入)]。  
NextSeq 1000/2000 控制軟體會開啟擋板並退出托盤。
3. 將匣放在托盤上，讓標籤朝上且流通池位於儀器內。將匣推入，直到其卡至定位。



4. 選擇 [Close (關閉)] 以收回匣並關閉擋板。  
NextSeq 1000/2000 控制軟體會在約 3 分鐘後顯示已掃描耗材的資訊。
5. [選用] 選擇 [Eject Cartridge (退出匣)] 以取出匣。  
擋板會在 1 分鐘後開啟並退出匣。
6. 選擇 [Sequence (定序)]。

## 執行前檢查

執行前檢查包含儀器檢查和流體檢查。流體檢查會刺穿匣封口，並導致儀器產生 3-4 個噴出聲。此為預期的狀況。試劑現在已通過流通池。

**!** 流體檢查開始後，即無法重複使用耗材。

1. 等候約 15 分鐘，待執行前檢查作業完成。  
成功完成後會自動開始執行。
2. 如果在儀器檢查期間發生錯誤，請選擇 [Retry (重試)] 以重新進行檢查。  
檢查期間，檢查週期會跳動。
3. 若要疑難排解重複發生的錯誤，請參閱 [第 67 頁 錯誤訊息解決方案](#)。

## 監視執行進度

1. 執行進度和計量出現在 [Sequencing (定序)] 畫面時進行監控。
  - 預測的執行完成時間 — 執行完成的大約日期和時間。預估的執行完成計量需要 10 次先前的執行，才能計算精確的執行完成時間。




- Q30 平均百分比 — Q 評分  $\geq 30$  的鹼基判定平均百分比。
- 預計產量 — 執行的鹼基判定預期數量。
- 總讀數 PF — 通過濾網的雙端 (若適用) 叢集數量 (以百萬為單位)。
- 即時解編 — 完成讀數 1、索引 1 及索引 2 循環後，在讀數 2 開始時啟動後的解編狀態。即使未執行索引循環，狀態仍會顯示 [Complete (完成)]。不適用於雲端模式執行。
- 即時校準 — 完成讀數 1、索引 1 及索引 2 循環後，在讀數 2 開始時初始化讀數 1 的校準狀態。不適用於雲端模式執行。

循環 26 次後 (開始執行後約 6 小時) 會出現 Q30 和產量計量。

2. 若要監控執行流程，請選擇控制軟體功能表，然後選擇 [Process Management (流程管理)]。
3. 若要取消執行，請選擇 [End Run (結束執行)]。如需有關取消執行的詳細資訊，請參閱第 68 頁 [取消執行](#)。
4. 從儀器卸除耗材。在 3 天內將匣從儀器中取出。

## 卸除耗材

1. 定序完成後，選擇 [Eject Cartridge (退出試劑匣)]。  
軟體會從儀器中退出使用過的試劑匣。
2. 從托盤將匣取出。
3. 請取出匣中的流通池，
4. 根據所在地區的適用標準棄置內含電子元件的流通池。
5. [選用] 將位於匣側邊 Illumina 標誌下方的排放塞取下，並放置在適當的區域 (即水槽或有害液體廢棄物容器)，讓塞子朝遠離您臉部的水平或向下方向。根據您所在地區的適用標準排放用過的試劑。如果未啟用自動清除試劑，則排放時間將取決於匣的大小。  
  
 這組試劑可能含有有害的化學物質。吸入、誤食、皮膚接觸與眼睛接觸都可能造成人員傷害。為避免曝露於危險之中，請穿戴適當的保護設備，包括護眼罩、手套和實驗衣。將使用過的試劑視為化學廢棄物處理，並按照適用的地區、國家和當地法律與規定棄置。如需其他環境、健康狀態和安全資訊，請參閱 SDS，網址為 [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)。
6. 棄置試劑匣。  
流體會隨著試劑匣棄置，因此執行後清洗並非必要程序。
7. 選擇 [Close Door (關門)] 可重新載入托盤並返回 [Home (首頁)] 畫面。  
軟體會自動重新載入托盤，且感應器會確認試劑匣已取出。

## 清潔匣托盤

只有試劑滲出到匣托盤上時，才需要清潔匣托盤。

1. 將匣從儀器中取出。
2. 戴上一雙無粉末的新手套及任何其他防護裝備。

3. 在布上噴灑濃度 10% 的漂白劑溶液。
4. 用布擦拭匣托盤，然後立即使用強效擦拭巾去除漂白劑溶液。  
如果未立即去除，漂白劑將會在匣托盤上留下汗跡。
5. 在匣托盤上噴灑濃度 70% 的乙醇溶液，然後立即使用強效擦拭巾去除溶液。
6. 將匣托盤移回至載入位置。

# 定序輸出

本節說明可執行鹼基判定、指派品質評分及輸出資料的即時分析軟體。瞭解不同的輸出檔案類型，以及可在執行後找到這些檔案的位置。

## 即時分析概覽

NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統會在儀器 Compute Engine (CE) 上執行即時分析軟體實作 RTA3。RTA3 會從攝影機接收到的影像中萃取強度、執行鹼基判定、針對鹼基判定品質給予評分、依據 PhiX 校準，然後回報 InterOp 檔中的資料，以便在儀器控制軟體中進行檢視。

為了有效利用處理時間，RTA3 會將資訊儲存在記憶體中。如果 RTA3 終止，處理不會繼續，記憶體中正在處理的任何執行資料都會喪失。

### RTA3 輸入

RTA3 須使用包含在本機系統記憶體中的基因模版影像才能進行處理。RTA3 會接收來自控制軟體的執行資訊和指令。

### RTA3 輸出

每一色彩通道的影像會以基因模版形式在記憶體中傳遞到 RTA3。RTA3 會從這些影像輸出一組依品質評分的鹼基判定檔案和濾網檔案。其他輸出項目均支援輸出檔案。

檔案類型	說明
鹼基判定檔案	每個經過分析的基因模版均包含在一個串連的鹼基判定 (*.cbcl) 檔案中。來自相同通道和表面的基因模版會針對每個通道和表面彙總為一個 *.cbcl 檔案。
濾網檔案	每個基因模版都會產生一個濾網檔案 (*.filter)，其中指出叢集是否通過濾網。
叢集位置檔案	叢集位置 (*.locs) 檔案包含基因模版中每一個叢集的 X、Y 坐標。每次執行都會產生一個叢集位置檔案。

輸出檔案可用於 DRAGEN 和 BaseSpace Sequence Hub 中的下游分析。

## 處理時發生錯誤

RTA3 將建立記錄檔案並寫入 [Logs] 資料夾。錯誤會以 \*.log 檔案格式使用純文字檔記錄。

下列記錄檔將在處理結束時轉移至最終輸出目的地：

info\_00000.log 會摘要重要的執行事件。

error\_00000.log 列出執行期間發生的錯誤。

warning\_00000.log 列出執行期間出現的警告。

## 流通池基因模版

基因模版是流通池上的小型成像區域。攝影機會針對每個基因模版拍攝一張影像。

NextSeq 1000/2000 P2 流通池總共有 132 個基因模版。NextSeq 1000/2000 P3 流通池總共有 264 個基因模版。

表 5 流通池基因模版

流通池元件	NextSeq 1000/2000 P2 流通池	NextSeq 1000/2000 P3 流通池	說明
通道數量	1	2	通道的光學特性不同，但並非流體分離通道。
表面數量	2	2	P2 和 P3 流通池的兩個表面會成像：頂端和底部。基因模版的頂端表面會先成像。
每個通道的長列數量	6	6	長列是流通池通道上的條狀區域。
每個長列的基因模版數量	11	11	基因模版為長列的一部分，能顯示流通池上的成像區域的細節。
產生的基因模版總數	132	264	「通道數」×「表面數」×「長列數」×「每個長列的基因模版數」等於基因模版的總數。

## 基因模版命名

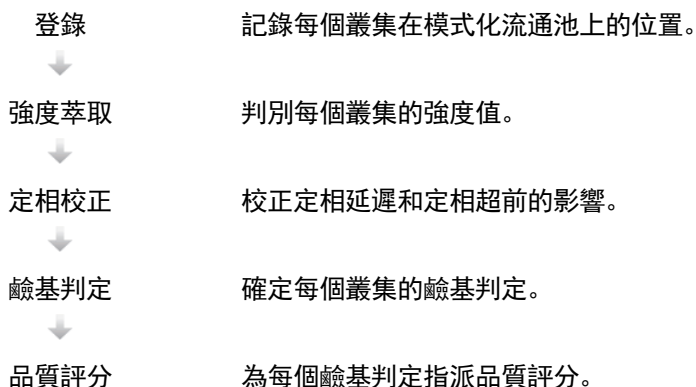
基因模版名稱為四位數的數字，代表其在流通池上的位置。例如，基因模版名稱 1205 代表頂端表面、長列 2、基因模版 05。

第一個數字代表表面：1 為頂端，2 為底部。

第二個數字代表長列編號：1、2、3、4、5 或 6。

最後兩個數字代表基因模版編號。若為長列編號 1-4，編號從流通池的出口端開始為 01，一直到入口端為 11。若為長列編號 5-6，編號從入口端開始為 01，出口端為 11。

## 即時分析工作流程



### 登錄

登錄會根據模式化流通池上的奈米井旋轉方形陣列校準影像。因為奈米井依序排列，因此基因模版上各叢集的X和Y座標可預先決定。每次執行時，叢集位置會寫入叢集位置 (s.locs) 檔。

如果循環中有任何影像登錄失敗，系統就不會針對該循環中的該基因模版產生任何鹼基判定。請使用 Sequencing Analysis Viewer 來判斷哪些影像在登錄時失敗。

