

NextSeq 1000 και 2000

Οδηγός του συστήματος αλληλούχισης

Το παρόν έγγραφο και τα περιεχόμενά του αποτελούν ιδιοκτησία της Illumina, Inc. και των συνδεδεμένων εταιρειών της («Illumina») και προορίζονται αποκλειστικά για τη συμβατική χρήση του πελάτη της σε συνδυασμό με τη χρήση του(-ων) προϊόντος(-ων) που περιγράφονται στο παρόν έγγραφο και για κανέναν άλλο σκοπό. Απαγορεύεται η χρήση ή η διανομή του παρόντος εγγράφου και των περιεχομένων του για οποιονδήποτε άλλο σκοπό ή/και άλλη κοινοποίηση, αποκάλυψη ή αναπαραγωγή τους με οποιονδήποτε τρόπο χωρίς την πρότερη έγγραφη συναίνεση της Illumina. Η Illumina δεν μεταβιβάζει διά του παρόντος εγγράφου καμία άδεια δυνάμει διπλώματος ευρεσιτεχνίας, εμπορικού σήματος, πνευματικού δικαιώματος ή δικαιωμάτων κοινού δικαίου της.

Οι οδηγίες στο παρόν έγγραφο πρέπει να τηρούνται αυστηρά και με ακρίβεια από ειδικευμένο και κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό, προκειμένου να διασφαλιστεί η ορθή και ασφαλής χρήση του(-ων) προϊόντος(-ων) που περιγράφονται στο παρόν. Όλα τα περιεχόμενα του παρόντος εγγράφου πρέπει να αναγνωσθούν και να γίνουν πλήρως κατανοητά πριν από τη χρήση του(-ων) εν λόγω προϊόντος(-ων).

ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΜΗ ΠΛΗΡΟΥΣ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΡΗΣΗΣ ΜΕ ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΟΔΗΓΙΩΝ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΠΑΡΟΝ, ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΡΟΚΛΗΘΕΙ ΖΗΜΙΑ ΣΤΟ(-Α) ΠΡΟΪΟΝ(-ΤΑ), ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΤΟΜΩΝ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΤΩΝ ΧΡΗΣΤΩΝ Ή ΑΛΛΩΝ, ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗ ΥΛΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΚΑΙ ΘΑ ΚΑΤΑΣΤΕΙ ΑΚΥΡΗ Η ΕΓΓΥΗΣΗ ΠΟΥ ΙΣΧΥΕΙ ΓΙΑ ΤΟ(-Α) ΠΡΟΪΟΝ(-ΤΑ).

Η ILLUMINA ΔΕΝ ΑΝΑΛΑΜΒΑΝΕΙ ΚΑΜΙΑ ΕΥΘΥΝΗ ΠΟΥ ΑΠΟΡΡΕΕΙ ΑΠΟ ΕΣΦΑΛΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ(-ΩΝ) ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ (-ΤΩΝ) ΠΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΠΑΡΟΝ [ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΤΩΝ ΕΞΑΡΤΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ(-ΟΥΣ) Ή ΤΟΥ ΛΟΓΙΣΜΙΚΟΥ].

© 2021 Illumina, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Όλα τα σήματα κατατεθέντα είναι ιδιοκτησία της Illumina, Inc. ή των αντίστοιχων κατόχων τους. Για συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με τα σήματα κατατεθέντα, επισκεφτείτε την ηλεκτρονική διεύθυνση www.illumina.com/company/legal.html.

Ιστορικό αναθεώρησης

Αρ. εγγράφου	Ημερομηνία	Περιγραφή αλλαγής
1000000109376 έκδ. 04	Απρίλιος 2021	<p>Προσθήκη οδηγιών για την εισαγωγή αρχείων τιμής αναφοράς.</p> <p>Προσθήκη ροής εργασιών DRAGEN DNA Amplicon.</p> <p>Προσθήκη δυνατοτήτων για το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3.</p> <p>Προσθήκη πληροφοριών για την επιλογή διακομιστή μεσολάβησης.</p> <p>Ενημέρωση θερμοκρασία αποστολής και αποθήκευσης του RSB με Tween 20.</p> <p>Ενημέρωση ροής εργασιών DRAGEN RNA για να συμπεριληφθεί η διαφορική έκφραση γονιδίων.</p> <p>Ενημέρωση της δομής του φακέλου εξόδου αλληλούχισης.</p> <p>Ενημέρωση των συστάσεων για τη μορφή v2 του φύλλου δείγματος.</p>
1000000109376 έκδ. 03	Νοέμβριος 2020	<p>Διόρθωση αριθμών καταλόγων.</p> <p>Προσθήκη πληροφοριών σχετικά με την προσθήκη νέων χρηστών.</p>

Αρ. εγγράφου	Ημερομηνία	Περιγραφή αλλαγής
1000000109376 έκδ. 02	Οκτώβριος 2020	<p>Προσθήκη κιτ αντιδραστηρίων NextSeq 1000/2000 P3.</p> <p>Προσθήκη ροής εργασιών DRAGEN Single Cell RNA.</p> <p>Προσθήκη ροής εργασιών DRAGEN Enrichment.</p> <p>Προσθήκη επιλογών συμπίεσης FASTQ.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών για την εγκατάσταση της διαδικασίας DRAGEN και των ενημερώσεων άδειας χρήσης.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών για την εισαγωγή προσαρμοσμένων γονιδιωμάτων αναφοράς.</p> <p>Ενημέρωση όγκου και συγκεντρώσεων φόρτωσης για τύπους βιβλιοθήκης.</p> <p>Ενημέρωση οδηγιών αραίωσης βιβλιοθήκης.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών για την αυτόματη εκκαθάριση της κασέτας αντιδραστηρίων.</p> <p>Ενημέρωση πληροφοριών σχετικά με τον υποστηριζόμενο αριθμό κύκλων.</p> <p>Ενημέρωση επιλογών προσαρμογής οργάνου.</p> <p>Ενημέρωση οδηγιών ρύθμισης εκτέλεσης οργάνου.</p> <p>Ενημέρωση της δομής εξόδου αλληλούχισης DRAGEN.</p> <p>Προσθήκη πληροφοριών σχετικά με τις αναφορές QC DRAGEN.</p> <p>Προσθήκη πληροφοριών σχετικά με την κατάργηση προσαρμοσμένων γονιδιωμάτων αναφοράς από τη μονάδα σκληρού δίσκου.</p> <p>Προσθήκη πληροφοριών σχετικά με την πραγματοποίηση ελέγχων συστήματος.</p> <p>Ενημέρωση ρυθμίσεων φύλλου δείγματος v2.</p>

Αρ. εγγράφου	Ημερομηνία	Περιγραφή αλλαγής
1000000109376 έκδ. 01	Ιούνιος 2020	<p>Ενημέρωση περιγραφών λογισμικού για το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000.</p> <p>Σαφής διάκριση μεταξύ των λειτουργιών Cloud (Λειτουργία νέφους), Hybrid (Υβριδική λειτουργία), Local (Τοπική λειτουργία) και Standalone (Αυτόνομη λειτουργία) σε ολόκληρο τον οδηγό.</p> <p>Ενημέρωση οδηγιών απόψυξης και αποθήκευσης κασέτας.</p> <p>Ενημέρωση πληροφοριών σχετικά με τον υποστηριζόμενο αριθμό κύκλων.</p> <p>Ενημέρωση οδηγιών για τη ρύθμιση δευτερεύουσας ανάλυσης.</p> <p>Ενημέρωση αριθμών καταλόγου κιτ αντιδραστηρίων.</p> <p>Ενημέρωση διαγράμματος πρωτοκόλλου αλληλούχησης.</p> <p>Ενημέρωση οδηγιών για τον καθορισμό μιας μονάδας δίσκου δικτύου ως προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου.</p> <p>Ενημέρωση πίνακα υποστηριζόμενων τύπων βιβλιοθήκης.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών για την εισαγωγή ενός προσαρμοσμένου γονιδιώματος αναφοράς.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών για τη ρύθμιση μιας εκτέλεσης χρησιμοποιώντας ένα προσαρμοσμένο κιτ ευρετηρίασης και ένα προσαρμοσμένο κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης.</p> <p>Ενημέρωση απαιτήσεων για τον λογαριασμό και τον κωδικό πρόσβασης χρήστη.</p> <p>Προσθήκη λεπτομερειών σχετικά με τη δομή του φακέλου εξόδου DRAGEN.</p> <p>Αποσαφήνιση οδηγιών για την αποστράγγιση των χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων από την κασέτα.</p> <p>Προσθήκη γενικών πληροφοριών σχετικά με τον πίνακα Q.</p>

Αρ. εγγράφου	Ημερομηνία	Περιγραφή αλλαγής
1000000109376 έκδ. 01	Ιούνιος 2020	<p>Ενημέρωση οδηγιών σχετικά με την εγκατάσταση των ενημερώσεων του λογισμικού ελέγχου.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών σχετικά με τον τρόπο επανατοποθέτησης μιας εκτέλεσης στην ουρά.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών σχετικά με την ενημέρωση των διαδικασιών και της άδειας χρήσης DRAGEN.</p> <p>Προσθήκη οδηγιών προσαρμογής οργάνου.</p> <p>Ενημέρωση εικόνων προκειμένου να αντικατοπτρίζεται η νέα επισήμανση.</p> <p>Αντικατάσταση της λέξης "θύρα" με τη λέξη "προστατευτικό κάλυμμα" σε ολόκληρο τον οδηγό.</p> <p>Προσθήκη περιγραφής των δύο θυρών Ethernet.</p>
1000000109376 έκδ. 00	Μάρτιος 2020	Αρχική δημοσίευση.

Πίνακας περιεχομένων

Επισκόπηση συστήματος	1
Επιπλέον πηγές	2
Υλικό οργάνου	3
Ενσωματωμένο λογισμικό	5
Διαχείριση διαδικασίας	6
Διάγραμμα πρωτοκόλλου αλληλούχισης	8
Πώς λειτουργεί η αλληλούχιση	8
Διαμόρφωση συστήματος	11
Απαιτήσεις λογαριασμού χρήστη	11
Διαμόρφωση του BaseSpace Sequence Hub και της Προληπτικής υποστήριξης	14
Καθορισμός της προεπιλεγμένης θέσης του φακέλου εξόδου	15
Εισαγωγή προσαρμοσμένων γονιδιωμάτων αναφοράς	19
Εισαγωγή αρχείων τιμής αναφοράς θορύβου	19
Διαμόρφωση λειτουργίας εκτέλεσης	21
Προσαρμογή οργάνου	22
Αναλώσιμα και εξοπλισμός	25
Αναλώσιμα αλληλούχισης	25
Βοηθητικά αναλώσιμα	29
Βοηθητικός εξοπλισμός	31
Πρωτόκολλο	32
Ζητήματα αλληλούχισης	32
Προγραμματισμός εκτέλεσης αλληλούχισης στο BaseSpace Sequence Hub	34
Απόψυξη της συσκευασμένης στον σάκο κασέτας και της κυψελίδας ροής	43
Βιβλιοθήκες αραίωσης	46
Φόρτωση αναλωσίμων στην κασέτα	48
Έναρξη εκτέλεσης αλληλούχισης	51
Δεδομένα εξόδου αλληλούχισης	61
Επισκόπηση Real-Time Analysis	61
Ροή εργασιών Real-Time Analysis	64
Αρχεία εξόδου αλληλούχισης	68
Αρχεία εξόδου δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN	69
Δομή φακέλου εξόδου δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN	80
Συντήρηση	83
Απελευθέρωση χώρου στον σκληρό δίσκο	83
Ενημερώσεις λογισμικού	84
Ενημερώσεις άδειας χρήσης και ροής εργασιών του DRAGEN	85

Αντικατάσταση του φίλτρου αέρα	88
Αντιμετώπιση προβλημάτων	90
Επίλυση μηνυμάτων σφάλματος	90
Επιστροφή αναλωσίμων στον χώρο αποθήκευσης	91
Ακύρωση εκτέλεσης	91
Επανατοποθέτηση εκτέλεσης στην ουρά	92
Επανεκκίνηση του οργάνου	93
Πραγματοποίηση ελέγχου συστήματος	94
Επαναφορά εργασιακών ρυθμίσεων	95
Δημιουργία ειδώλου εγκατάστασης	95
Επαναφορά ειδώλου	95
Πηγές και αναφορές	97
Ρυθμίσεις φύλλου δείγματος v2	97
Αλληλούχιση νυχτερινού κύκλου	114
Ευρετήριο	116
Τεχνική βοήθεια	120

Επισκόπηση συστήματος

Το σύστημα αλληλούχισης Illumina® NextSeq™ 1000 και το σύστημα αλληλούχισης Illumina® NextSeq™ 2000 παρέχει μια στοχευμένη προσέγγιση στην NGS¹. Αυτό το επικεντρωμένο σε εφαρμογές σύστημα ενσωματώνει την τεχνολογία αλληλούχισης της Illumina σε ένα οικονομικό όργανο με υπολογιστή, το οποίο προσφέρει τις ακόλουθες δυνατότητες:

- **Προσβασιμότητα και αξιοπιστία**—Το NextSeq 1000/2000 έχει τοπική ανάλυση DRAGEN και πραγματοποιεί αποδιάταξη και αραίωση. Στο σύστημα έχει ενσωματωθεί μια μονάδα απεικόνισης και υδραυλικά εξαρτήματα είναι ενσωματωμένα στα αναλώσιμα, απλοποιώντας τη συντήρηση του οργάνου.
- **Φόρτωση αναλωσίμων με ένα βήμα**—Η κασέτα μίας χρήσης είναι προπληρωμένη με όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για μια εκτέλεση. Η βιβλιοθήκη και η κυψελίδα ροής φορτώνονται απευθείας στην κασέτα, η οποία στη συνέχεια φορτώνεται στο όργανο. Η ενσωματωμένη ταυτοποίηση επιτρέπει την παρακολούθηση με ακρίβεια.
- **Λογισμικό NextSeq 1000/2000**—Μια οικογένεια ενσωματωμένου λογισμικού ελέγχει τις λειτουργίες του οργάνου, επεξεργάζεται εικόνες και δημιουργεί αντιστοιχίσεις βάσης.
 - **Λειτουργία Cloud** (Λειτουργία νέφους)—Προγραμματίστε την εκτέλεση με το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub. Η επιλεγμένη ροή εργασιών ανάλυσης ξεκινά αυτόματα στο νέφος. Τα δεδομένα της εκτέλεσης και τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρέχονται επίσης στο νέφος.
 - **Λειτουργία Hybrid** (Υβριδική λειτουργία)—Προγραμματίστε την εκτέλεση με το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub. Η επιλεγμένη ροή εργασιών ανάλυσης θα ξεκινήσει μέσω του DRAGEN εντός του οργάνου.
 - **Λειτουργία Local** (Τοπική λειτουργία)—Προγραμματίστε τοπικά την εκτέλεση με μορφή αρχείου v2 για το φύλλο δείγματος. Η επιλεγμένη ροή εργασιών ανάλυσης θα ξεκινήσει αυτόματα μέσω του DRAGEN εντός του οργάνου.
 - **Λειτουργία Standalone** (Αυτόνομη λειτουργία)—Προγραμματίστε την εκτέλεση χωρίς φύλλο δείγματος.

Η παρούσα ενότητα παρέχει μια επισκόπηση του συστήματος, συμπεριλαμβανομένων πληροφοριών σχετικά με το υλικό, το λογισμικό και την ανάλυση δεδομένων. Επίσης, συγκεντρώνει τις βασικές έννοιες και την ορολογία που περιέχεται σε ολόκληρη την τεκμηρίωση. Για λεπτομέρειες σχετικά με τις προδιαγραφές, τα φύλλα δεδομένων, τις εφαρμογές και τα σχετικά προϊόντα, ανατρέξτε στη [σελίδα των προϊόντων που περιλαμβάνει τα συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000](#) στον ιστότοπο της Illumina.

¹αλληλούχιση επόμενης γενιάς

Επιπλέον πηγές

Οι [σελίδες υποστήριξης των συστημάτων αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000](#) στον ιστότοπο της Illumina παρέχουν επιπλέον πηγές για το σύστημα. Οι εν λόγω πηγές περιλαμβάνουν λογισμικό, εκπαίδευση, συμβατά προϊόντα και την ακόλουθη τεκμηρίωση. Ελέγχετε πάντα τις σελίδες υποστήριξης για τις τελευταίες ενημερώσεις.

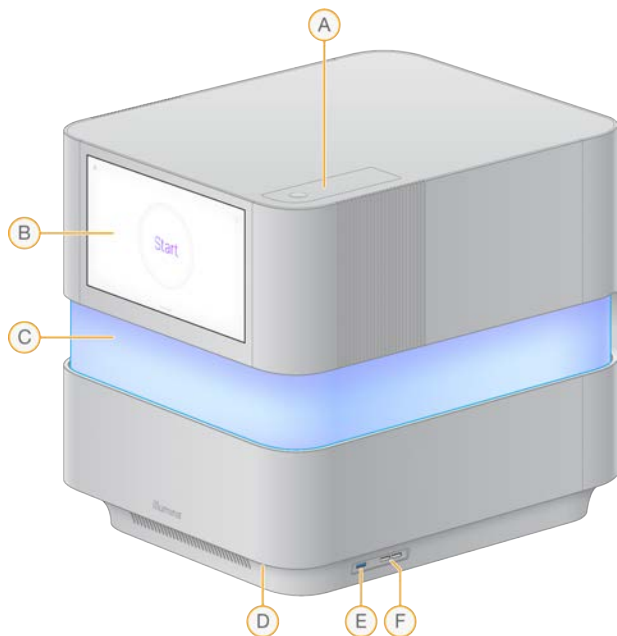
Πηγή	Περιγραφή
Προσαρμοσμένος επιλογέας πρωτοκόλλου	Ένα εργαλείο για τη δημιουργία ολοκληρωμένων οδηγιών που είναι προσαρμοσμένες στη μέθοδο προετοιμασίας της βιβλιοθήκης, τις παραμέτρους εκτέλεσης και τη μέθοδο ανάλυσης, με επιλογές βελτίωσης του βαθμού λεπτομέρειας.
Οδηγός ασφάλειας και συμμόρφωσης των συστημάτων αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000 (αρ. εγγράφου 1000000111928)	Παρέχει πληροφορίες σχετικά με ζητήματα λειτουργικής ασφάλειας, δηλώσεις συμμόρφωσης και την επισήμανση του οργάνου.
Οδηγός συμμόρφωσης της μονάδας συσκευής ανάγνωσης RFID (αρ. εγγράφου 1000000002699)	Παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη συσκευή ανάγνωσης RFID του οργάνου, τα πιστοποιητικά συμμόρφωσης και τα ζητήματα ασφάλειας.
Οδηγός αποδιάταξης και αραιώσης βιβλιοθηκών σε συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και 2000 (αρ. εγγράφου 1000000139235)	Παρέχει οδηγίες για τη μη αυτόματη αποδιάταξη και αραιώση προετοιμασμένων βιβλιοθηκών για μια εκτέλεση αλληλούχισης καθώς και για την προετοιμασία του προαιρετικού PhiX control.
Οδηγός προσαρμοσμένων εκκινητών συστημάτων αλληλούχισης NextSeq 1000 και 2000 (αρ. εγγράφου 1000000139569)	Παρέχει πληροφορίες σχετικά με την αντικατάσταση των εκκινητών αλληλούχισης της Illumina με προσαρμοσμένους εκκινητές αλληλούχισης.
Οδηγός προετοιμασίας εργαστηρίου συστήματος αλληλούχισης NextSeq 2000 (αρ. εγγράφου 1000000109378)	Παρέχει τις προδιαγραφές για τον χώρο του εργαστηρίου, τις απαιτήσεις παροχής ρεύματος και περιλαμβάνει ζητήματα που αφορούν το περιβάλλον και το δίκτυο.

Πηγή	Περιγραφή
Βοήθεια για το BaseSpace (help.baspace.illumina.com)	Παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη χρήση του BaseSpace™ Sequence Hub και τις διαθέσιμες επιλογές ανάλυσης.
Οδηγός συγκέντρωσης προσαρμογέων ευρετηρίου (αρ. εγγράφου 1000000041074)	Παρέχει οδηγίες για τη συγκέντρωση και στρατηγικές διπλής ευρετηρίασης.
Αλληλουχίες προσαρμογέων Illumina (αρ. εγγράφου 1000000002694)	Παρέχει λίστες με τις αλληλουχίες προσαρμογέων για τα κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης της Illumina.

Υλικό οργάνου

Τα συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000 αποτελούνται από το κουμπί τροφοδοσίας, την οθόνη, τη ράβδο κατάστασης, το διαμέρισμα αναλωσίμων και τις θύρες USB.

Εικόνα 1 Εξωτερικά εξαρτήματα συστήματος



- A. **Διαμέρισμα φίλτρου αέρα**—Παρέχει πρόσβαση στο φίλτρο αέρα για την αντικατάστασή του.
- B. **Οθόνη αφής**—Επιτρέπει τη διαμόρφωση και τη ρύθμιση εντός του οργάνου μέσω της διεπαφής του λογισμικού ελέγχου.
- C. **Ράβδος κατάστασης**—Το έγχρωμο φως μεταβάλλεται καθώς εξελίσσεται η ροή εργασιών στο σύστημα. Το μπλε και μοβ χρώμα υποδεικνύει αλληλεπίδραση (π.χ. έλεγχοι πριν από την εκτέλεση) και το πολύχρωμο φως υποδεικνύει αξιοσημείωτα συμβάντα και δεδομένα (π.χ. ολοκλήρωση αλληλούχισης). Τα κρίσιμα σφάλματα υποδεικνύονται με κόκκινο φως.

- D. **Κουμπί τροφοδοσίας**—Ελέγχει την τροφοδοσία του οργάνου και υποδεικνύει εάν το σύστημα είναι ενεργοποιημένο (είναι αναμμένο), είναι απενεργοποιημένο (είναι σβηστό) ή είναι απενεργοποιημένο αλλά τροφοδοτείται από εναλλασσόμενο ρεύμα (AC) (αναβοσβήνει).
- E. **Θύρα USB 3.0**—Για τη σύνδεση εξωτερικής φορητής μονάδας δίσκου για μεταφορά δεδομένων.
- F. **Θύρες USB 2.0**—Για τη σύνδεση ποντικιού και πληκτρολογίου.

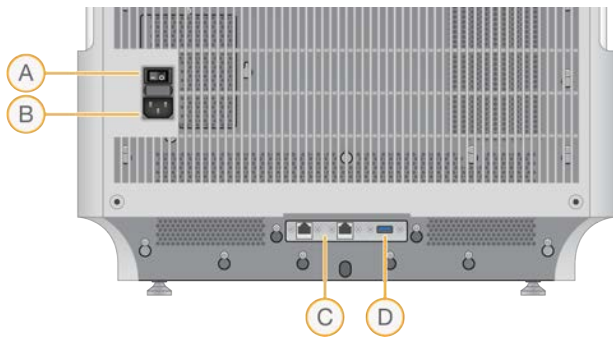
Σύνδεση τροφοδοσίας και βοηθητικές συνδέσεις

Μπορείτε να μετακινήσετε προσεκτικά το όργανο για να αποκτήσετε πρόσβαση στον διακόπτη τροφοδοσίας, στη θύρα USB και στις υπόλοιπες βοηθητικές συνδέσεις που βρίσκονται στο πίσω μέρος του οργάνου.