### 強度萃取

在登錄後，強度萃取會計算指定影像中每個奈米井的強度值。如果登錄失敗，該基因模版的強度將無法萃取。

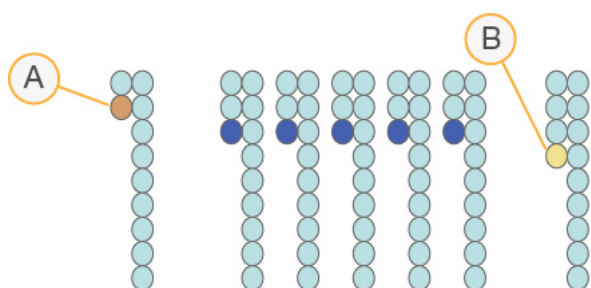
### 定相校正

定序反應期間，一個叢集中的各股DNA在每次循環會延長一個鹼基。當有一股在當前併入循環中超出相位，便會發生定相延遲和定相超前。

當落後一個鹼基時，則發生定相延遲。

當超前一個鹼基時，則發生定相超前。

圖 5 相位延遲和定相超前



- A. 一個鹼基定相延遲的讀數
- B. 一個鹼基定相超前的讀數。

RTA3 校正定相延遲和定相超前的影響，可最大化執行過程中每次循環的資料品質。

## 鹼基判定

鹼基判定可判斷特定循環中指定基因模版的每個叢集的鹼基（A、C、G 或 T）。NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統使用雙通道定序，僅需要兩個影像即可將四個 DNA 鹼基的資料編碼，其中一個來自綠色通道，另一個來自藍色通道。

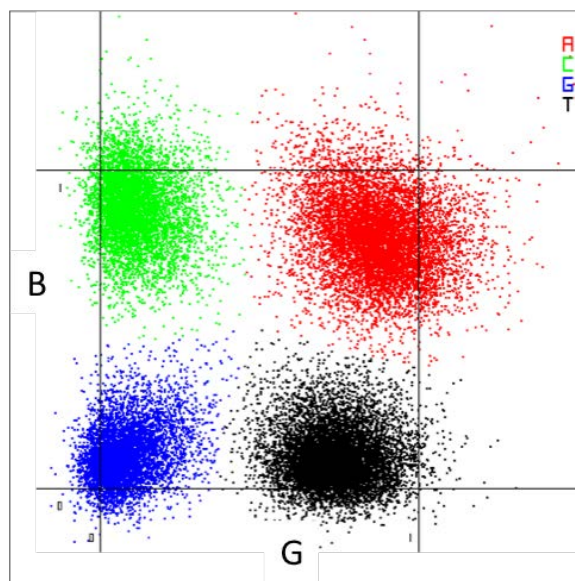
無法判定會識別為 N。叢集未通過濾網、登錄失敗或叢集從影像移除，將發生「無法判定」的情況。

從綠色和藍色影像萃取的各叢集強度相互比較後，可獲得四種不同的群體。每種群體對應一個鹼基。鹼基判定流程決定了每個叢集所屬的群體。

表 6 雙通道定序中的鹼基判定

鹼基	綠色通道	藍色通道	結果
A	1 (存在)	1 (存在)	同時在綠色和藍色通道顯示強度的叢集。
C	0 (不存在)	1 (存在)	僅在藍色通道顯示強度的叢集。
G	0 (不存在)	0 (不存在)	未在已知叢集位置顯示強度的叢集。
T	1 (存在)	0 (不存在)	僅在綠色通道顯示強度的叢集。

圖 6 叢集強度可視化



**i** | 每個叢集的顏色會與 Sequence Analysis Viewer (SAV) 中的百分比鹼基圖以及 BaseSpace Sequence Hub 依循環排列的執行資料相互關聯，而非與綠色和藍色通道相互關聯。

## 通過濾網的叢集

執行期間，RTA3 會篩選原始資料，移除不符合資料品質標準的讀數。也會移除重複和品質不佳的叢集。

針對雙通道分析，RTA3 使用以群體為基礎的系統，判定鹼基的純度（強度純度測量）。前 25 次循環中，若最多僅有一個鹼基判定的純度低於固定標準，叢集便會通過濾網（PF）。包含時，系統會針對通過濾網的叢集，在第 26 次循環時於基因模版子集上執行 PhiX 校準。未通過濾網的叢集則不會進行鹼基判定及校準。

## 品質評分

品質評分（Q 評分）是鹼基判定出錯機率的預測。Q 評分較高則代表鹼基判定品質較高，正確的可能性更大。在決定 Q 評分後，系統會將結果記錄在鹼基判定 (\*.cbcl) 檔案中。

Q 評分能簡潔地表示較低的出錯機率。品質評分顯示為 Q(X)，其中 X 為分數。下列表格顯示品質評分與出錯機率的關係。

Q 評分 Q(X)	出錯機率
Q40	0.0001 (1/10,000)
Q30	0.001 (1/1,000)
Q20	0.01 (1/100)
Q10	0.1 (1/10)

## 品質評分及報表

品質評分計算每個鹼基判定的一組預測因子，然後使用預測值在品質表查看 Q 評分。品質表用於為執行提供最佳的準確品質預測，由定序平台特別設定和化學版本產生。

**i** | 品質評分是依據 Phred 演算法的修訂版。

為了產生 NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統的 Q 表格，系統會根據這些特定預測功能的叢集決定三個鹼基判定群組。為鹼基判定分組後，系統會根據經驗計算三個群組的各別平均錯誤率，而對應的 Q 評分會連同與該群組相互關聯的預測功能一併記錄在 Q 表格中。因此，RTA3 只會產生三個 Q 評分，而這些 Q 評分則代表群組的平均錯誤率（第 50 頁 [透過 RTA3 簡化 Q 評分](#)）。整體來說，此方式可產生簡化但高度精確的品質評分。品質表格中的三個群組對應到臨界 (<Q15)、中等 (~Q20) 及高品質 (>Q30) 鹼基判定，並分別獲指派 12、23 及 37 的特定評分。此外，系統會將空值評分 2 指派給任何無法判定。這項 Q 評分報告模式能在不影響精準度或效能的情況下，降低儲存空間和頻寬要求。

圖 7 透過 RTA3 簡化 Q 評分



## 定序輸出檔案

檔案類型	檔案描述、位置和名稱
串連的鹼基判定檔案	每個已分析的叢集會包含在一個串連的鹼基判定檔案中，依照循環、通道和表面彙總成一個檔案。彙總的檔案包含串連的鹼基判定和每個叢集的編碼品質評分。串連的鹼基判定檔案會用於 BaseSpace Sequence Hub 或 bcl2fastq2。 Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[lane]_[surface].cbcl，例如 L001_1.cbcl



檔案類型	檔案描述、位置和名稱
叢集位置檔案	針對每個流通池都會有一個二進位叢集位置檔案，其中包含基因模版中叢集的 XY 座標。符合流通池奈米井設定的六方設定會預先定義座標。 Data/Intensities s_[lane].locs
濾網檔案	濾網檔案指明叢集是否通過濾網。濾網檔案是利用 25 次循環的數據於循環 26 時所產生。每個基因模版會產生一個濾網檔案。 Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter
InterOp 檔案	您可以透過儀器控制軟體在儀器上檢視二進位報告檔案，或在 SAV 或 BaseSpace Sequence Hub 中的儀器外檢視。執行過程中會持續更新 InterOp 檔。 InterOp 資料夾
執行資訊檔案	列出執行名稱、每個讀數的循環數、讀數是否為索引讀數，及流通池上的長列及基因模版數。該執行資訊檔案建於執行開始時。 [根資料夾], RunInfo.xml

## DRAGEN 次要分析輸出檔案

DRAGEN Bio-IT Platform 可進一步使用下列其中一種分析管道分析您的儀器上定序輸出。

- BCL Convert
- Germline
- RNA
- Enrichment
- Single Cell RNA
- DNA Amplicon

本節提供每個 DRAGEN 管道的相關資訊，包括輸出檔案資訊。除了產生每個管道特定的檔案外，DRAGEN 還會在 <樣本名稱>.metrics.json 檔案中提供分析的計量，以及第 56 頁 [DRAGEN BCL Convert 管道](#) 中所述的報告。如需 DRAGEN 的詳細資訊，請參閱 [DRAGEN Bio-IT Platform 支援網站頁面](#)。

所有 DRAGEN 管道均支援解壓輸入 BCL 檔案和壓縮輸出 BAM/CRAM 檔案。

輸出檔案注意事項：

- 若為執行儀器上分析的 Germline、RNA、Enrichment 及 DNA Amplicon 管道，如果選擇 [Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive、執行監控和儲存)]，則 BAM 檔案將不會上傳至 BaseSpace Sequence Hub。

## DRAGEN Enrichment 管道

此 DRAGEN Enrichment 管道支援下列功能。如果使用 DRAGEN 3.7 或更新版本，則支援生殖系列和體池（僅限腫瘤）模式。

- 樣本解編
- 對應和校準，包括排序和重複標記
- 小型變異判定
- 結構變異判定

若要執行變異判定，必須將 \*.bed 檔案包含在樣本工作表中或在 BaseSpace Sequence Hub 上的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 指定。結構變異判定僅會針對雙端讀數和生殖系列模式產生。

如果使用 DRAGEN Enrichment 3.8 版或更新版本，您可以輸入雜訊基準檔案以提升體池模式下的效能。請參閱 [第 15 頁 匯入雜訊基準檔案](#)。

此管道會產生下列輸出檔案。

元件	類型	輸出檔案名稱
對應/校準	BAM 或 CRAM	· <樣本名稱>.bam 或 · <樣本名稱>.cram
小型變異判定	VC 和 gVCF*	· <樣本名稱>.hard-filtered.gvcf.gz · <樣本名稱>.hard-filtered.vcf.gz
結構變異判定	VCF	· <樣本名稱>.sv.vcf.gz

\*gVCF 輸出檔案僅適用於生殖系列模式。

## DRAGEN Germline 管道

此 DRAGEN Germline 管道支援下列功能：

- 樣本解編
- 對應和校準，包括排序和重複標記
- 小型變異判定
- 雙端讀數的結構變異判定
- 人類基因組的複製數變異判定
- 人類基因組的重複擴增
- 人類基因組的純合性區域
- [DRAGEN v3.8 或更新版本] CYP2D6 偵測