Στο πίσω μέρος του οργάνου υπάρχει ο διακόπτης και η είσοδος για τον έλεγχο της ηλεκτρικής τροφοδοσίας του οργάνου, καθώς και δύο θύρες Ethernet για προαιρετική σύνδεση Ethernet. Θύρα USB 3.0 παρέχει την επιλογή σύνδεσης μιας εξωτερικής φορητής μονάδας δίσκου για μεταφορά δεδομένων (το σύστημα αρχείων exFAT δεν υποστηρίζεται σε αυτήν την πλατφόρμα Linux).

Τα συστήματα αλληλούχησης NextSeq 1000 και NextSeq 2000 διαθέτουν δύο θύρες Ethernet για τη διεύρυνση των δυνατοτήτων και της ευελιξίας του συστήματος. Για παράδειγμα, η μία θύρα Ethernet μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επικοινωνία με μια εσωτερική μονάδα δίσκου δικτύου και η άλλη θύρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για εξωτερική επικοινωνία, όπως με το BaseSpace Sequence Hub ή την Προληπτική υποστήριξη.

Εικόνα 2 Εξαρτήματα του πίσω πίνακα

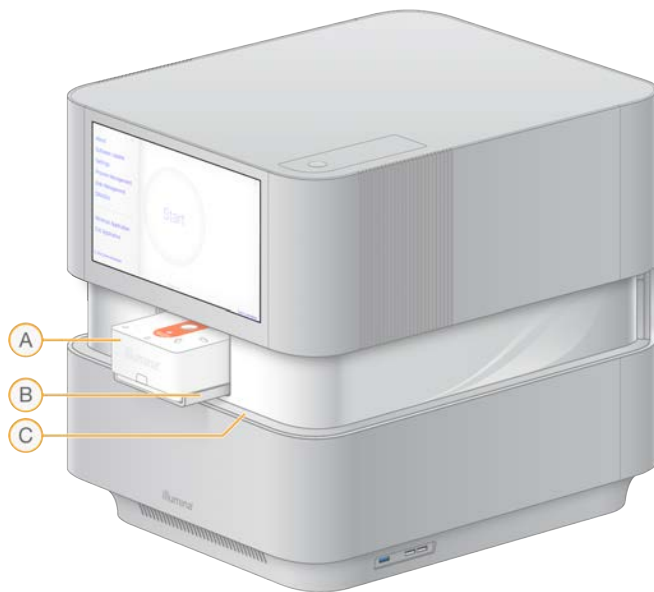


- A. **Διακόπτης**—Ενεργοποιεί και απενεργοποιεί την τροφοδοσία του οργάνου.
- B. **Είσοδος ρεύματος**—Σύνδεση καλωδίου ρεύματος.
- C. **Θύρες Ethernet (2)**—Προαιρετική σύνδεση καλωδίου Ethernet.
- D. **Θύρα USB 3.0**—Για τη σύνδεση εξωτερικής μονάδας σκληρού δίσκου για μεταφορά δεδομένων.

Διαμέρισμα αναλωσίμων

Το διαμέρισμα των αναλωσίμων περιέχει την κασέτα, συμπεριλαμβανομένων της κυψελίδας ροής και της αραιωμένης βιβλιοθήκης, για την εκτέλεση της αλληλούχησης.

Εικόνα 3 Φορτωμένο διαμέρισμα αναλωσίμων



- A. **Κασέτα**—Περιέχει την κυψελίδα ροής, τη βιβλιοθήκη και τα αντιδραστήρια, και συλλέγει τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.
- B. **Δίσκος**—Συγκρατεί την κασέτα κατά τη διάρκεια της αλληλούχησης.
- C. **Προστατευτικό κάλυμμα**—Ανοίγει για την παροχή πρόσβασης στο διαμέρισμα των αναλωσίμων.

Ενσωματωμένο λογισμικό

Η οικογένεια λογισμικού του συστήματος περιλαμβάνει ενσωματωμένες εφαρμογές που πραγματοποιούν εκτελέσεις αλληλούχησης και ανάλυση.

- **Λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000**—Ελέγχει τις λειτουργίες του οργάνου και παρέχει μια διεπαφή για τη διαμόρφωση του συστήματος, τη ρύθμιση εκτέλεσης αλληλούχησης και την παρακολούθηση στατιστικών στοιχείων για την εκτέλεση, καθώς εξελίσσεται η αλληλούχηση.
- **Real-Time Analysis (RTA3)**—Πραγματοποιεί ανάλυση εικόνων και αντιστοίχιση βάσης κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα [Δεδομένα εξόδου αλληλούχησης στη σελίδα 61](#).
- **Universal Copy Service**—Αντιγράφει τα αρχεία εξόδου της αλληλούχησης από τον φάκελο εκτέλεσης στο BaseSpace Sequence Hub (εάν απαιτείται) και στον φάκελο εξόδου, όπου μπορείτε να αποκτήσετε πρόσβαση σε αυτά.

Το λογισμικό ελέγχου αλληλεπιδρά και εκτελεί αυτοματοποιημένες διαδικασίες στο παρασκήνιο. Το Real-Time Analysis και το Universal Copy Service εκτελούν μόνο διαδικασίες στο παρασκήνιο.

Πληροφορίες συστήματος

Επιλέξτε το μενού του λογισμικού ελέγχου στην επάνω αριστερή γωνία για να ανοίξετε την ενότητα About (Πληροφορίες). Η ενότητα About (Πληροφορίες) περιέχει τα στοιχεία επικοινωνίας με την Illumina καθώς και τις ακόλουθες πληροφορίες συστήματος:

- Αριθμός σειράς οργάνου
- Όνομα υπολογιστή
- Έκδοση οικογένειας λογισμικού συστήματος
- Έκδοση λειτουργικού συστήματος ειδώλου
- Συνολικές μετρήσεις εκτέλεσης

Ειδοποιήσεις και συναγερμοί

Το εικονίδιο των ειδοποιήσεων βρίσκεται στην επάνω δεξιά γωνία. Όταν προκύψει μια προειδοποίηση ή ένα σφάλμα, ο δεξιός πίνακας θα ολισθήσει προς τα έξω ως υπόδειξη ότι υπάρχουν ειδοποιήσεις. Επιλέξτε το εικονίδιο οποιαδήποτε στιγμή για να προβάλετε τις τρέχουσες (Current) ειδοποιήσεις ή το ιστορικό (Historic) των ειδοποιήσεων για τις προειδοποιήσεις και τα σφάλματα.

- Οι προειδοποιήσεις απαιτούν προσοχή, αλλά δεν διακόπτουν μια εκτέλεση ούτε απαιτούν κάποια ενέργεια εκτός από την επιβεβαίωση ότι την είδατε.
- Τα σφάλματα απαιτούν ενέργεια πριν από την έναρξη ή τη συνέχιση μιας εκτέλεσης.

Ελαχιστοποίηση του λογισμικού ελέγχου

Ελαχιστοποιήστε το λογισμικό ελέγχου για να αποκτήσετε πρόσβαση σε άλλες εφαρμογές. Για παράδειγμα, για να περιηγηθείτε στον File Explorer και να μεταβείτε στον φάκελο εξόδου ή να βρείτε ένα φύλλο δείγματος.

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Minimize Application** (Ελαχιστοποίηση εφαρμογής). Το λογισμικό ελέγχου ελαχιστοποιείται.
2. Για να μεγιστοποιηθεί το λογισμικό ελέγχου, επιλέξτε **NextSeq 1000/2000 Control Software** (Λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000) από τη γραμμή εργαλείων.

Διαχείριση διαδικασίας

Η οθόνη Process Management (Διαχείριση διαδικασίας) εμφανίζει προσωρινές εκτελέσεις που έχουν αποθηκευτεί στο `/usr/local/illumina/runs`. Κάθε εκτέλεση προσδιορίζεται από την ημερομηνία εκτέλεσης, το όνομα και το αναγνωριστικό. Επίσης, για κάθε εκτέλεση εμφανίζονται πληροφορίες όπως η κατάσταση της εκτέλεσης, της δευτερεύουσας ανάλυσης, του φακέλου εξόδου και του νέφους. Επιλέξτε την εκτέλεση για να προβάλετε επιπρόσθετες πληροφορίες, συμπεριλαμβανομένων

των Workflow (Ροή εργασιών), Average % Q30 (Μέσο % Q30), Total Reads PF (Συνολικές αναγνώσεις PF) και Total Yield (Συνολική απόδοση). Για τη διαγραφή εκτελέσεων και την απελευθέρωση χώρου, ανατρέξτε στην ενότητα [Απελευθέρωση χώρου στον σκληρό δίσκο στη σελίδα 83](#). Για την επανατοποθέτηση στην ουρά της ανάλυσης εντός του οργάνου, ανατρέξτε στην ενότητα [Επανατοποθέτηση εκτέλεσης στην ουρά στη σελίδα 92](#).

Κατάσταση εκτέλεσης

Σε αυτήν την ενότητα εμφανίζεται η κατάσταση της εκτέλεσης αλληλούχισης:

- **In Progress** (Σε εξέλιξη)—Η εκτέλεση αλληλούχισης είναι σε εξέλιξη.
- **Complete** (Ολοκλήρωση)—Η εκτέλεση αλληλούχισης είναι ολοκληρωμένη.
- **Stopped** (Έχει διακοπεί)—Η εκτέλεση αλληλούχισης διακόπηκε.
- **Errored** (Προέκυψε σφάλμα)—Η εκτέλεση αλληλούχισης έχει σφάλμα.

Κατάσταση δευτερεύουσας ανάλυσης

Σε αυτήν την ενότητα εμφανίζεται η κατάσταση της δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN εντός του οργάνου. Θα εμφανιστεί η ένδειξη N/A εάν η ανάλυση πραγματοποιείται στο BaseSpace Sequence Hub.

- **Not Started** (Δεν έχει ξεκινήσει)—Η ανάλυση DRAGEN δεν έχει ξεκινήσει ακόμα.
- **In Progress** (Σε εξέλιξη)—Η ανάλυση DRAGEN είναι σε εξέλιξη.
- **Stopped** (Έχει διακοπεί)—Η ανάλυση DRAGEN έχει διακοπεί.
- **Errored** (Προέκυψε σφάλμα)—Η ανάλυση DRAGEN έχει σφάλμα.
- **Complete** (Ολοκλήρωση)—Η ανάλυση DRAGEN είναι ολοκληρωμένη.

Κατάσταση φακέλου εξόδου

Σε αυτήν την ενότητα εμφανίζεται η κατάσταση των αρχείων που αντιγράφονται στον φάκελο εξόδου:

- **In Progress** (Σε εξέλιξη)—Τα αρχεία αντιγράφονται στον φάκελο εξόδου.
- **Complete** (Ολοκλήρωση)—Τα αρχεία έχουν αντιγραφεί επιτυχώς στον φάκελο εξόδου.