結構變異判定僅會針對雙端讀數產生。

此管道會產生下列輸出檔案。

元件	類型	輸出檔案名稱
對應/校準	BAM 或 CRAM	· <樣本名稱>.bam 或 · <樣本名稱>.cram
小型變異判定	VCF 和 gVCF	· <樣本名稱>.hard-filtered.gvcf.gz · <樣本名稱>.hard-filtered.vcf.gz
結構變異判定工具	VCF	· <樣本名稱>.sv.vcf.gz
複製數變異	VCF	· <樣本名稱>.cnv.vcf.gz
重複擴增	VCF	· <樣本名稱>.repeats.vcf.gz
純合性區域	CSV 和 BED	· <樣本名稱>.roh_metrics.csv · <樣本名稱>.roh.bed
CYP2D6 偵測	TSV	· <樣本名稱>.cyp2d6.tsv

## DRAGEN DNA Amplicon 管道

此 DRAGEN 管道支援下列功能：

- 樣本解編
- 對應和校準，包括排序和重複標記
- 生殖系列或體池模式下的小型變異判定。

若要執行變異判定，必須將 \*.bed 檔案包含在樣本工作表或在 BaseSpace Sequence Hub 上的 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 中指定。

此管道會產生下列輸出檔案。

元件	類型	輸出檔案名稱
對應/校準	BAM 或 CRAM	· <樣本名稱>.bam 或 · <樣本名稱>.cram
小型變異判定	VC 和 gVCF*	· <樣本名稱>.hard-filtered.gvcf.gz · <樣本名稱>.hard-filtered.vcf.gz

\*gVCF 輸出檔案僅適用於生殖系列模式。

## DRAGEN RNA 管道

此 DRAGEN RNA 管道支援下列功能：

- 樣本解編
- 對應和校準，包括排序和重複標記
- 基因融合偵測

- 轉錄量化
- [DRAGEN v3.8 或更新版本] 差異基因表現

若要產生輸出檔案，請在樣本工作表中指定 GTF 檔案或確認參考基因組是否存在預設的 genes.gtf.gz。

此管道會產生下列輸出檔案。

元件	類型	輸出檔案名稱	說明
對應/校準	BAM 或 CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>· &lt;樣本名稱&gt;.bam 或</li> <li>· &lt;樣本名稱&gt;.cram</li> </ul>	符合 SAM 規格的校準輸出。
基因融合偵測	純文字	<ul style="list-style-type: none"> <li>· &lt;樣本名稱&gt;.fusion_candidates.preliminary</li> <li>· &lt;樣本名稱&gt;.fusion_candidates.final</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 使用濾網前的融合候選對象。</li> <li>· 使用濾網後的融合候選對象。</li> </ul>
轉錄量化	純文字	<ul style="list-style-type: none"> <li>· sample_name.quant.genes.sf</li> <li>· sample_name.quant.sf</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 基因層級的轉錄量化結果。</li> <li>· 所有轉錄量化結果。</li> </ul>
差異表現	PNG	請參閱下列差異表現輸出檔案表格。	若要產生輸出檔案，必須在樣本工作表中設定比較。

啟用差異表現時會輸出下列檔案。

檔案名稱	說明
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	包含差異表現分析計量。
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	說明對照組和比較組中每個樣本對應至每個基因的讀數數量。
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	對照組和比較組中，針對樣本不同表現基因的表現熱圖。熱圖僅顯示調整後的 P-值 <-.05 的不同表現基因。如果有超過 30 個不同表現基因，則僅會使用前 30 個不同表現的基因。如果 DESeq1 無法合併或沒有不同表現的基因，則不會產生檔案。

檔案名稱	說明
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	包含作為平均訊號強度函數的基因表現比率變化。為顯示在兩個樣本中進行之測量的差異，此圖將資料轉換為 M (記錄比率) 和 A (平均值) 尺度，然後繪製這些值的圖表。MA 圖會透過標準化計數方式針對所有樣本顯示可歸因於指定變數的 log2 倍數變化。如果調整後的 P-值低於 0.1，則點為紅色。不適用於該範圍的點會以空心三角形繪製。向上指的三角形代表正對數倍數變化。向下指的三角形代表負對數倍數變化。
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	此圖顯示說明變化最大的前兩個主要元件。
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	包含 DESeq2 結果，說明平均值表現、log2 (倍數變化)、log2 的標準錯誤、P-值、調整後的 P-值，以及每個基因的表現狀態。
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	包含由 DESeq2 計算的規則化對數轉換計數。

## DRAGEN Single Cell RNA 管道

此 DRAGEN 支援下列功能：

- 樣本解編
- 對應和校準，包括排序和重複標記
- 池和基因分類

若要產生輸出檔案，請在樣本工作表中指定 GTF 檔案或確認參考基因組是否存在預設的 genes.gtf.gz。

此管道會產生下列輸出檔案。

元件	類型	輸出檔案名稱
對應/校準	BAM 或 CRAM	· <樣本名稱>.bam 或 · <樣本名稱>.cram
池/基因分類	TSV、CSV 及 MTX	· <樣本名稱>.scRNA.barcodeSummary.tsv · <樣本名稱>.scRNA.genes.tsv · <樣本名稱>.scRNA.matrix.mtx
分析報告	HTML	<樣本名稱>.dragen.scma-report.*.html

## DRAGEN BCL Convert 管道

DRAGEN BCL Convert 管道使用從定序執行和樣本工作表資訊產生的 BCL 資料輸出每個樣本的 FASTQ 檔案。此 FASTQ 檔案名稱為 <樣本名稱>.fastq.gz。

此管道會產生下列報告。

元件	類型	輸出檔案名稱
解編	CSV	· Demultiplex_Stats.csv
轉接計量	CSV	· Adapter_Metrics.csv
標籤跳躍	CSV	· Index_Hopping_Counts.csv
排列在前的未知條碼	CSV	· Top_Unknown_Barcodes.csv

## 解編統計報告

解編統計報告包含指派給樣本工作表中每個樣本之通過濾網數量的相關資訊。任何未與樣本清楚相關聯的讀數將分類為未定。此報告也會包含指派給每個樣本之通過濾網（PF）讀數中鹼基品質評分的相關資訊。

包含下列資訊。

計量	說明
通道	將樣本定序的流通池通道
SampleID	樣本工作表中的樣本 ID。如果讀數未與樣本對應，則此欄位會顯示 undetermined。
索引	樣本工作表中以連字號區隔之索引讀數 1 和索引讀數 2 的串連。如果讀數未與樣本對應，則此欄位會顯示 undetermined。
# Reads	針對指定通道中樣本解編的 PF 讀數數量。
# Perfect Index Reads	與樣本工作表中所指定合併索引定序完全相符的讀數數量。
# One Mismatch Index Reads	在樣本工作表中所指定合併索引定序中有一個錯誤的讀數數量。
# of $\geq$ Q30 Bases (PF)	與通過 Q30 品質門檻的讀數對應的鹼基數量（包括轉接）。
Mean Quality Score (PF)	與指定通道中的樣本對應的讀數平均值品質評分。此值包含轉接鹼基。

## 轉接計量報告

轉接計量檔案包含與每個讀數相關聯的轉接和樣本鹼基數量。

包含下列資訊。

計量	說明
通道	將樣本定序的流通池通道
Sample_ID	樣本工作表中的樣本 ID。如果讀數未與樣本對應，則此欄位會顯示 undetermined。
索引	樣本工作表中的索引 1 定序。如果未在樣本工作表中指定索引或樣本 ID 值為 undetermined，則此欄位將為空白。
索引 2	樣本工作表中的索引 2 定序。如果未在樣本工作表中指定索引 2 或樣本 ID 值為 undetermined，則此欄位將為空白。
R1_AdapterBases	與樣本工作表中的 AdapterRead1 相對應的鹼基數量。
R1_SampleBases	對應通道和樣本之讀數 1 中的修剪或遮罩鹼基數量。
R2_AdapterBases	與樣本工作表中的 AdapterRead2 對應的鹼基數量。
R2_SampleBases	對應通道和樣本之讀數 2 中的修剪或遮罩鹼基數量。
# Reads	指定通道中的樣本讀數數量。

## 標籤跳躍計數報告

標籤跳躍計數報告包含雙索引執行的每個預期和跳躍標籤的讀數數量。此報告僅包含每個通道的唯一雙索引，且在兩個索引中均未偵測到任何條碼衝突。若要產生通道的標籤跳躍計量，則各個索引內的每個項目配對都必須具有至少  $2N+1$  的漢明距離，其中  $N$  代表為索引指定的條碼不相符公差。

包含下列資訊。

若為不包含唯一雙索引的非索引執行、單索引執行或通道，則檔案只會包含標頭。

計量	說明
通道	將樣本定序的流通池通道
# Reads	指定通道中的樣本讀數數量。
SampleID	樣本工作表中的樣本 ID。如果讀數未與樣本對應，則此欄位會顯示 undetermined。
索引	樣本工作表中的索引 1 定序。如果讀數為單端型或樣本 ID 值為 undetermined，則此欄位為空白。
索引 2	樣本工作表中的索引 2 定序。如果讀數為單端型或樣本 ID 值為 undetermined，則此欄位為空白。

## 主要的未知條碼報告

主要的未知條碼報告包含每個通道尚未根據允許的不相符數量在樣本工作表中識別的前 100 個索引或索引配對。如果有多個索引值作為第 100 個最高索引計數項目，則所有具有相同計數的索引值都會輸出作為第 100 個項目。包含下列資訊：

計量	說明
通道	將樣本定序的流通池通道
索引	索引讀數 1 中每個未知索引的定序。如果找不到任何未知的索引，則此欄位為空白。
索引 2	索引讀數 2 中每個未知索引的定序。如果執行為單端讀數或找不到任何未知的索引，則此欄位為空白。
# Reads	指定通道中的樣本讀數數量。

## Illumina DRAGEN QC 報告

針對所有管道，DRAGEN FastQC 預設會產生 QC 圖。彙總的 QC 結果會儲存在 AggregatedFastqcMetrics 資料夾中，而每個樣本結果會儲存在 <樣本名稱> 資料夾中。

如果樣本數量大於 512，則不會產生 QC 報告。

















提供下列 QC 圖。

QC 圖	說明
adapter_content	每個鹼基對的定序百分比。
positional_mean_quality	每個讀數位置的 Phred 級別鹼基品質平均分數。
gc_content	每個定序讀數的 GC 內容百分比。
positional_quality.read_1	讀數 1 中具有特定核苷酸且位於指定位置的 Phred 級別鹼基品質平均值。
gc_quality	
positional_quality.read_2	讀數 2 中具有特定核苷酸且位於指定位置的 Phred 級別鹼基品質平均值。
n_content	
read_length	每個讀數的定序長度。
positional_base_content.read_1	讀數 1 中位於指定位置的每個特定核苷酸的鹼基數量。
read_quality	每個定序讀數的 Phred 級別品質平均分數。
positional_base_content.read_2	讀數 2 中位於指定位置之每個特定核苷酸的鹼基數量。



## DRAGEN 次要分析輸出資料夾結構

依預設，DRAGEN 會在您於 [Settings (設定)] 索引標籤中所選的輸出資料夾中產生輸出檔案。針對每個工作流程，DRAGEN 會在 report.html 檔案中產生摘要報告。

-  Data
  -  report.html
  -  report\_files
  -  AggregateFastQCPlots
    -  \*.png
  -  \*stderr\_.txt
  -  \*stdout\_.txt
  -  dragen\_prev\_48\_hrs.log
  -  dlm\_prev\_48\_hrs.log
  -  SampleSheet.csv
  -  執行輸入檔案 (例如: BED、GTF 檔案)
  -  sample\_name
    -  enrich\_caller 、 germline\_seq、 dna\_amplicon\_seq、 ma\_seq 或 scrna\_seq
      -  sample\_name
        -  \*.png
        -  dragen\_\*.log
        -  sample\_name.\*.metrics.csv
        -  [DNA] sample\_name.\*.vcf.gz
        -  [DNA] sample\_name.\*.gvcf.gz — 不適用於 DRAGEN Bio-IT Platform Amplicon (體池) 管道。
        -  sample\_name.\*.bam 或 sample\_name.\*.cram
        -  記錄
        -  [RNA] sample\_name.fusion\_candidates.filter\_info
        -  [RNA] sample\_name.fusion\_candidates.final
        -  [RNA] sample\_name.quant.genes.sf
        -  [RNA] sample\_name.quant.sf
        -  sample\_name.metrics.json

- 📄 [scRNA] sample\_dragen-scRNA-report.\*.html
- 📄 [scRNA] sample\_name.scRNA.barcodeSummary.tsv
- 📄 [Germline] sample\_name.roh\_metrics.csv
- 📄 [Germline] sample\_name.roh.bed
- 📄 [Germline] sample\_name.cyp2d6.tsv
- 📄 sample\_name.fastqc\_metrics.csv
- 📄 sample\_name.trimmer\_metrics.csv
- 📁 [RNA] DifferentialExpression
  - 📁 Comparison1
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.differential\_expression\_metrics.csv
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.counts.csv
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.disp.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.heatmap.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.ma.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.pca.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.res.csv
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.rlog.csv
  - 📁 ComparisonN
- 📁 logs
  - 📄 \*.txt
  - 📄 \*.csv
- 📁 fastq — 只有 KeepFastq 設定為 true 時才可使用。
  - 📄 \*.fastq.gz
- 📁 ora\_fastq — 只有 FastqCompressionFormat 設定為 dragen 時才可使用。
  - 📄 \*.fastq.ora
- 📁 RunInstrumentAnalyticsMetrics
  - 📁 0001
    - 📄 dataset.json
    - 📄 fastqc\_metrics.csv
  - 📁 0002

dataset.json

fastqc\_metrics.csv

Adapter\_Metrics.csv

Demultiplex\_Stats.csv

Index\_Hopping\_Counts.csv

報告

Demultiplex\_Stats.csv

RunInfo.xml

Trim\_Metrics.csv

fastq\_list.csv

SampleSheet.csv

Index\_Hopping\_Counts.csv

Top\_Unknown\_Barcodes.csv

Read1InstrumentAnalyticsMetrics — 僅適用於雙端讀數。

0001

dataset.json

0002

dataset.json

Adapter\_Metrics.csv

Demultiplex\_Stats.csv

Index\_Hopping\_Counts.csv

Read1Metrics — 僅適用於雙端讀數。

Adapter\_Metrics.csv

Index\_Hopping\_Counts.csv

# 維護

本節說明讓系統保持良好狀態的必要程序。瞭解如何安裝軟體更新、變更空氣濾網，以及執行其他定期維護程序。讓控制軟體維持在最新狀態可確保系統裝有最新的錯誤修正和功能，以便提供最佳效能。

## 清除硬碟空間

每個定序執行需要約 200 GB 的本機硬碟空間。空間不足時會顯示警告通知。使用下列步驟從臨時執行資料夾中刪除完成的執行和安裝的參考基因組，以清除空間。

**!** 僅使用 NextSeq 1000/2000 控制軟體刪除執行，而非透過作業系統手動刪除。手動刪除執行可能會對控制軟體造成負面影響。

1. 從控制軟體功能表中，選擇 [Disk Management (磁碟管理)]。  
隨即顯示 [Disk Management (磁碟管理)] 畫面，以及儲存在本機硬碟中的執行和參考基因組清單。
2. 針對要刪除的執行，選擇 [Delete Run (刪除執行)]。  
刪除執行時會刪除本機執行資料夾。輸出資料夾將會保留，該資料夾是執行資料夾的複本。
3. 在對話方塊中，選擇 [Yes, Delete Run (是，刪除執行)] 以確認刪除執行。
4. 針對每個要刪除的執行，重複步驟 2 和 3。
5. 針對要刪除的基因組，選擇 [Delete Genome (刪除基因組)]。
6. 在對話方塊中，選擇 [Yes, Delete Genome (是，刪除基因組)]。
7. 針對要刪除的每個基因組，重複步驟 5 和 6。
8. 當您完成時，請關閉 [Disk Management (磁碟管理)] 以返回 [Home (首頁)] 畫面。

## 軟體更新

更新軟體可確保系統取得最新功能和修正。系統套件搭載軟體更新，包含下列軟體：

- NextSeq 1000/2000 控制軟體
- NextSeq 1000/2000 配方
- 通用複製服務 (Universal Copy Service)
- 即時分析

**i** 系統套件不包含 DRAGEN 模組。請視需要分別進行安裝。從支援頁面存取 DRAGEN 模組軟體。


系統可設定為自動或手動下載軟體更新：

- 自動更新 — 系統會從 BaseSpace Sequence Hub 自動下載更新，以便您進行安裝。此選項必須有網際網路連線，但不需要使用 BaseSpace Sequence Hub 帳號。

- 手動更新 — 從網站手動下載更新，並儲存在本機或可攜式磁碟機，然後從儲存的位置進行安裝。此選項不需要儀器的網際網路連線。


## 安裝自動軟體更新

1. 確認沒有進行中的定序執行或儀器上次要分析。
2. 登入 ilmnadmin。
3. 從控制軟體功能表選擇 [Software Update (軟體更新)]。  
如果系統設定為自動更新軟體，則推出更新時會在控制軟體功能表下方顯示警示。
4. 若要檢查更新，請選擇 [Check Online for Software Update (線上檢查軟體更新)]。
5. 選擇 [Update Now (立即更新)] 以下載新版本的軟體。  
當下載完成後控制軟體會關閉，而安裝精靈會顯示。  
控制軟體會自動重新啟動。重新啟動後會自動進行軟體更新。

 安裝開始後，即無法取消更新。您只能在下載期間取消更新。

## 安裝手動軟體更新

1. 登入 ilmnadmin。
2. 確認沒有進行中的定序執行或儀器上次要分析。
3. 當有可用的軟體更新時，可從 [NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統支援頁面](#) 下載套件安裝程式 (\*.tar.gz)。將安裝程式儲存至本機或可攜式磁碟機。
4. 如果您將安裝程式儲存至可攜式磁碟機，請將磁碟機插入儀器側面或背面的 USB 3.0 連接埠。
5. 在控制軟體中，從控制軟體功能表，選擇 [Software Update (軟體更新)]。
6. 選擇 [Choose... (選擇...)] 以瀏覽至安裝程式。
7. 選取 [Update Now (立即更新)] 以開始安裝。  
安裝期間，控制軟體會顯示忙碌指示燈。  
控制軟體會自動重新啟動。重新啟動後會自動進行軟體更新。

 安裝開始後，即無法取消更新。您只能在下載期間取消更新。

## DRAGEN 工作流程和授權更新

只有系統管理員可以安裝 DRAGEN 工作流程和更新 DRAGEN 授權。

### 線上更新 DRAGEN 授權

如果 NextSeq 1000/2000 已連線至網際網路，請按照以下步驟更新您的 DRAGEN Bio-IT Platform 授權。

1. 聯絡 Illumina 技術支援以取得新的授權金鑰。
2. 等候 24 小時讓授權自動更新，或按照以下步驟立即更新授權。
  - a. 選擇控制軟體功能表，然後選擇 [DRAGEN]。

- b. 選擇 [Check Online (線上檢查)], 以檢查是否有新的 DRAGEN 授權金鑰可供使用。
- c. 如果有的話, 請選擇 [Update (更新)]。

## 離線更新 DRAGEN 授權

如果 NextSeq 1000/2000 未連線至網際網路, 請按照以下步驟更新您的 DRAGEN Bio-IT Platform 授權。

1. 聯絡 Illumina 技術支援以取得新的授權金鑰。將 license.zip 檔案儲存至本機磁碟機或可攜式磁碟機。
2. 如果您將 \*.zip 檔案儲存至可攜式磁碟機, 請將磁碟機插入儀器側面或背面的 USB 3.0 連接埠。視需要輕輕移動儀器, 以接觸到儀器背面。
3. 選擇控制軟體功能表, 然後選擇 [DRAGEN]。
4. 選擇 [Choose (選擇)] 以瀏覽至 \*.zip 檔案, 然後選擇 [Open (開啟)]。

## 線上安裝 DRAGEN 工作流程

如果 NextSeq 1000/2000 已連接至網際網路, 您可以直接在 NextSeq 1000/2000 控制軟體中安裝 DRAGEN 工作流程。線上安裝 DRAGEN 工作流程僅適用於 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3。