Κατάσταση νέφους (BaseSpace Sequence Hub)

Σε αυτήν την ενότητα εμφανίζεται η κατάσταση των αρχείων που αποστέλλονται στο BaseSpace Sequence Hub μέσω του νέφους:

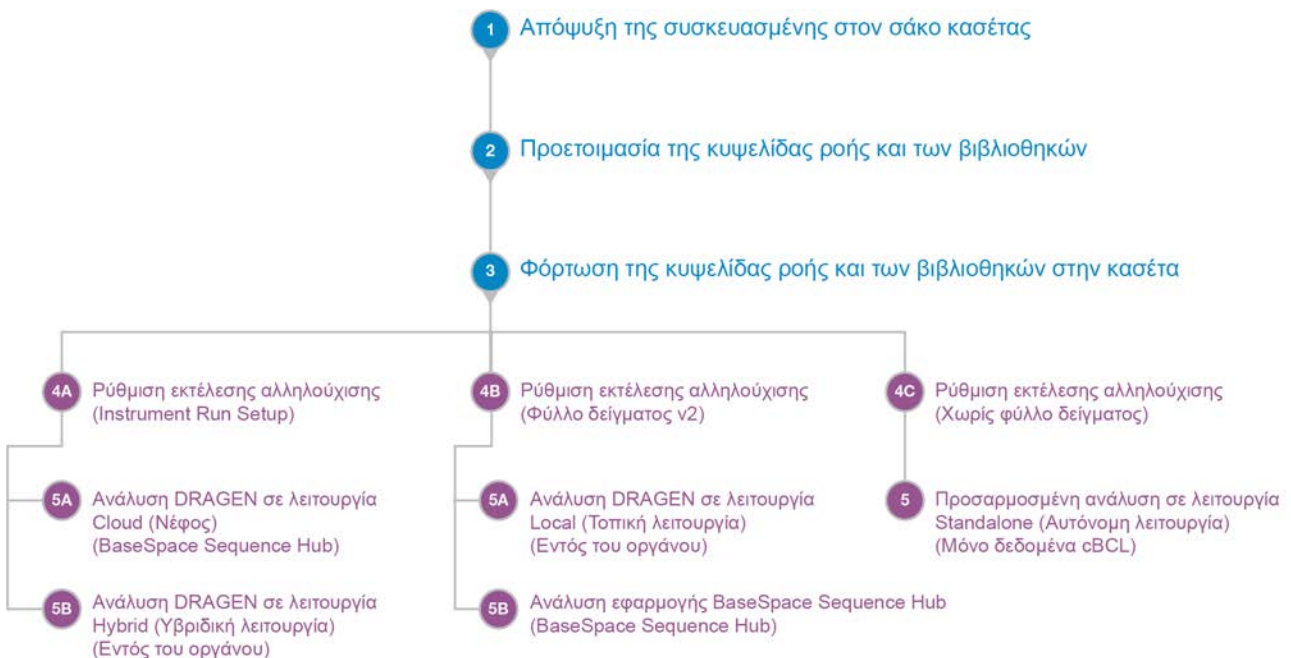
- **In Progress** (Σε εξέλιξη) — Το λογισμικό ελέγχου αποστέλλει αρχεία στο BaseSpace Sequence Hub.
- **Complete** (Ολοκλήρωση)—Τα αρχεία έχουν αποσταλεί επιτυχώς στο BaseSpace Sequence Hub.

Αντιμετώπιση προβλήματος κατάστασης

- Εάν η εκτέλεση είναι σε εξέλιξη, κλείστε την οθόνη Process Management (Διαχείριση διαδικασίας), περιμένετε περίπου πέντε λεπτά και κατόπιν ανοίξτε την πάλι.
- Εάν η εκτέλεση δεν είναι σε εξέλιξη, επανεκκινήστε το όργανο και κατόπιν ανοίξτε πάλι την οθόνη Process Management (Διαχείριση διαδικασίας). Ανατρέξτε στην ενότητα [Επανεκκίνηση του οργάνου στη σελίδα 93](#).

Διάγραμμα πρωτοκόλλου αλληλούχισης

Στο παρακάτω διάγραμμα απεικονίζεται το πρωτόκολλο αλληλούχισης που χρησιμοποιεί το NextSeq 1000/2000.



Πώς λειτουργεί η αλληλούχιση

Η δημιουργία συστάδας, η αλληλούχιση και η ανάλυση αποτελούν τη διαδικασία αλληλούχισης στα συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000. Κάθε βήμα πραγματοποιείται αυτόματα κατά τη διάρκεια μιας εκτέλεσης αλληλούχισης. Ανάλογα με τη διαμόρφωση του συστήματος, η περαιτέρω ανάλυση πραγματοποιείται εκτός του οργάνου μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης.

Δημιουργία συστάδας

Η βιβλιοθήκη¹ αποδιατάσσεται αυτόματα σε μονές αλυσίδες και αραιώνεται περαιτέρω στο όργανο. Κατά τη διάρκεια της δημιουργίας συστάδας, μεμονωμένα μόρια DNA δεσμεύονται στην επιφάνεια της κυψελίδας ροής και ενισχύονται με σκοπό να σχηματιστούν συστάδες². Η δημιουργία συστάδας διαρκεί ~4 ώρες.

Αλληλούχηση

Οι συστάδες απεικονίζονται χρησιμοποιώντας χημική ανάλυση δύο καναλιών, ένα πράσινο κανάλι και ένα μπλε κανάλι, για την κωδικοποίηση των δεδομένων για τα τέσσερα νουκλεοτίδια. Μόλις ολοκληρωθεί η απεικόνιση ενός πλακιδίου στην κυψελίδα ροής, θα απεικονιστεί το επόμενο πλακίδιο. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για κάθε κύκλο αλληλούχησης (~5 λεπτά ανά κύκλο). Μετά την ανάλυση εικόνων, το λογισμικό Real-Time Analysis πραγματοποιεί αντιστοίχιση βάσης³, φιλτράρισμα και βαθμολόγηση ποιότητας.⁴

Κύρια ανάλυση

Καθώς εξελίσσεται η εκτέλεση, το λογισμικό ελέγχου μεταφέρει αυτόματα τα αρχεία αντιστοίχισης βάσης⁵ (*.cbcl) στον καθορισμένο φάκελο εξόδου για ανάλυση των δεδομένων. Κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης αλληλούχησης, το λογισμικό ανάλυσης σε πραγματικό χρόνο (RTA3) πραγματοποιεί ανάλυση εικόνων, αντιστοίχιση βάσης και αποπολύπλεξη⁶. Όταν ολοκληρωθεί η αλληλούχηση, θα αρχίσει η δευτερεύουσα ανάλυση. Η μέθοδος δευτερεύουσας ανάλυσης των δεδομένων εξαρτάται από την εφαρμογή και τη διαμόρφωση του συστήματός σας.

Δευτερεύουσα ανάλυση

Το BaseSpace Sequence Hub είναι το υπολογιστικό περιβάλλον νέφους της Illumina για παρακολούθηση εκτελέσεων, ανάλυση δεδομένων, αποθήκευση και συνεργασία. Φιλοξενεί τις εφαρμογές DRAGEN και BaseSpace Sequence Hub, οι οποίες υποστηρίζουν συνήθεις μεθόδους ανάλυσης για αλληλούχηση.

¹Ένα δείγμα DNA ή RNA με συνδεδεμένους προσαρμογείς για αλληλούχηση. Οι μέθοδοι προετοιμασίας ποικίλλουν.

²Μια ομάδα κλώνων στελεχών DNA σε μια κυψελίδα ροής που δημιουργούν μία ανάγνωση αλληλούχησης. Κάθε στέλεχος DNA σε μια κυψελίδα ροής ενοφθαλμίζει ένα πρότυπο που υποβάλλεται σε ενίσχυση έως ότου η συστάδα να αποτελείται από εκατοντάδες χιλιάδες αντίγραφα. Για παράδειγμα, μια κυψελίδα ροής με 10.000 συστάδες δημιουργεί 10.000 μεμονωμένες αναγνώσεις ή 20.000 αναγνώσεις συζευγμένων άκρων.

³Προσδιορισμός μιας βάσης (A, C, G ή T) για κάθε συστάδα ενός τίτλου σε έναν συγκεκριμένο κύκλο.

⁴Υπολογίζει ένα σύνολο ανεξάρτητων μεταβλητών ποιότητας για κάθε αντιστοίχιση βάσης και κατόπιν χρησιμοποιεί τις τιμές των μεταβλητών για την εύρεση του Q-score.

⁵Περιέχει την αντιστοίχιση βάσης και την αντίστοιχη βαθμολογία ποιότητας για κάθε συστάδα κάθε κύκλου αλληλούχησης.

⁶Μια διαδικασία ανάλυσης που διαφοροποιεί τις αναγνώσεις για κάθε βιβλιοθήκη σε μια δεξαμενή.

Μετά την ολοκλήρωση της αρχικής ανάλυσης αλληλούχισης, το DRAGEN πραγματοποιεί μια δευτερεύουσα ανάλυση χρησιμοποιώντας μία από τις διαθέσιμες διαδικασίες ανάλυσης.

Εάν χρησιμοποιείται η λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική), το DRAGEN ανακτά φύλλο δείγματος, γονιδίωμα αναφοράς και αρχεία εισόδου εκτέλεσης από το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub. Στη λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους), τα δεδομένα cBCL αποστέλλονται αυτόματα στο BaseSpace Sequence Hub και το BaseSpace Sequence Hub ξεκινά τη δευτερεύουσα ανάλυση DRAGEN. Στη λειτουργία Hybrid (Υβριδική λειτουργία), η δευτερεύουσα ανάλυση DRAGEN πραγματοποιείται εντός του οργάνου και τα αρχεία εξόδου μπορούν να αποθηκευτούν σε έναν επιλεγμένο φάκελο ή στο νέφος.

Εάν χρησιμοποιείται η λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία), το DRAGEN ανακτά το παρεχόμενο φύλλο δείγματος, το γονιδίωμα αναφοράς και τα αρχεία εισόδου εκτέλεσης από τα συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000. Η δευτερεύουσα ανάλυση DRAGEN πραγματοποιείται εντός του οργάνου και τα αρχεία εξόδου αποθηκεύονται σε έναν επιλεγμένο φάκελο εξόδου. Εάν έχει επιλεγθεί το Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), η ανάλυση μπορεί επίσης να ξεκινήσει μέσω των εφαρμογών του BaseSpace Sequence Hub μετά την ολοκλήρωση της αλληλούχισης.

Εάν χρησιμοποιείται η λειτουργία Standalone (Αυτόνομη λειτουργία), ρυθμίστε μια εκτέλεση χωρίς φύλλο δείγματος. Αυτή η ροή εργασιών συνιστάται για ροές εργασιών προσαρμοσμένης ανάλυσης που ξεκινούν από δεδομένα cBCL.

- Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με το BaseSpace Sequence Hub, ανατρέξτε στην [Ηλεκτρονική βοήθεια του BaseSpace Sequence Hub](#).
- Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με το DRAGEN, ανατρέξτε στη [σελίδα υποστήριξης DRAGEN Bio-IT Platform](#).
- Για μια επισκόπηση όλων των εφαρμογών, ανατρέξτε στο [BaseSpace Apps](#).

Διαμόρφωση συστήματος

Στην παρούσα ενότητα παρέχονται οδηγίες σχετικά με τη ρύθμιση του συστήματός σας, συμπεριλαμβανομένων περιγραφών των ρυθμίσεων του λογισμικού.

Οι οδηγίες αυτές περιγράφουν κυρίως το λογισμικό ελέγχου και παρέχουν μερικές πληροφορίες σχετικά με τη διαμόρφωση του δικτύου και του λειτουργικού συστήματος.

i | Εάν χρησιμοποιείτε το Google Chrome στο όργανο θα σας ζητηθεί να ξεκλειδώσετε την κλειδοθήκη σύνδεσης. Μπορείτε με ασφάλεια να αγνοήσετε και να ακυρώσετε την προτροπή.

Απαιτήσεις λογαριασμού χρήστη

Το λειτουργικό σύστημα Linux έχει τρεις λογαριασμούς:

- root (υπερδιαχειριστής)
- ilmnadmin (διαχειριστής)
- ilmnuser (χρήστης)

Ο λογαριασμός διαχειριστή προορίζεται μόνο για την εφαρμογή ενημερώσεων συστήματος, όπως την ενημέρωση του λογισμικού ελέγχου NextSeq 1000/2000, ή για χρήση από το προσωπικό IT για τη σύνδεση μιας μόνιμης μονάδας δίσκου δικτύου.