1. 選擇控制軟體功能表, 然後選擇 [Process Management (流程管理)]。
2. 確認沒有進行中的定序執行或儀器上次要分析。
3. 選擇控制軟體功能表, 然後選擇 [DRAGEN]。  
在 [Version (版本)] 下方, [Available Workflows (可用的工作流程)] 區段會列出目前安裝在系統上的工作流程。
4. 若要在 NextSeq 1000/2000 控制軟體中安裝 DRAGEN 工作流程, 請選擇 [Check Online (線上檢查)]。  
並非所有 DRAGEN 版本和工作流程皆與線上安裝相容。請針對其他工作流程使用離線安裝。
5. 選擇您要安裝之工作流程的核取方塊。如果尚未安裝最新版本的 BCL Convert, 請務必先進行安裝。  
您可以在版本說明中檢視最新版本工作流程的相關資訊。
6. 選擇 [Install (安裝)] 以開始安裝。
7. 輸入 ilmnadmin 作為系統密碼, 然後選擇 [Authenticate (驗證)]。

## 離線安裝 DRAGEN 工作流程

1. 當有可用的 DRAGEN 工作流程更新時, 請從 [DRAGEN 支援頁面](#) 下載安裝程式 (\*.tar.gz)。將安裝程式儲存至本機或可攜式磁碟機。
2. 如果您將安裝程式儲存至可攜式磁碟機, 請將磁碟機插入儀器側面或背面的 USB 3.0 連接埠。視需要輕輕移動儀器, 以接觸到儀器背面。
3. 選擇控制軟體功能表, 然後選擇 [Process Management (流程管理)]。
4. 確認沒有進行中的定序執行或儀器上次要分析。
5. 選擇控制軟體功能表, 然後選擇 [DRAGEN]。
6. 在 [Version (版本)] 下方, 選擇 [Browse for New Version (瀏覽新版本)] 以瀏覽至安裝程式。
7. 選擇 [Install (安裝)] 以開始安裝。

8. 輸入 ilmnadmin 作為系統密碼，然後選擇 [Authenticate (驗證)]。

## 更換空氣濾網

使用下列指示每 6 個月更換一次過期的空氣濾網。

空氣濾網為單次使用的長方形匣，覆蓋在儀器右側的風扇上。空氣濾網可確保適當散熱，並避免碎片進入系統。本儀器隨附一個預先安裝和一個備用的空氣濾網。有效的儀器服務合約包含額外的備用零件，也可以另外向 Illumina 購買。

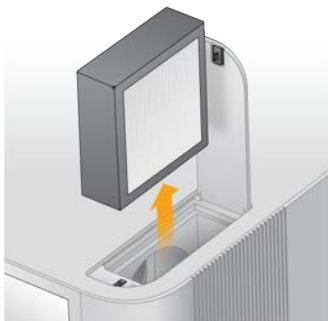
1. 在儀器頂端按上方面板的右側即可脫離，如下圖所示。



2. 打開面板。



3. 按下以鬆開空氣濾網匣，將其從面板中央取出並丟棄。



4. 將新的空氣濾網插入容器中，然後按下以固定。

5. 關閉上方面板並按入定位。



6. 將儀器放回原有位置。



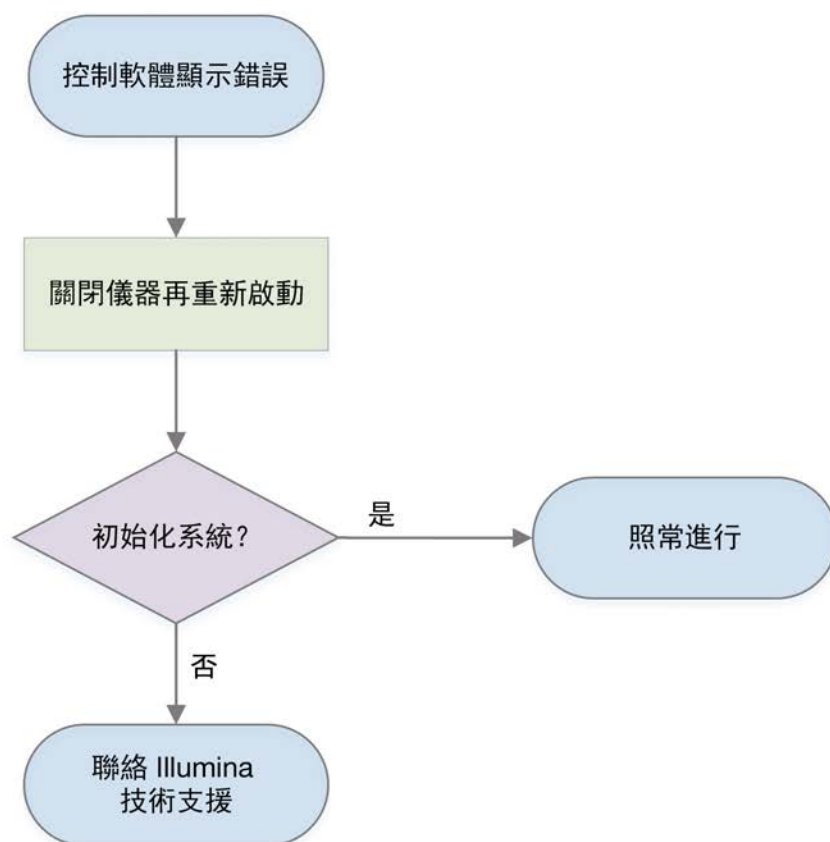
# 疑難排解

本節提供有關取消執行、關閉儀器再重新啟動，以及其他疑難排解程序的逐步指示。

## 錯誤訊息解決方案

此附錄提供各種疑難排解步驟的詳細說明。下列流程圖針對初始化、執行設定或定序期間所顯示且重試後仍無法解決的錯誤訊息，提供疑難排解的概覽。

許多錯誤可於關閉再重新啟動後獲得解決：關閉儀器，然後重新啟動。如需與關閉再重新啟動相關的詳細資訊，請參閱第 69 頁 [關閉儀器再重新啟動](#)。



## 將耗材放回儲存庫

在流體檢查前的儀器執行前檢查期間，如果儀器發生錯誤，請使用下列指示存放解凍的匣和流通池。

1. 將流通池與匣分開。
2. 將稀釋的基因庫從貯池（最多約 18 微升）取出並丟棄。

- !** 為下一個執行準備相同基因庫的新稀釋液，以避免樣本與貯池中殘留的基因庫交叉感染。
- 將匣放置在 2°C 至 8°C 的儲存庫中，讓包裝標籤朝上且空氣可以在所有側邊循環。請勿超過 72 小時。如果匣已在冷藏庫中隔夜解凍 12 小時，則請勿超過 60 小時。
  - 將流通池連同乾燥劑放回原本的銀色錫箔包裝中。
  - 用膠帶封住錫箔包裝，然後放置在 2°C 至 8°C 的儲存庫中。請勿超過 72 小時。

## 取消執行

- 選擇 [End Run (結束執行)]。
- 若要自動清除試劑匣，請選擇 [Purge Reagent Cartridge (清除試劑匣)] 核取方塊。NextSeq 1000/2000 控制軟體設定中已設定此預設選項。
- 選擇 [Yes, end the sequencing run (是, 結束定序執行)]。  
取消執行將會無法再更改。執行前檢查的儀器檢查部分完成後，軟體無法恢復執行，且耗材無法再重複使用。
- 選擇 [Eject Cartridge (退出匣)] 可開啟擋板並退出托盤。
- 將匣從托盤中取出。
- 依取消的時機而定，存放或棄置匣：

情況	範例
您在儀器執行前檢查之前或期間取消，且想要重複使用耗材。	請參閱第 67 頁 <a href="#">將耗材放回儲存庫</a> 。
其他情況。	請參閱第 43 頁 <a href="#">卸除耗材</a>

- 選擇 [Close Door (關門)] 可重新載入托盤並返回 [Home (首頁)] 畫面。感應器會確認匣已移除。

## 將執行重新排入佇列

如果 [Process Management (流程管理)] 中的 [Status of Secondary Analysis (次要分析狀態)] 顯示錯誤，您可以將執行重新排入佇列，以在產生的 cBCL 檔案上再次執行儀器上 DRAGEN 分析。儀器上必須仍有原始執行資料夾，才能使用重新排入佇列功能。使用此重新排入佇列功能並不會在 BaseSpace Sequence Hub 中將執行重新排入佇列。若要在 BaseSpace Sequence Hub 中重新排入佇列，請參閱 BaseSpace Sequence Hub 說明中心的「修復樣本工作表」。

- 更新您的樣本工作表 v2，然後將樣本工作表儲存至可攜式或掛載的網路磁碟機。
- 如果您將樣本工作表儲存至可攜式磁碟機，請將磁碟機插入儀器側面或背面的 USB 3.0 連接埠。視需要輕輕移動儀器，以接觸到儀器背面。
- 選擇控制軟體功能表，然後選擇 [Process Management (流程管理)]。
- 確認沒有進行中的定序執行或儀器上次次要分析。

5. 選擇已完成執行旁的 [Requeue (重新排入佇列)] 以重新排入佇列。
6. 選擇 [Choose (選擇)] 以瀏覽至更新的樣本工作表，然後選擇 [Open (開啟)]。
7. 選擇 [Start Requeue (開始重新排入佇列)]。

## 關閉儀器再重新啟動

關閉儀器再重新啟動可安全關閉系統再重新啟動，以恢復中斷的連線、校準規格或解決初始化失敗的問題。本軟體會說明何時應關閉儀器再重新啟動，以解決錯誤或警告。

1. 在控制軟體功能表中，選擇 [Shut Down Instrument (關閉儀器)]。
2. 如果系統未關閉，請按住儀器右側的電源按鈕，直到燈號熄滅為止。
3. 電源按鈕閃爍時，按下位於後側面板的電源開關，並切換至關閉電源 (O) 側。  
關閉電源後電源按鈕可能會繼續閃爍。

圖 8 切換開關位置



4. 請等候 30 秒。
5. 按下切換開關的開啟電源 (I) 側。
6. 電源按鈕閃爍時，請等候 30 秒，然後再按下按鈕。

圖 9 電源按鈕位置



7. 等候約 5 分鐘，讓作業系統載入。作業系統載入後，請登入 Windows。

控制軟體會隨即啟動並將系統初始化。等候約5分鐘以進行系統初始化。初始化完成後，便會顯示 [Home (首頁)] 畫面。

## 執行系統檢查

在儀器正常運作或是儀器維護時不需要進行系統檢查。但是，Illumina 技術支援的代表為了進行疑難排解，可能會要求您執行系統檢查。

四個子系統檢查需要約58分鐘來對執行前檢查錯誤和其他問題進行疑難排解。這些測試會確認元件是否經過正確校準並且能正常運作。

測試結果會輸出至位於 `/usr/local/illumina/system-check` 中的 `system-check` 資料夾。

執行系統檢查之前，請務必卸除匣。

### 執行系統檢查

1. 從控制軟體功能表中，選擇 [System Check (系統檢查)]。
2. 選擇下列任何您想要執行之系統檢查的核取方塊。
  - [Network Connectivity (網路連線)] — 檢查網路連線狀態和效能。
  - [Enclosure (外殼)] — 檢查散熱系統效能和擋板抬起機制。
  - [Motion (移動)] — 檢查Z階段和XY階段的行程限制和效能。
  - [Optics (光學)] — 檢查成像模組的效能。
3. 選擇 [Start (開始)]。

## 還原至原廠設定

將系統還原至原廠預設值，以降級軟體或從非預期的設定中復原。只有Illumina代表才能使用此功能。

## 擷取安裝的映像

擷取系統映像以備份可成功運作的軟體安裝。您可以在之後還原此系統映像。建議您在完成初始化安裝並透過Illumina代表變更密碼後立即擷取系統映像。

1. 重新啟動Linux。
2. 當提示您選擇作業系統時，請選擇 [Capture Installed Image (擷取安裝的映像)]。  
自動繼續使用NextSeq 1000/2000控制軟體之前，會短暫顯示作業系統選項。



只有一個映像會保留在記憶體中，因此這個動作會覆寫之前擷取的映像。

3. 等候約30分鐘讓系統擷取目前安裝的映像。  
此擷取可能包括多次重新開機。完成時，系統會使用目前已安裝且儲存在記憶體中的映像來重新開機。

## 還原擷取的映像

將系統還原至先前擷取的映像，以從非預期的設定中復原。

1. 重新啟動Linux。
2. 當提示您選擇作業系統時，請選擇 [Restore Installed Image (還原安裝的映像)]。  
自動繼續使用 NextSeq 1000/2000 控制軟體之前，會短暫顯示作業系統選項。

**i** | 密碼會繫結至系統映像。還原之後，請使用還原映像的密碼登入系統。

3. 等候約 30 分鐘，直到還原作業完成。  
還原作業期間會多次重新開機。完成時，系統會使用還原的映像重新開機。

# 資源與參考資料

## 樣本工作表 v2 設定

如果遵循本機模式，您可以使用樣本工作表 v2 檔案格式來設定執行設定。在 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 中或透過編輯 *NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統樣本工作表 v2 範本* 來建立樣本工作表。編輯樣本工作表時，請確認下列區段和欄位依照列出的順序包含在其中且符合要求。編輯之後，請使用可攜式或掛載的網路磁碟機將樣本工作表轉移至 NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統。當您瀏覽至控制軟體中的樣本工作表時，系統會將其複製到儀器上的執行前資料夾，因此可以移除可攜式磁碟機。

請確認您的樣本工作表 v2 設定符合下列要求：

- BCLConvert\_Data 樣本工作表區段中指定的索引定序應與在 NextSeq 1000/2000 中所選的索引組件相符。
- 如果使用 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.2，則必須在系統上安裝並啟用在樣本工作表中指定的 DRAGEN 版本。如需安裝資訊，請參閱 [第 62 頁 軟體更新](#)。
- 如果使用 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3，則必須在系統上安裝在樣本工作表中指定的 DRAGEN 版本。控制軟體會自動偵測樣本工作表中的 DRAGEN 版本，並視需要提示您切換使用中版本。如需安裝資訊，請參閱 [第 62 頁 軟體更新](#)。

如果使用 DRAGEN，您將需要設定其他設定。如需安裝資訊，請參閱 [第 75 頁 DRAGEN 樣本工作表設定](#)

從 NextSeq 1000 和 NextSeq 2000 定序系統支援頁面的「產品檔案」下載樣本工作表 v2 範本。如果您使用 [Instrument Run Setup (儀器執行設定)] 建立樣本工作表，則在初次下載後更改樣本工作表可能會導致分析失敗。

檔案名稱不可包含特殊字元。

### [Header] 要求

[Header] 區段包含執行的完整資訊。下列是可用的 [Header] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
FileFormatVersion	是	樣本工作表版本。輸入 2 作為值。
RunName	否	您偏好的唯一執行名稱。RunName 僅可包含英數字元、底線、虛線及句號。如果 RunName 包含空格或特殊字元，分析將會失敗。
RunDescription	否	執行的說明。
InstrumentPlatform	否	NextSeq 1000/2000

欄位	必要	說明
InstrumentType	否	NextSeq 1000/2000

### [Reads] 要求

[Reads] 區段說明用於基因和索引讀數 1 和 2 的定序循環數。下列是可用的 [Reads] 欄位和說明。

欄位	必要	說明
Read1Cycles	是	第一個讀數中的循環數。值必須為大於零的整數。
Read2Cycles	否	第二個讀數中的循環數。
Index1Cycles	否	第一個索引讀數中的循環數。對一個以上的樣本進行定序時必須使用。上限為 10 次循環。
Index2Cycles	否	第二個索引讀數中的循環數。上限為 10 次循環。

### [Sequencing\_Settings] 要求

使用 [Sequencing\_Settings] 區段指定您使用的基因庫準備組件。

欄位	必要	說明
LibraryPrepKits	否	<p>您的基因庫準備組件。僅允許一個基因庫準備組件。</p> <p>在 NextSeq 1000/2000 控制軟體 v1.3 中，如果將 Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus 組件或 Illumina Stranded mRNA Prep 組件指定為基因庫準備組件，系統將自動選擇必要的自訂配方。</p> <p>輸入下列其中一個值。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus 組件 — ILMNStrandedTotalRNA</li> <li>· Illumina Stranded mRNA Prep 組件 — ILMNStrandedmRNA</li> </ul>

### BCL Convert 要求

BCL 轉換區段提供有關將資料從 BCL 轉換成 FASTQ 的資訊。BCL 轉換選項包含兩個不同的區段：[BCLConvert\_Settings] 和 [BCLConvert\_Data]。BCL 轉換區段需要有關索引轉接序列的資訊。若要識別每個讀數和索引的相容轉接序列，請參閱「*Illumina 轉接序列*」(文件 #1000000002694)。

下列是可用的 [BCLConvert\_Settings] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
SoftwareVersion	是	系統目前安裝的 DRAGEN 軟體版本。使用版本名稱中包含的全部三個整數。例如：3.5.7。
BarcodeMismatchesIndex1	否	第一個索引讀數和索引定序之間允許的不相符項目數量。值可以是 0、1 或 2。預設值為 1。
BarcodeMismatchesIndex2	否	第二個索引讀數和索引定序之間允許的不相符項目數量。值可以是 0、1 或 2。預設值為 1。
FastqCompressionFormat	否	若要將 FASTQ 檔案輸出為 *.gz 檔案，請輸入 gzip。若要將 FASTQ 檔案輸出為 *.ora 檔案並搭配使用 DRAGENDecompression，請輸入 dragen。
AdapterRead1	否	要從讀數 1 末端修剪或遮罩的序列。包含 A、C、G 或 T 的讀數 1 轉接序列。AdapterRead1 依預設會修剪循環。
AdapterRead2	否	要從讀數 2 末端修剪或遮罩的序列。包含 A、C、G 或 T 的讀數 2 轉接序列。AdapterRead2 依預設會修剪循環。
OverrideCycles	否	用於指定 UMI 循環和覆寫讀數循環的字串。允許使用下列值： <ul style="list-style-type: none"> <li>· N — 指定要忽略的循環。</li> <li>· Y — 指定定序循環。</li> <li>· I — 指定索引循環。</li> <li>· U — 指定要修剪的 UMI 循環。</li> </ul> 每個元素均以分號區隔。下列是 OverrideCycles 輸入的範例。 U8Y143; I8; I8; U8Y143 N10Y66; I6; N10Y66

下列是可用的 [BCLConvert\_Data] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
Sample_ID	是	樣本 ID。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元、連字號及底線。ID 區分大小寫。請使用虛線或底線區隔每個識別碼。例如：Sample1-DQB1-022515。



欄位	必要	說明
索引	否	與樣本相關聯的索引定序。僅允許 A、C、T、G。對一個以上的樣本進行定序時必須使用。
索引 2	否	與樣本相關聯的第二個索引定序。僅允許 A、C、T、G。確認第二個索引 (i5) 轉接序列處於正向方向。在次要分析期間，DRAGEN 會自動反向互補 i5 索引。
通道	否	流通池的通道。通道會以一個整數值表示。

## DRAGEN 樣本工作表設定

本節說明每個 DRAGEN 管道的樣本工作表要求。新增您的 DRAGEN 管道設定作為樣本工作表的最後一個區段。您只能使用一種 DRAGEN 管道。

每個 DRAGEN 管道均包含分開的設定和資料區段。

### DRAGEN Germline 管道要求

下列是可用的 [DragenGermline\_Settings] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
SoftwareVersion	是	系統目前安裝的 DRAGEN 軟體版本。使用版本名稱中包含的所有三個整數。例如：3.5.7。 軟體版本必須與 BCLConvert_Settings 區段中指定的版本相符。
ReferenceGenomeDir	是	參考基因組名稱。例如：hg19_alt_aware。使用位於 /usr/local/illumina/genomes 中的參考基因組名稱。若要使用自訂參考基因組，請參閱 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 應用程式線上說明</i> 。
MapAlignOutFormat	否	輸出檔案的格式。允許的值為 bam 或 cram。如果未指定任何值，則預設值為 none。
KeepFastq	否	若要儲存 FASTQ 輸出檔案，請輸入 true。若要移除 FASTQ 輸出檔案，請輸入 false。