Πραγματοποιήστε όλες τις υπόλοιπες λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της αλληλούχισης, από τον λογαριασμό χρήστη.

Απαιτήσεις κωδικού πρόσβασης

Ο μηχανικός τεχνικής υποστήριξης εκκινεί τη διαδικασία αλλαγής κωδικού πρόσβασης και για τους τρεις λογαριασμούς μετά την ολοκλήρωση της εγκατάστασης του οργάνου. Να ενημερώνετε τους κωδικούς πρόσβασης κάθε 180 ημέρες, όταν σας ζητείται.

Πίνακας 1 Προεπιλεγμένες πολιτικές κωδικού πρόσβασης

Πολιτική	Ρύθμιση
Επιβολή ιστορικού κωδικών πρόσβασης	Απομνημόνευση πέντε κωδικών πρόσβασης
Περιορισμός κλειδωμάτων	Δέκα μη έγκυρες προσπάθειες σύνδεσης
Ελάχιστο μήκος κωδικού πρόσβασης	Δέκα χαρακτήρες

Πολιτική	Ρύθμιση
Ελάχιστη ποικιλία χαρακτήρων	Τρεις χαρακτήρες από τα εξής: αριθμός, κεφαλαία γράμματα, πεζά γράμματα και σύμβολο
Μέγιστοι επαναλαμβανόμενοι χαρακτήρες	Τρεις χαρακτήρες
Οι κωδικοί πρόσβασης πρέπει να πληρούν τις προϋποθέσεις πολυπλοκότητας	Απενεργοποιημένη
Αποθήκευση κωδικών πρόσβασης με χρήση αναστρέψιμης κρυπτογράφησης	Απενεργοποιημένη

Προσθήκη νέου χρήστη

1. Συνδεθείτε στον λογαριασμό `ilmnadmin`.
2. Επιλέξτε το κουμπί τροφοδοσίας και στη συνέχεια ανοίξτε το αναπτυσσόμενο στοιχείο `ilmnadmin`.
3. Επιλέξτε **Account Settings** (Ρυθμίσεις λογαριασμού).
4. Επιλέξτε **Unlock** (Ξεκλείδωμα) και κατόπιν εισαγάγετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnadmin`.
5. Επιλέξτε **Add User** (Προσθήκη χρήστη).
6. Επιλέξτε τον τυπικό τύπο λογαριασμού και κατόπιν εισαγάγετε το νέο όνομα χρήστη.
7. Επιλέξτε **Set password now** (Ορισμός κωδικού πρόσβασης τώρα) και κατόπιν εισαγάγετε έναν κωδικό πρόσβασης.
8. Επιλέξτε **Add** (Προσθήκη).
Ο νέος χρήστης προστίθεται στη λίστα με τους χρήστες.
9. Παραχωρήστε στον χρήστη πρόσβαση στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 ως εξής.
 - a. Ανοίξτε το τερματικό.
 - b. Εισαγάγετε το εξής:

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <new user name>
```
 - c. Εάν ζητηθεί, εισαγάγετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnadmin`.
10. Για να επιβεβαιώσετε ότι τα δικαιώματα χρήστη ορίστηκαν επιτυχώς, ενεργήστε ως εξής.
 - a. Συνδεθείτε στον νέο λογαριασμό χρήστη.
 - b. Μεταβείτε στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000.
 - c. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
 - d. Στην ενότητα Default Output Folder (Προεπιλεγμένος φάκελος εξόδου) βεβαιωθείτε ότι μπορείτε να επιλέξετε και να αποθηκεύσετε τη διαδρομή φακέλου εξόδου.
Εάν μπορείτε να επιλέξετε και να αποθηκεύσετε τη διαδρομή φακέλου εξόδου χωρίς σφάλματα, τα δικαιώματα έχουν οριστεί επιτυχώς.

Επαναφορά κωδικού πρόσβασης

Στην παρούσα ενότητα περιγράφεται λεπτομερώς ο τρόπος επαναφοράς του κωδικού πρόσβασης για τους λογαριασμούς `ilmnuser`, `ilmnadmin` ή `root`. Η ανάκτηση του κωδικού πρόσβασης δεν είναι διαθέσιμη. Η επαναφορά του κωδικού πρόσβασης δεν παρακάμπτει το κλείδωμα του λογαριασμού μετά από πάρα πολλές εσφαλμένες προσπάθειες εισαγωγής του κωδικού πρόσβασης. Πρέπει να περιμένετε 10 λεπτά προτού μπορέσετε να επαναφέρετε τον κωδικό πρόσβασης ή προσπαθήσετε να συνδεθείτε.

Επαναφορά κωδικού πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnuser`

Μπορείτε να πραγματοποιήσετε επαναφορά του κωδικού πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnuser` εάν γνωρίζετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnadmin` ή `root`.

1. Συνδεθείτε στον λογαριασμό `ilmnadmin`.
2. Ανοίξτε το τερματικό.
3. Εισαγάγετε `sudo passwd ilmuser`.
4. Εισαγάγετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnadmin` όταν σας ζητηθεί.
5. Εισαγάγετε έναν νέο κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnuser` όταν σας ζητηθεί.
6. Πληκτρολογήστε ξανά τον νέο κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnuser` όταν σας ζητηθεί για να επιβεβαιώσετε τον νέο κωδικό πρόσβασης.

Επαναφορά κωδικού πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnadmin`

Μπορείτε να πραγματοποιήσετε επαναφορά του κωδικού πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnadmin` εάν γνωρίζετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `root`.

1. Συνδεθείτε στον λογαριασμό `root`.
2. Ανοίξτε το τερματικό.
3. Εισαγάγετε `passwd ilmadmin` για να αλλάξετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmadmin` ή εισαγάγετε `passwd ilmuser` για να αλλάξετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό `ilmnuser`.
4. Εισαγάγετε τον νέο κωδικό πρόσβασης όταν σας ζητηθεί.
5. Πληκτρολογήστε ξανά τον νέο κωδικό πρόσβασης όταν σας ζητηθεί για να επιβεβαιώσετε τον νέο κωδικό πρόσβασης.

Επαναφορά κωδικού πρόσβασης στον λογαριασμό Root

Για την επαναφορά του κωδικού πρόσβασης στον λογαριασμό root, χρησιμοποιήστε μία από τις ακόλουθες επιλογές:

- Εάν γνωρίζετε τον κωδικό πρόσβασης από τη φορά που δημιουργήθηκε το τελευταίο είδωλο του λειτουργικού συστήματος, πραγματοποιήστε επαναφορά από το συγκεκριμένο αποθηκευμένο είδωλο.
- Εάν δεν θυμάστε τον κωδικό πρόσβασης, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.

Διαμόρφωση του BaseSpace Sequence Hub και της Προληπτικής υποστήριξης

Ακολουθήστε τις παρακάτω οδηγίες για να διαμορφώσετε το BaseSpace Sequence Hub και την Προληπτική υποστήριξη στο σύστημά σας. Για να ρυθμίσετε έναν λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub, ανατρέξτε στην [Ηλεκτρονική βοήθεια του BaseSpace Sequence Hub](#).

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Για τις ρυθμίσεις του BaseSpace Sequence Hub και της Προληπτικής υποστήριξης, επιλέξτε μία από τις παρακάτω επιλογές:

Επιλογή	Περιγραφή και απαιτήσεις
Proactive Support Only (Μόνο προληπτική υποστήριξη)*	Αποστολή των δεδομένων απόδοσης του οργάνου στην Illumina για ταχύτερη αντιμετώπιση προβλημάτων. Απαιτείται σύνδεση στο διαδίκτυο.
Proactive and Run Monitoring (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης)	Αποστολή αρχείων InterOp και καταγραφής στο BaseSpace Sequence Hub για απομακρυσμένη παρακολούθηση της εκτέλεσης. Αυτή είναι η προεπιλεγμένη επιλογή. Απαιτείται λογαριασμός BaseSpace Sequence Hub και σύνδεση στο διαδίκτυο.
Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση)	Αποστολή αρχείων InterOp, αρχείων καταγραφής και δεδομένων εκτέλεσης στο BaseSpace Sequence Hub για απομακρυσμένη παρακολούθηση και ανάλυση. Απαιτείται λογαριασμός BaseSpace Sequence Hub, σύνδεση στο διαδίκτυο και φύλλο δείγματος.
None (Καμία)	Αποσύνδεση εκτελέσεων από τους λογαριασμούς BaseSpace Sequence Hub και μη αποστολή δεδομένων απόδοσης οργάνου για Προληπτική υποστήριξη Illumina.

* Ανάλογα με την έκδοση του λογισμικού ελέγχου, το όνομα αυτής της ρύθμισης στη διεπαφή του λογισμικού ενδέχεται να διαφέρει από το όνομα που αναφέρεται στον παρόντα οδηγό.

Όταν επιλέγεται οποιαδήποτε επιλογή εκτός της επιλογής None (Καμία), ενεργοποιείται η Προληπτική υποστήριξη. Πρόκειται για μια δωρεάν υπηρεσία που σας επιτρέπει να βλέπετε τα δεδομένα απόδοσης στον πίνακα εργαλείων πελάτη MyIllumina και επιτρέπει στις ομάδες τεχνικής υποστήριξης της Illumina να αντιμετωπίζουν τα προβλήματα ταχύτερα.

- i** | Από προεπιλογή είναι ενεργοποιημένη η επιλογή Proactive and Run Monitoring (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης). Για να μη χρησιμοποιήσετε την υπηρεσία, επιλέξτε **None** (Καμία).
- Εάν επιλέξατε None (Καμία) στο βήμα 2, επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) για την ολοκλήρωση της διαδικασίας. Ειδάλλως, συνεχίστε μέχρι το βήμα 6.
 - Από τη λίστα Hosting Location (Θέση φιλοξενίας), επιλέξτε τη θέση του διακομιστή του BaseSpace Sequence Hub, όπου θα αποστέλλονται τα δεδομένα.
Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε τη θέση φιλοξενίας της περιοχής σας ή αυτή που βρίσκεται πλησιέστερα στην περιοχή σας.
 - Εάν διαθέτετε συνδρομή επιχείρησης, θα πρέπει να εισαγάγετε το όνομα τομέα (URL) που χρησιμοποιείται για τον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub.
Για παράδειγμα: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
 - Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Καθορισμός της προεπιλεγμένης θέσης του φακέλου εξόδου

Ακολουθήστε τις οδηγίες της παρούσας ενότητας για να ορίσετε μια προεπιλεγμένη θέση φακέλου εξόδου. Μπορείτε να αλλάξετε τον φάκελο εξόδου για κάθε εκτέλεση κατά τη διάρκεια της ρύθμισης της εκτέλεσης. Το λογισμικό αποθηκεύει αρχεία cBCL¹ και άλλα δεδομένα εκτέλεσης στον φάκελο εξόδου.

Ο φάκελος εξόδου είναι απαραίτητος εκτός εάν το BaseSpace Sequence Hub είναι διαμορφωμένο για προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση. Να χρησιμοποιείτε μόνο μια εξωτερική μονάδα δίσκου ή μια μονάδα δίσκου δικτύου ως προεπιλεγμένη θέση του φακέλου εξόδου. Εάν χρησιμοποιήσετε θέση φακέλου εξόδου εντός του οργάνου θα επηρεαστεί αρνητικά η εκτέλεση αλληλούχησης.

Καθορισμός φακέλου εξόδου σε εξωτερική μονάδα δίσκου

Ακολουθήστε τις παρακάτω οδηγίες για να επιλέξετε μια εξωτερική φορητή μονάδα δίσκου ως προεπιλογή για τη θέση του φακέλου εξόδου. Συνιστάται η χρήση μιας αυτοδύναμης μονάδας δίσκου που είναι διαμορφωμένη σε NFTS ή GPT/EXTA.

¹Περιέχει την αντιστοίχιση βάσης και την αντίστοιχη βαθμολογία ποιότητας για κάθε συστάδα κάθε κύκλου αλληλούχησης.

1. Συνδέστε μια εξωτερική φορητή μονάδα δίσκου χρησιμοποιώντας μία από τις θύρες USB 3.0 που βρίσκονται στην πλευρά ή στο πίσω μέρος του οργάνου.
Βεβαιωθείτε ότι επιτρέπεται η εγγραφή στην εξωτερική φορητή μονάδα δίσκου. Εάν έχει οριστεί σε Read Only (Μόνο για ανάγνωση), το λογισμικό ελέγχου δεν θα είναι δυνατό να αποθηκεύσει δεδομένα σε αυτήν.
2. Δημιουργήστε έναν νέο φάκελο στην εξωτερική φορητή μονάδα δίσκου. Ο φάκελος αυτός θα είναι ο προεπιλεγμένος φάκελος εξόδου.
Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 απαιτεί τουλάχιστον δύο επίπεδα ένθετων φακέλων για να αναγνωρίσει τη θέση ως εξωτερική φορητή μονάδα δίσκου.
3. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
4. Από το στοιχείο Default Output Folder (Προεπιλεγμένος φάκελος εξόδου), επιλέξτε την υφιστάμενη διαδρομή του φακέλου και μεταβείτε στον νέο φάκελο που βρίσκεται στην εξωτερική φορητή μονάδα δίσκου.
5. **[Προαιρετικά]** Εάν έχετε επιλέξει **Online Run Setup** (Ηλεκτρονική ρύθμιση εκτέλεσης) στην ενότητα Run Mode (Λειτουργία εκτέλεσης), επιλέξτε μια επιλογή από το αναπτυσσόμενο μενού Hosting Location (Θέση φιλοξενίας).
6. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Καθορισμός προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου στη μονάδα δίσκου δικτύου

Ακολουθήστε τις παρακάτω οδηγίες για να συνδέσετε μια μόνιμη μονάδα δίσκου δικτύου και να καθορίσετε τη θέση του προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου. Το μπλοκ μηνυμάτων διακομιστή (SMB)/τα πρωτόκολλα Common Internet File System (CIFS) και το δικτυακό σύστημα αρχείων (NFS) είναι οι μόνες υποστηριζόμενες μέθοδοι για τη μόνιμη σύνδεση μιας μονάδας δίσκου δικτύου στο σύστημα NextSeq 1000/2000.

Οδηγίες σύνδεσης SMB/CIFS

1. Εάν το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 είναι ανοικτό, επιλέξτε **Minimize Application** (Ελαχιστοποίηση εφαρμογής).
2. Συνδεθείτε στον λογαριασμό ilmadmin.
3. Επιλέξτε **Applications** (Εφαρμογές).
4. Στην ενότητα Favorites (Αγαπημένα), επιλέξτε **Terminal** (Τερματικό).
5. Εισαγάγετε `sudo touch /root/.smbcreds` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).
6. Εισαγάγετε τον κωδικό πρόσβασης στον λογαριασμό ilmadmin όταν σας ζητηθεί.
Ο κωδικός πρόσβασης στον λογαριασμό ilmadmin είναι απαραίτητος κάθε φορά που χρησιμοποιείτε μια εντολή `sudo`.
7. Εισαγάγετε `sudo gedit /root/.smbcreds` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή) για να ανοίξετε το αρχείο κειμένου με το όνομα `smbcreds`.

8. Όταν ανοίξει το αρχείο κειμένου `.smbcreds`, εισαγάγετε τα διαπιστευτήρια σύνδεσης στο δίκτυο με την ακόλουθη μορφή.


```
username=<user name>
password=<password>
domain=<domain_name>
```

Τα άγκιστρα δεν είναι απαραίτητα για το όνομα χρήστη, τον κωδικό πρόσβασης και τα διαπιστευτήρια τομέα. Τα διαπιστευτήρια τομέα είναι απαραίτητα εφόσον ο απομακρυσμένος λογαριασμός είναι μέρος τομέα.
9. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) και πραγματοποιήστε έξοδο από το αρχείο.
10. Προσδιορίστε το όνομα διακομιστή και το κοινόχρηστο όνομα για τον διακομιστή SMB/CIFs. Το όνομα διακομιστή και το κοινόχρηστο όνομα δεν πρέπει να περιέχουν διαστήματα, για παράδειγμα:

Όνομα διακομιστή: 192.168.500.100 ή Myserver-myinstitute-03

Κοινόχρηστο όνομα: /share1
11. Στο τερματικό εισαγάγετε `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή) για να παραχωρήσετε πρόσβαση ανάγνωσης στο αρχείο κειμένου `.smbcreds`.
12. Εισαγάγετε `sudo mkdir /mnt/<local name>`.

Το `<local name>` είναι το όνομα του νέου καταλόγου στη μονάδα δίσκου δικτύου σας και μπορεί να περιέχει διαστήματα. Αυτός είναι ο κατάλογος που θα εμφανίζεται στο όργανο.
13. Επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).
14. Εισαγάγετε `sudo gedit /etc/fstab` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).
15. Όταν ανοίξει το αρχείο `fstab`, εισαγάγετε το παρακάτω στο τέλος του αρχείου και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).