下列是可用的 [DragenGermline\_Data] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
Sample_ID	是	樣本 ID。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元。ID 區分大小寫。請使用虛線區隔每個識別碼。例如：Sample1-DQB1-022515。樣本 ID 必須與 BCLConvert_Data 區段中指定的 ID 相符。

## DRAGEN RNA 管道要求

下列是可用的 [DragenRNA\_Settings] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
SoftwareVersion	是	系統目前安裝的 DRAGEN 軟體版本。使用版本名稱中包含的全部三個整數。例如：3.5.7。軟體版本必須與 BCLConvert_Settings 區段中指定的版本相符。
ReferenceGenomeDir	是	參考基因組名稱。例如：hg38_noalt_with_decoy。使用位於 /usr/local/illumina/genomes 中的參考基因組名稱。若要使用自訂參考基因組，請參閱 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 應用程式線上說明</i> 。
RnaGeneAnnotationFile	否	包含 RNA 基因標註的檔案。僅允許使用英數字元。如果未提供，將使用包含在指定參考基因組中的預設標註檔案。
MapAlignOutFormat	否	輸出檔案的格式。允許的值為 bam 或 cram。如果未指定任何值，則預設值為 none。
KeepFastq	否	若要儲存 FASTQ 輸出檔案，請輸入 true。若要移除 FASTQ 輸出檔案，請輸入 false。
DifferentialExpressionEnable	否	若要啟用差異基因表現，請輸入 true。輸入 false 可從分析中排除差異基因表現。

下列是可用的 [DragenRna\_Data] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
Sample_ID	是	樣本 ID。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元。ID 區分大小寫。請使用虛線區隔每個識別碼。例如：Sample1-DQB1-022515。樣本 ID 必須與 BCLConvert_Data 區段中指定的 ID 相符。

欄位	必要	說明
Comparison<N>	否	每個樣本的對照值或比較值。如果樣本沒有對照值或比較值，則樣本會指派為 na。標示為對照的所有樣本會與標示為比較的所有樣本做比較。N 值會反映樣本的比較組。

## DRAGEN Enrichment 管道要求

下列是可用的 [DragenEnrichment\_Settings] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
SoftwareVersion	是	系統目前安裝的 DRAGEN 軟體版本。使用版本名稱中包含的全部三個整數。例如：3.5.7。 軟體版本必須與 BCLConvert_Settings 區段中指定的版本相符。
ReferenceGenomeDir	是	參考基因組名稱。例如：hg38_alt_aware。參考基因組位於 /usr/local/illumina/genomes。若要使用自訂參考基因組，請參閱 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 應用程式線上說明</i> 。
BedFile	是	包含目標區域的 bed 檔案。
GermlineOrSomatic	是	若要執行富集生殖系列分析，請輸入 germline。若要執行富集體池分析，請輸入 somatic。
KeepFastq	否	若要儲存 FASTQ 輸出檔案，請輸入 true。若要移除 FASTQ 輸出檔案，請輸入 false。
MapAlignOutFormat	否	輸出檔案的格式。允許的值為 bam 或 cram。如果未指定任何值，則預設值為 none。
AuxNoiseBaselineFile	否	雜訊基準檔案的名稱。您可以使用 *.txt 或 *.gz 檔案格式。只有使用體池模式時，才能使用雜訊基準檔案。如需詳細資訊，請參閱第 15 頁 <a href="#">匯入雜訊基準檔案</a> 。

下列是可用的 [DragenEnrichment\_Data] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
Sample_ID	是	樣本 ID。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元。ID 區分大小寫。請使用虛線區隔每個識別碼。例如：Sample1-DQB1-022515。樣本 ID 必須與 BCLConvert_Data 區段中指定的 ID 相符。

## DRAGEN DNA Amplicon 管道要求

下列是可用的 [DragenAmplicon\_Settings] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
SoftwareVersion	是	系統目前安裝的 DRAGEN 軟體版本。使用版本名稱中包含的全部三個整數。例如：3.5.7。 軟體版本必須與 BCLConvert_Settings 區段中指定的版本相符。
ReferenceGenomeDir	是	參考基因組名稱。例如：hg38_alt_aware。參考基因組位於 /usr/local/illumina/genomes。若要使用自訂參考基因組，請參閱 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 應用程式線上說明</i> 。
DnaBedFile	是	包含目標區域的 bed 檔案。bed 檔案可使用 *.txt 或 *.gz 檔案格式輸入。
DnaGermlineOrSomatic	是	若要執行 DNA Amplicon 生殖系列分析，請輸入 germline。若要執行 DNA Amplicon 體池分析，請輸入 somatic。
KeepFastq	否	若要儲存 FASTQ 輸出檔案，請輸入 true。若要移除 FASTQ 輸出檔案，請輸入 false。
MapAlignOutFormat	否	輸出檔案的格式。允許的值為 bam 或 cram。如果未指定任何值，則預設值為 none。

下列是可用的 [DragenAmplicon\_Data] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
Sample_ID	是	樣本 ID。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元。ID 區分大小寫。請使用虛線區隔每個識別碼。例如：Sample1-DQB1-022515。樣本 ID 必須與 BCLConvert_Data 區段中指定的 ID 相符。
DnaOrRna	是	要執行的 Amplicon 分析類型。DRAGEN v3.8 僅支援 DNA 分析。請輸入 dna。

## DRAGEN Single Cell RNA 管道要求

下列是可用的 [DragenSingleCellRNA\_Settings] 欄位及說明。如需有關第三方組件相容性的資訊，請參閱「DRAGEN Bio-IT Platform 產品相容性」支援頁面。

## Single Cell Library Kit 1—5

下列樣本工作表設定適用於與 DRAGEN Single Cell Library Kits 1—5 具有相同基因結構的基因庫準備組件。請使用「DRAGEN Bio-IT Platform 產品相容性」支援頁面確認組件的基因結構。

欄位	必要	說明
SoftwareVersion	是	系統目前安裝的 DRAGEN 軟體版本。使用版本名稱中包含的全部三個整數。例如：3.5.7。 軟體版本必須與 BCLConvert_Settings 區段中指定的版本相符。
ReferenceGenomeDir	是	參考基因組名稱。例如：hg38_alt_aware。參考基因組位於 /usr/local/illumina/genomes。若要使用自訂參考基因組，請參閱 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 應用程式線上說明</i> 。
RnaLibraryType	否	輸入下列其中一個值： <ul style="list-style-type: none"> <li>· SF — 正向股。SF 為預設值。</li> <li>· SR — 反向股。</li> <li>· U — 解編股。</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	否	檔案包含 RNA 基因標註。僅允許使用英數字元。如果未提供，將使用包含在指定參考基因組中的預設標註檔案。
BarcodeRead	否	條碼讀數之定序執行內的位置，包含條碼和 UMI。值可包含 Read1 或 Read2。預設值為 Read1。
BarcodePosition	是	與針對 BarcodeRead 所輸入值內條碼對應的鹼基位置。鹼基位置從零位置開始編製索引。使用下列格式輸入 BarcodePosition 值： 0_<條碼結束位置> 例如，如果條碼包含 16 個鹼基，則值為 0_15。
UmiPosition	是	與 BarcodeRead 輸入值內的 UMI 對應的鹼基位置。使用下列格式輸入 UmiPosition 值： <UMI 開始位置>_<UMI 結束位置> 例如，如果 UMI 包含 10 個鹼基，而條碼包含 16 個鹼基，則值為 16_25。
BarcodeSequenceWhitelist	否	包含要納入之條碼序列的檔案名稱。檔案名稱僅可包含英數字元、虛線、底線及句號。
KeepFastq	否	若要儲存 FASTQ 輸出檔案，請輸入 true。若要移除 FASTQ 輸出檔案，請輸入 false。

欄位	必要	說明
MapAlignOutFormat	否	輸出檔案的格式。允許的值為 bam 或 cram。如果未指定任何值，則預設值為 none。

下列是可用的 [DragenSingleCellRNA\_Data] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
Sample_ID	是	樣本 ID。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元。ID 區分大小寫。請使用虛線區隔每個識別碼。例如：Sample1-DQB1-022515。樣本 ID 必須與 BCLConvert_Data 區段中指定的 ID 相符。

## Single Cell Library Kit 6

下列樣本工作表設定適用於與 DRAGEN Single Cell Library Kits 6 具有相同基因結構的基因庫準備組件。請使用「DRAGEN Bio-IT Platform 產品相容性」支援頁面確認組件的基因結構。

欄位	必要	說明
SoftwareVersion	是	系統目前安裝的 DRAGEN 軟體版本。使用版本名稱中包含的全部三個整數。例如：3.5.7。 軟體版本必須與 BCLConvert_Settings 區段中指定的版本相符。
ReferenceGenomeDir	是	參考基因組名稱。例如：hg38_alt_aware。參考基因組位於 /usr/local/illumina/genomes。若要使用自訂參考基因組，請參閱 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 應用程式線上說明</i> 。
RnaLibraryType	否	輸入下列其中一個值： <ul style="list-style-type: none"> <li>· SF — 正向股。</li> <li>· SR — 反向股。</li> <li>· U — 解編股。</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	否	檔案包含 RNA 基因標註。僅允許使用英數字元。如果未提供，將使用包含在指定參考基因組中的預設標註檔案。
BarcodeRead	否	條碼讀數之定序執行內的位置，包含條碼和 UMI。值可包含 Read1 或 Read2。預設值為 Read1。

欄位	必要	說明
BarcodePosition	是	與針對 BarcodeRead 所輸入值內條碼對應的鹼基位置。鹼基位置從零位置開始編製索引。使用下列格式輸入 BarcodePosition 值： 0_<第一個條碼結束位置>+<第二個條碼開始位置>_<第二個條碼結束位置>+<第三個條碼開始位置>_<第三個條碼結束位置> 例如，下列結構會產生值 0_8+21_29+43_51： <ul style="list-style-type: none"> <li>· 第一個條碼包含 9 個鹼基 (0_8)。</li> <li>· 第一個和第二個條碼之間包含 12 個鹼基。</li> <li>· 第二個條碼包含 9 個鹼基 (21_29)。</li> <li>· 第一個和第二個條碼之間包含 13 個鹼基。</li> <li>· 第一個條碼包含 9 個鹼基 (43_51)。</li> </ul>
UmiPosition	是	與所指定 BarcodeRead 內 UMI 對應的鹼基位置。使用下列格式輸入字串： <UMI 開始位置>_<UMI 結束位置> 例如，如果 UMI 包含 8 個鹼基，且 UMI 前面的鹼基總數為 51 個，則值為 52_59。
BarcodeSequenceWhitelist	否	包含要列入白名單之條碼序列的檔案名稱。檔案名稱僅可包含英數字元、虛線、底線及句號。
KeepFastq	否	若要儲存 FASTQ 輸出檔案，請輸入 true。若要移除 FASTQ 輸出檔案，請輸入 false。
MapAlignOutFormat	否	輸出檔案的格式。允許的值為 bam 或 cram。如果未指定任何值，則預設值為 none。

下列是可用的 [DragenSingleCellRNA\_Data] 欄位及說明。

欄位	必要	說明
Sample_ID	是	樣本 ID。樣本 ID 最多可包含 20 個英數字元。ID 區分大小寫。請使用虛線區隔每個識別碼。例如：Sample1-DQB1-022515。樣本 ID 必須與 BCLConvert_Data 區段中指定的 ID 相符。

## 暗週期定序

本節說明如何在配方中使用暗週期定序。

暗週期定序僅可用於完成定序循環的化學步驟。如果需要使用暗週期定序，請在 [Illumina 支援網站](#) 上查看基因庫準備組件的 [Compatible Products (相容產品)] 頁面。

使用下列步驟進行暗週期定序。

## 編輯配方檔案

1. 從 [Illumina 支援網站](#) 下載配方 XML 檔案。
2. 編輯配方 XML 檔案。
  - a. 根據您的讀數和索引定序設定辨識適當的協定區段。每個自訂配方都有可以編輯的六個不同可能協定。例如，未設定索引定序之單一讀數 1 的協定將是 `<ProtocolName="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >`。
  - b. 在 `<ReadRefReadName="Read 1"/>` 和 `<ReadRefReadName="Read 2"/>` 之前，於新行上輸入下列暗週期步驟。  
`<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />`。
  - c. 針對每個需要的暗週期，在新行上輸入暗週期步驟。
3. 儲存配方 XML 檔案。

下列是具有暗週期的樣本配方：

```
<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >
  <ChemistryRef ChemistryName="Start" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <ChemistryRef ChemistryName="BIX Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Transfer" />
  <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <Obdd ChemistryName="Library Denaturation and Dilution" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <Obcg ChemistryName="Cluster Generation" />
  <ChemistryRef ChemistryName="SBS Prime" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Read Prep" />
  <DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />
  <ReadRef ReadName="Read 1" />
  <SetThermalZoneTemp Enable="false" Zone="FlowCellHeater" />
</Protocol>
<Protocol Name="1 Read 1 Index" ProtocolType="1Read1Index" >
  <ChemistryRef ChemistryName="Start" />
  <ChemistryRef ChemistryName="2min 60C Vacuum Hold" />
  ...
```



## 將配方附加至執行

1. 在控制軟體的 [Run Setup (執行設定)] 中，選擇 [Custom Recipe (自訂配方)] 下方的 [Choose (選擇)]。
2. 瀏覽至更新的配方 XML 檔案。
3. 選擇 [Open (開啟)]。
4. 返回 [第 38 頁 初始化定序執行](#)。

# 索引

## %

%PF 49

## A

AC 電源 4

## B

BaseSpace Sequence Hub 1

設定 11

說明文件 11

BCL 檔案 6

bcl2fastq2 45

## C

CBCL 檔案 49

GE 45

## D

D 槽 62

## F

FASTQ 轉化 45

## I

Illumina Proactive Support 11

InterOp 檔案 45, 50

IP 位址 5

## L

Local Run Manager 5

## N

NextSeq 1000/2000 試劑 23

## P

PhiX 23

校準 45

PhiX Control v3 23

Phred 演算法 50

## Q

Q 評分 49–50

## R

RSB 替代品 23

RunInfo.xml 50

## S

Sequencing Analysis Viewer 45, 47

## U

UNC 路徑 41

USB 連接埠 4

## W

Windows

登入 69

## 乙

乙太網路連接埠 4

乙太網路纜線 4

## 分

分析 5, 8

## 切

切換開關 4, 69

## 孔

孔 4

## 手

手動軟體更新 62

## 支

支援頁面 62

## 方

方法 5, 8

## 主

主控位置 11

## 失

失去連線 69

## 本

本機分析 1

## 白

白紙 50

## 目

目錄編號 23

## 企

企業訂閱 11

## 再

再懸浮緩衝液 23

## 安

安裝軟體 62

## 成

成像 45-46

## 自

自動更新 62

## 伺

伺服器位置 11

## 作

作業系統 69

## 冷

冷凍庫規格 24

冷藏庫規格 24

## 別

別稱 17

## 刪

刪除執行 6, 62

## 匣

匣  
載入方向 42

## 序

序號 5

## 技

技術協助 91

## 私

私人網域 11

## 系

系統套件安裝程式 62

系統檢查 67

## 初

初始化 69

失敗 69

## 到

到期日 65

## 命

命名 5

儀器名稱 17

## 奈

奈米井 47

## 放

放大 7

## 狀

狀態列 3

## 空

空氣濾網

位置 65

備用品 23

## 表

表面編號 46

## 長

長列 46

## 門

門

關閉 42

## 保

保固 23

## 品

品質表 50

## 客

客戶支援 91

## 流

流程管理 62

## 相

相位延遲和定相超前 47

## 紅

紅色通道 48

## 計

計算引擎 45

## 重

重新開機 70-71

## 降

降級軟體 70-71

## 音

音效設定 17

音訊設定 17

## 風

風扇 65

## 首

首次設定 65, 70-71

## 原

原廠預設值 70-71

## 效

效能資料 11

## 核

核苷酸 48

## 純

純度濾網 49

## 索

索引 26

## 耗

耗材 1

掃描 42

耗材室 3

## 記

記錄檔 46

## 追

追蹤 1

追蹤耗材 1

## 配

配方 62

配方片段 5

## 酒

酒精擦拭巾 23

## 執

執行

計量 45

執行次數 5

執行批次 62

執行狀態 6

執行參數

編輯 41

執行設定 26

執行資料夾 62

## 基

基因庫 7

基因模版 45

基因模版編號 46

## 強

強度值 47

## 移

移動 4

## 組

組件 23  
目錄編號 23

## 規

規格校準 69

## 軟

軟體  
安裝 62  
更新警示 18  
降級 70-71  
軟體套件 1, 5

## 通

通用複製服務 5, 62  
通過濾網 (PF) 49  
通道 46

## 備

備用零件 65

## 單

單一讀數 41

## 循

循環 26  
循環數 26

## 測

測試組件 23

## 無

無法判定 47-48

## 登

登錄失敗 47

## 硬

硬碟 6, 62

## 稀

稀釋基因庫 7

## 雲

雲端式分析 1

## 滑

滑鼠 4

## 資

資料品質 49

## 電

電源按鈕 3, 69  
電源線 4  
電腦名稱 5

## 預

預設輸出資料夾 41

## 圖

圖示 5

## 墊

墊片 23

## 對

對應磁碟機 41

## 滴

滴盤

墊片 23

## 漂

漂白劑擦拭巾 23

## 監

監視器 3

## 磁

磁碟空間 6, 62

## 綠

綠色通道 48

## 網

網域 11

網際網路連線 11

## 說

說明, 技術 91

說明文件 91

## 儀

儀器效能資料 11

## 影

影像 45

影像分析 5

## 模

模板產生 47

## 範

範例 26

## 編

編輯執行參數 41

## 燈

燈條 3

## 輸

輸出資料夾 41, 62

## 錯

錯誤 5, 69

訊息 67

機率 49-50

錯誤記錄 46

## 縮

縮圖 50

## 鍵

鍵盤 4

## 叢

叢集位置 45, 50  
叢集強度 47

## 濾

濾網檔案 45, 50  
濾網叢集 49

## 雙

雙通道定序 48  
雙端 41

## 額

額外的循環 26

## 關

關閉再重新啟動 67  
關機 69

## 警

警示 62  
警告 5, 69

## 攝

攝影機 46

## 讀

讀數長度 26  
讀數循環 26

## 變

變性 7

## 鹼

鹼基判定 5  
鹼基判定檔案 8, 45, 50



# 技術協助

如需技術協助，請聯絡 Illumina 技術支援。

網站：[www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
電子郵件：[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Illumina 技術支援電話號碼

地區	免付費專線	國際
中國		+86 400 066 5835
丹麥	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
日本	+81 0800 111 5011	
比利時	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
加拿大	+1 800 809 4566	
台灣	+886 8 0665 1752	
印尼		0078036510048
印度	+91 8006500375	
西班牙	+34 800 300 143	+34 911 899 417
法國	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
芬蘭	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
南韓	+82 80 234 5300	
美國	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
英國	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
香港	+852 800 960 230	
挪威	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
泰國	+66 1800 011 304	
紐西蘭	+64 800 451 650	
馬來西亞	+60 1800 80 6789	
荷蘭	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
菲律賓	+63 1800 165 10798	
越南	+84 1206 5263	

地區	免付費專線	國際
奧地利	+43 800 006249	+43 1 9286540
愛爾蘭	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
新加坡	1 800 5792 745	
瑞士	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
瑞典	+46 2 00883979	+46 8 50619671
義大利	+39 800 985513	+39 236003759
德國	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
澳洲	+61 1800 775 688	

安全資料表 (SDS) — 可從 Illumina 網站 [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html) 取得。

產品文件 — 可從 [support.illumina.com](https://support.illumina.com) 下載。



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (北美以外)

[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

[www.illumina.com](http://www.illumina.com)

**僅供研究使用。不可用於診斷程序。**

© 2021 年 Illumina, Inc. 保留一切權利。

illumina®