```
//<Server name>/<Share name> /mnt/<local name> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilnadmin,gid=ilnusers,dir_
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
```
16. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) και πραγματοποιήστε έξοδο από το αρχείο.
17. Στο τερματικό εισαγάγετε `sudo mount -a -vvv` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).

Η μονάδα δίσκου δικτύου είναι πλέον συνδεδεμένη ως `/mnt/<local name>`.
18. Για να επιβεβαιώσετε εάν η σύνδεση ήταν επιτυχής, εισαγάγετε `<df | grep <local name>>` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).

Το όνομα της κοινής χρήσης του αρχείου θα πρέπει να εμφανίζεται.
19. Εισαγάγετε `sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>` για να δημιουργήσετε έναν υποφάκελο μέσα στον τοπικό κατάλογο. Το `<output directory>` αντιπροσωπεύει τη θέση του προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου.

Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 απαιτεί τουλάχιστον δύο επίπεδα ένθετων φακέλων για να αναγνωρίσει τη θέση ως συνδεδεμένη μονάδα δίσκου δικτύου.
20. Επανεκκινήστε το όργανο. Ανατρέξτε στην ενότητα [Επανεκκίνηση του οργάνου στη σελίδα 93](#).

21. Ορίστε τη μόνιμα συνδεδεμένη μονάδα δίσκου δικτύου ως τον προεπιλεγμένο φάκελο εξόδου. Ανατρέξτε στην ενότητα [Καθορισμός της μόνιμης μονάδας δίσκου δικτύου ως προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου στη σελίδα 18](#).

Οδηγίες σύνδεσης NFS

1. Εάν το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 είναι ανοικτό, επιλέξτε **Minimize Application** (Ελαχιστοποίηση εφαρμογής).
2. Συνδεθείτε στον λογαριασμό `ilmnadmin`.
3. Προσδιορίστε το όνομα διακομιστή για τον διακομιστή NFS.
Το όνομα διακομιστή δεν πρέπει να περιέχει διαστήματα, για παράδειγμα:
Όνομα διακομιστή: `192.168.500.100` ή `Myserver-myinstitute-03`
4. Επιλέξτε **Applications** (Εφαρμογές).
5. Στην ενότητα Favorites (Αγαπημένα), επιλέξτε **Terminal** (Τερματικό).
6. Εισαγάγετε `sudo mkdir /mnt/<local name>` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).
Το `<local name>` είναι το όνομα του νέου καταλόγου στη μονάδα δίσκου δικτύου σας.
7. Εισαγάγετε `sudo gedit /etc/fstab` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).
8. Όταν ανοίξει το αρχείο `fstab`, εισαγάγετε το παρακάτω και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).
`Server name:/share //mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0`
9. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) και πραγματοποιήστε έξοδο από το αρχείο.
10. Στο τερματικό εισαγάγετε `sudo mount -a -vvv` και κατόπιν επιλέξτε **Enter** (Εισαγωγή).
Η μονάδα δίσκου δικτύου είναι πλέον συνδεδεμένη στο `/mnt/directory` μέσα στον φάκελο `<local name>`.
11. Δημιουργήστε έναν νέο υποφάκελο `<sub folder>` μέσα στον φάκελο `<local name>`. Ο υποφάκελος αντιπροσωπεύει τη θέση του προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου.
Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 απαιτεί τουλάχιστον δύο επίπεδα ένθετων φακέλων για να αναγνωρίσει τη θέση ως συνδεδεμένη μονάδα δίσκου δικτύου.
12. Επανεκκινήστε το όργανο. Ανατρέξτε στην ενότητα [Επανεκκίνηση του οργάνου στη σελίδα 93](#).
13. Ορίστε τη μόνιμα συνδεδεμένη μονάδα δίσκου δικτύου ως τον προεπιλεγμένο φάκελο εξόδου. Ανατρέξτε στην ενότητα [Καθορισμός της μόνιμης μονάδας δίσκου δικτύου ως προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου στη σελίδα 18](#).

Καθορισμός της μόνιμης μονάδας δίσκου δικτύου ως προεπιλεγμένου φακέλου εξόδου

1. Συνδεθείτε στον λογαριασμό `ilmnuser`.
2. Από το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
3. Στην ενότητα Default Output Folder (Προεπιλεγμένος φάκελος εξόδου), επιλέξτε τη σύνδεση της μόνιμης μονάδας δίσκου δικτύου που βρίσκεται στο `/mnt/<local name>/<output directory>`.

4. **[Προαιρετικά]** Εάν έχετε επιλέξει **Online Run Setup** (Ηλεκτρονική ρύθμιση εκτέλεσης) στην ενότητα Run Mode (Λειτουργία εκτέλεσης), επιλέξτε μια επιλογή από το αναπτυσσόμενο μενού Hosting Location (Θέση φιλοξενίας).
5. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Εισαγωγή προσαρμοσμένων γονιδιωμάτων αναφοράς

Μπορείτε να εισαγάγετε νέα προσαρμοσμένα γονιδιώματα αναφοράς χρησιμοποιώντας μόνο τον λογαριασμό διαχειριστή. Για τη λίστα όλων των συμβατών γονιδιωμάτων αναφοράς, επισκεφθείτε τη σελίδα NextSeq 1000/2000 Product Compatibility.

1. Δημιουργήστε ένα γονιδίωμα αναφοράς χρησιμοποιώντας την εφαρμογή Reference Builder για το BaseSpace Sequence Hub στα όργανα της Illumina. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στην *ηλεκτρονική βοήθεια για την εφαρμογή Reference Builder έκδ. 1.0.0 για όργανα Illumina*.
2. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **Process Management** (Διαχείριση διαδικασίας).
3. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν σε εξέλιξη εκτελέσεις αλληλούχισης ή δευτερεύουσες αναλύσεις εντός του οργάνου.
4. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Minimize Application** (Ελαχιστοποίηση εφαρμογής).
5. Συνδεθείτε στον λογαριασμό ilmnadmin.
6. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **DRAGEN**.
7. Στην ενότητα Genome (Γονιδίωμα), επιλέξτε **View Installed Genomes** (Προβολή εγκατεστημένων γονιδιωμάτων) για να δείτε τη λίστα όλων των γονιδιωμάτων Illumina και των προσαρμοσμένων γονιδιωμάτων που έχουν ήδη εγκατασταθεί.
8. Κλείστε τη λίστα.
9. Επιλέξτε **Choose** (Επιλογή) στην ενότητα Import New Reference Genomes (Εισαγωγή νέων γονιδιωμάτων αναφοράς), μεταβείτε στο αρχείο του γονιδιώματος αναφοράς (*.tar.gz) στη φορητή ή στη σταθερή μονάδα δίσκου δικτύου και κατόπιν επιλέξτε **Open** (Άνοιγμα).
10. Επιλέξτε **Import** (Εισαγωγή).

Εισαγωγή αρχείων τιμής αναφοράς θορύβου

Εάν χρησιμοποιείτε τη ροή εργασιών DRAGEN Enrichment σε λειτουργία σωματικής ανάλυσης, μπορείτε να χρησιμοποιήσετε ένα αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου για να φιλτράρετε τον θόρυβο της αλληλούχισης ή τον συστηματικό θόρυβο. Μπορείτε να πραγματοποιήσετε λήψη τυπικών προσαρμοσμένων αρχείων θορύβου από την [τοποθεσία υποστήριξης της Illumina](#) ή να δημιουργήσετε ένα προσαρμοσμένο αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου.

Δημιουργία προσαρμοσμένου αρχείου τιμής αναφοράς θορύβου

Εάν χρησιμοποιείτε τη λειτουργία σωματικής ανάλυσης, μπορείτε να δημιουργήσετε ένα προσαρμοσμένο αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου. Το αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου δημιουργείται χρησιμοποιώντας φυσιολογικά δείγματα που δεν αντιστοιχούν στο άτομο από το οποίο προέρχονται τα δείγματα. Ο συνιστώμενος αριθμός φυσιολογικών δειγμάτων είναι 50.

Για να δημιουργήσετε ένα προσαρμοσμένο αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου, χρησιμοποιήστε έναν από τους παρακάτω τρόπους:

- Χρησιμοποιήστε τον διακομιστή του DRAGEN Bio-IT Platform. Ανατρέξτε στην *ηλεκτρονική βοήθεια του DRAGEN Bio-IT Platform* για οδηγίες.
- Χρησιμοποιήστε την εφαρμογή DRAGEN Baseline Builder στο BaseSpace Sequence Hub. Χρησιμοποιήστε τη διαδικασία BCL Convert στο Instrument Run Setup (Πύθμιση εκτέλεσης οργάνου) του BaseSpace Sequence Hub για να δημιουργήσετε αρχεία FASTQ. Αφού ολοκληρωθεί η εκτέλεση αλληλούχησης και καταστούν διαθέσιμα 50 δείγματα, εισαγάγετε τα αρχεία FASTQ στην εφαρμογή DRAGEN Baseline Builder.

Εισαγωγή αρχείων τιμών αναφοράς χρησιμοποιώντας τη διεπαφή χρήστη

Μετά την εισαγωγή του αρχείου τιμής αναφοράς, μπορείτε να ρυθμίσετε την εκτέλεση αλληλούχησης χρησιμοποιώντας τη ροή εργασιών DRAGEN Enrichment σε λειτουργία σωματικής ανάλυσης.

1. Πραγματοποιήστε λήψη ενός τυπικού αρχείου τιμής αναφοράς από τη [σελίδα υποστήριξης της Illumina](#) ή πραγματοποιήστε λήψη του προσαρμοσμένου αρχείου τιμής αναφοράς από τον διακομιστή του DRAGEN ή την εφαρμογή DRAGEN Baseline Builder.
2. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Minimize Application** (Ελαχιστοποίηση εφαρμογής).
3. Συνδεθείτε στον λογαριασμό illumadmin.
4. Επιλέξτε **Applications** (Εφαρμογές) και κατόπιν επιλέξτε **Favorites** (Αγαπημένα).
5. Επιλέξτε **+Other Locations** (+Άλλες θέσεις) και κατόπιν επιλέξτε **Computer** (Υπολογιστής).
6. Κάντε διπλό κλικ στο **usr** και κατόπιν στο **local**.
7. Κάντε διπλό κλικ στο **illumina** και κατόπιν στο **aux_files**.
8. Σύρετε το αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου στο aux_files.

Εισαγωγή αρχείων τιμών αναφοράς χρησιμοποιώντας το τερματικό

Μετά την εισαγωγή του αρχείου τιμής αναφοράς, μπορείτε να ρυθμίσετε την εκτέλεση αλληλούχησης χρησιμοποιώντας τη ροή εργασιών DRAGEN Enrichment σε λειτουργία σωματικής ανάλυσης.

1. Πραγματοποιήστε λήψη ενός τυπικού αρχείου τιμής αναφοράς από τη [σελίδα υποστήριξης της Illumina](#) ή πραγματοποιήστε λήψη του προσαρμοσμένου αρχείου τιμής αναφοράς από τον διακομιστή του DRAGEN ή την εφαρμογή DRAGEN Baseline Builder.
2. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Minimize Application** (Ελαχιστοποίηση εφαρμογής).

3. Συνδεθείτε στον λογαριασμό illuminaadmin.
4. Επιλέξτε **Applications** (Εφαρμογές).
5. Στην ενότητα Favorites (Αγαπημένα), επιλέξτε **Terminal** (Τερματικό).
6. Εισαγάγετε την ακόλουθη εντολή.

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

Διαμόρφωση λειτουργίας εκτέλεσης

Η λειτουργία εκτέλεσης ισχύει για όλες τις εκτελέσεις και καθορίζει το σημείο εισαγωγής των παραμέτρων εκτέλεσης και τον τρόπο ανάλυσης των δεδομένων.

Λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία)

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Επιλέξτε **Online Run Setup** (Ηλεκτρονική ρύθμιση εκτέλεσης) στην ενότητα Services & Proactive Support (Υπηρεσίες και προληπτική υποστήριξη) του BaseSpace Sequence Hub.
3. Ρυθμίστε επιπλέον παραμέτρους κατάλληλα επιλέγοντας τα εξής:
 - a. **Proactive and Run Monitoring** (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης) ή **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση).
 - b. Το αναπτυσσόμενο μενού για το **Hosting Location** (Θέση φιλοξενίας).
 - c. **[Προαιρετικά]** Συμπληρώστε το πεδίο **Private Domain Name** (Όνομα ιδιωτικού τομέα).
4. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) ή Standalone (Αυτόνομη λειτουργία)

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Επιλέξτε **Local Run Setup** (Τοπική ρύθμιση εκτέλεσης) στην ενότητα Services & Proactive Support (Υπηρεσίες και προληπτική υποστήριξη) του BaseSpace Sequence Hub.

3. Ρυθμίστε επιπλέον παραμέτρους κατάλληλα επιλέγοντας τα εξής:
 - a. **Proactive Support Only** (Μόνο προληπτική υποστήριξη), **Proactive and Run Monitoring** (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης), **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση) ή **None** (Καμία).



Το BaseSpace Sequence Hub θα επιτρέψει τη λειτουργικότητα επανατοποθέτησης στην ουρά μόνο εάν επιλεγθεί το **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση). Σε περίπτωση μη έγκυρου φύλλου δείγματος, αυτό θα σας επιτρέψει να κάνετε διορθώσεις στο φύλλο δείγματος και να επανατοποθετήσετε στην ουρά την ανάλυση αποπολύπλεξης. Για τη λειτουργικότητα επανατοποθέτησης στην ουρά εντός του οργάνου ανατρέξτε στην ενότητα [Επανατοποθέτηση εκτέλεσης στην ουρά στη σελίδα 92](#).

- b. Το αναπτυσσόμενο μενού για το **Hosting Location** (Θέση φιλοξενίας).
 - c. **[Προαιρετικά]** Συμπληρώστε το πεδίο **Private Domain Name** (Όνομα ιδιωτικού τομέα).
4. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Ζητήματα που αφορούν τα φύλλα δείγματος για λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) ή Standalone (Αυτόνομη λειτουργία)

Πρέπει να χρησιμοποιήσετε μορφή αρχείου v2 για το φύλλο δείγματος για την ανάλυση με το DRAGEN. Η μορφή αρχείου v2 για το φύλλο δείγματος είναι επίσης συμβατή με τις εφαρμογές του BaseSpace Sequence Hub που δεν ενεργοποιούνται από το DRAGEN. Για πληροφορίες σχετικά με τη δημιουργία ενός φύλλου δείγματος στη μορφή αρχείου v2 ανατρέξτε στην ενότητα [Ρυθμίσεις φύλλου δείγματος v2 στη σελίδα 97](#).

Προσαρμογή οργάνου

Η παρούσα ενότητα περιλαμβάνει πληροφορίες σχετικά με τη διαμόρφωση των διαθέσιμων ρυθμίσεων προσαρμογής. Για να ορίσετε έναν προεπιλεγμένο φάκελο εξόδου, ανατρέξτε στην ενότητα [Καθορισμός της προεπιλεγμένης θέσης του φακέλου εξόδου στη σελίδα 15](#).

Καθορισμός ονόματος οργάνου

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Επιλέξτε Instrument Nickname (Ψευδώνυμο οργάνου) και εισαγάγετε το επιθυμητό όνομα για το όργανο.
Το όνομα εμφανίζεται στο πάνω μέρος κάθε οθόνης.
3. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Ορισμός προτιμήσεων αποδιάταξης και αραιώσης

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Επιλέξτε εάν θα πραγματοποιείται αυτόματα αποδιάταξη και αραιώση βιβλιοθηκών στο όργανο. Από προεπιλογή η ρύθμιση χρησιμοποιεί την επιλογή που επιλέχθηκε στην προηγούμενη εκτέλεση.
 - Για την αυτόματη αποδιάταξη και αραιώση των βιβλιοθηκών στο όργανο, επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Denature and Dilute On Board** (Αποδιάταξη και αραιώση στο όργανο).
 - Για τη μη αυτόματη αποδιάταξη και αραιώση των βιβλιοθηκών, καταργήστε την επιλογή από το πλαίσιο ελέγχου **Denature and Dilute On Board** (Αποδιάταξη και αραιώση στο όργανο).
Για οδηγίες σχετικά με τη μη αυτόματη αποδιάταξη και αραιώση βιβλιοθηκών, ανατρέξτε στον *Οδηγό αποδιάταξης και αραιώσης βιβλιοθηκών σε συστήματα αλληλούχησης NextSeq 1000 και 2000* (αρ. εγγράφου 1000000139235).

Ορισμός προτίμησης αυτόματης εκκαθάρισης αντιδραστηρίων

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Επιλέξτε εάν το σύστημα θα εκκαθαρίζει αυτόματα τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια στο διαμέρισμα χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων μετά από κάθε εκτέλεση, προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η απόρριψη των αποβλήτων αντιδραστηρίων μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης:
 - Για αυτόματη εκκαθάριση, επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Purge Reagent Cartridge** (Εκκαθάριση κασέτας αντιδραστηρίων).
 - Για να παραλειφθεί η αυτόματη εκκαθάριση, καταργήστε την επιλογή από το πλαίσιο ελέγχου **Purge Reagent Cartridge** (Εκκαθάριση κασέτας αντιδραστηρίων) (αυτή είναι η προεπιλεγμένη ρύθμιση).Η εκκαθάριση των μη χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων παρατείνει μέχρι 2 ώρες τη ροή εργασιών.
3. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Διαμόρφωση ενημερώσεων λογισμικού

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Επιλέξτε εάν το σύστημα θα πραγματοποιεί αυτόματα έλεγχο για ενημερώσεις λογισμικού:
 - Για την πραγματοποίηση αυτόματου ελέγχου, επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Autocheck for software updates** (Αυτόματος έλεγχος για ενημερώσεις λογισμικού).
 - Για την πραγματοποίηση μη αυτόματου ελέγχου, καταργήστε την επιλογή από το πλαίσιο ελέγχου **Autocheck for software updates** (Αυτόματος έλεγχος για ενημερώσεις λογισμικού).

Για τον αυτόματο έλεγχο ενημερώσεων λογισμικού, απαιτείται σύνδεση στο διαδίκτυο. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την εγκατάσταση ενημερώσεων λογισμικού, ανατρέξτε στην ενότητα [Ενημερώσεις λογισμικού στη σελίδα 84](#).
3. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Αλλαγή φωτεινότητας οθόνης LCD

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Μετακινήστε το ρυθμιστικό φωτεινότητας της οθόνης LCD στο ποσοστό που επιθυμείτε.
3. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Ορισμός διακομιστή μεσολάβησης

Η υποστήριξη διακομιστή μεσολάβησης είναι διαθέσιμη μόνο στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3.

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Settings** (Ρυθμίσεις).
2. Επιλέξτε τις τρέχουσες ρυθμίσεις διακομιστή μεσολάβησης για να ανοίξετε την οθόνη Proxy Settings (Ρυθμίσεις διακομιστή μεσολάβησης).
3. Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Enable Proxy** (Ενεργοποίηση διακομιστή μεσολάβησης) και κατόπιν εισαγάγετε τη διεύθυνση της θύρας IP του διακομιστή.
4. **[Προαιρετικά]** Εάν ο διακομιστής μεσολάβησης απαιτεί έλεγχο ταυτότητας, επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Requires Username and Password** (Απαιτείται όνομα χρήστη και κωδικός πρόσβασης) και κατόπιν εισαγάγετε το όνομα χρήστη και τον κωδικό πρόσβασης.
5. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) για να αποθηκευτούν και να επικυρωθούν οι πληροφορίες του διακομιστή μεσολάβησης.
6. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω επιλογές:
 - Επιλέξτε **Yes, I'm Finished** (Ναι, έχω τελειώσει) για να επανεκκινηθεί το σύστημα και να εφαρμοστούν οι νέες ρυθμίσεις διακομιστή μεσολάβησης.
 - Επιλέξτε **No, Take Me Back** (Όχι, επιστροφή) για να επιστρέψετε στην οθόνη Settings (Ρυθμίσεις). Οι νέες ρυθμίσεις διακομιστή μεσολάβησης θα αποθηκευτούν, αλλά θα εφαρμοστούν μετά την επανεκκίνηση του συστήματος.

Αναλώσιμα και εξοπλισμός

Στην παρούσα ενότητα αναφέρονται όλα όσα συνοδεύουν το κιτ αντιδραστηρίων με συνθήκες αποθήκευσης. Μπορείτε επίσης να δείτε ποια βοηθητικά αναλώσιμα και εξοπλισμό πρέπει να αγοράσετε για να ολοκληρώσετε το πρωτόκολλο και να εκτελέσετε τις διαδικασίες συντήρησης και αντιμετώπισης προβλημάτων.


Αναλώσιμα αλληλούχισης

Για την αλληλούχιση στο σύστημα NextSeq 1000/2000 απαιτείται ένα κιτ αντιδραστηρίων Illumina NextSeq 1000/2000 P2 μίας χρήσης ή ένα κιτ αντιδραστηρίων Illumina NextSeq 1000/2000 P3 μίας χρήσης. Το κιτ αντιδραστηρίων NextSeq 1000/2000 P2 είναι διαθέσιμο σε τρία μεγέθη (100 κύκλων, 200 κύκλων, 300 κύκλων) και το κιτ αντιδραστηρίων NextSeq 1000/2000 P3 είναι διαθέσιμο σε τέσσερα μεγέθη (50 κύκλων, 100 κύκλων, 200 κύκλων, 300 κύκλων).

Το σύστημα αλληλούχισης NextSeq 1000 είναι συμβατό μόνο με το κιτ αντιδραστηρίων Illumina NextSeq 1000/2000 P2.

Το κιτ αντιδραστηρίων παρέχει την κασέτα και την κυψελίδα ροής για την αλληλούχιση. Όταν παραλάβετε το κιτ αντιδραστηρίων NextSeq 1000/2000 P2 ή το κιτ αντιδραστηρίων Illumina NextSeq 1000/2000 P3:

- Αποθηκεύστε αμέσως τα εξαρτήματα στις υποδεικνυόμενες θερμοκρασίες για να διασφαλιστεί η σωστή απόδοση.
- Μην ανοίξετε κανέναν ασημένιο, αλουμινένιο σάκο προτού σας δοθεί οδηγία να το κάνετε.
- Οι κασέτες πρέπει να αποθηκεύονται στο κουτί τους για να μην σκιστεί ή τρυπήσει ο αλουμινένιος σάκος.
- Οι κασέτες πρέπει να αποθηκεύονται με τα βέλη στραμμένα προς τα επάνω.

 Εάν η ετικέτα της κασέτας δεν είναι στραμμένη προς τα επάνω, τα δεδομένα αλληλούχισης θα επηρεαστούν αρνητικά.

Πίνακας 2 Εξαρτήματα του κιτ

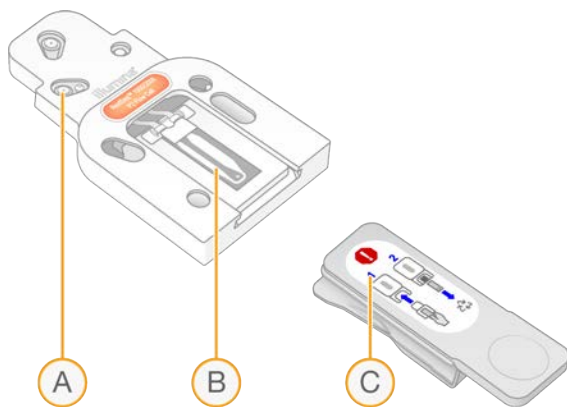
Αναλώσιμο	Ποσότητα	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Διαστάσεις
Κασέτα	1	-25°C έως -15°C	29,2 cm × 17,8 cm × 12,7 cm (11,5 in × 7 in × 5 in)
Κυψελίδα ροής	1	2°C έως 8°C*	21,6 cm × 12,7 cm × 1,9 cm (8,5 in × 5 in × 0,75 in)
RSB με Tween 20	1	-25°C έως -15°C	4 cm × 6,6 cm × 5 cm (1,6 in × 2,6 in × 2 in)

*Αποστέλλεται σε θερμοκρασία δωματίου.

Και τα δύο αναλώσιμα φέρουν αναγνωριστικά για την παρακολούθηση και τη διασφάλιση της συμβατότητας. Η κασέτα και η κυψελίδα ροής χρησιμοποιούν RFID¹.

Κυψελίδα ροής

Η κυψελίδα ροής είναι μια κυψελίδα ροής μονής λωρίδας με μοτίβο. Μια πλαστική κασέτα περιβάλλει την κυψελίδα ροής που βασίζεται στο γυαλί. Για εξασφαλιστεί ο ασφαλής χειρισμός, η κυψελίδα ροής καλύπτεται από μια γκρι γλωττίδα που προεξέχει.



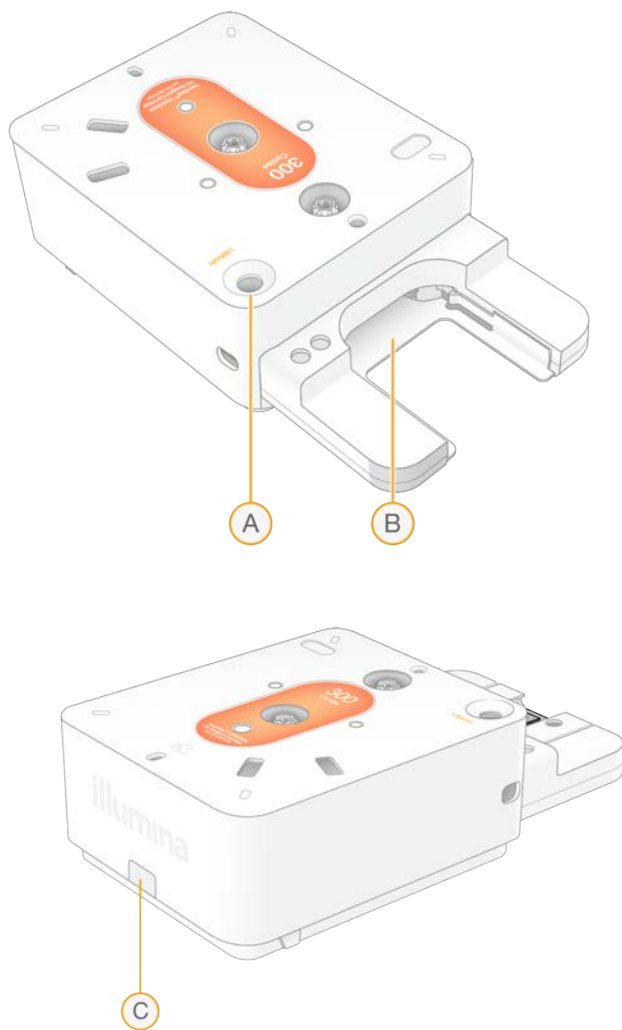
- A. Πλαστική κασέτα
- B. Κυψελίδα ροής
- C. Γκρι γλωττίδα

Εκατομμύρια νανοβοθρία καλύπτουν την εσωτερική επιφάνεια της κυψελίδας ροής. Οι συστάδες δημιουργούνται στα νανοβοθρία, από τα οποία πραγματοποιείται κατόπιν η αντίδραση αλληλούχισης. Η διάταξη με μοτίβο των νανοβοθρίων αυξάνει τις αναγνώσεις και τα δεδομένα εξόδου.

¹ταυτοποίηση ραδιοσυχνότητας

Κασέτα

Η κασέτα αντιδραστηρίων αλληλούχισης είναι προπληρωμένη με αντιδραστήρια δημιουργίας συστάδων, αλληλούχισης, αλληλούχισης συζευγμένων άκρων και ευρετηρίασης. Ένα δοχείο στεγανοποιημένο με αλουμίνιο προορίζεται αποκλειστικά για βιβλιοθήκες και μια υποδοχή στο μπροστινό μέρος προορίζεται αποκλειστικά για την κυψελίδα ροής.



- A. Δοχείο βιβλιοθηκών
- B. Υποδοχή κυψελίδα ροής
- C. Πώμα αποστράγγισης

Η κασέτα περιέχει όλα τα αναλώσιμα που χρειάζονται για μια εκτέλεση: αντιδραστήρια, βιβλιοθήκη και κυψελίδα ροής. Η βιβλιοθήκη και η κυψελίδα ροής φορτώνονται στην αποψυγμένη κασέτα, η οποία, στη συνέχεια, φορτώνεται στο όργανο. Μετά την έναρξη της εκτέλεσης, τα αντιδραστήρια και η βιβλιοθήκη μεταφέρονται αυτόματα από την κασέτα στην κυψελίδα ροής.

Η κασέτα περιέχει αντλίες, βαλβίδες και όλα τα υδραυλικά για το σύστημα, συμπεριλαμβανομένου ενός δοχείου στο κάτω μέρος για τη συλλογή των χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων. Η κασέτα απορρίπτεται μετά από κάθε εκτέλεση, συνεπώς δεν απαιτείται πλύση του οργάνου.





Υποστηριζόμενος αριθμός κύκλων




Η επισήμανση στην κασέτα υποδεικνύει πόσοι κύκλοι αναλύονται και όχι πόσοι κύκλοι πραγματοποιούνται. Η κυψελίδα ροής είναι συμβατή με οποιονδήποτε αριθμό κύκλων και οποιονδήποτε τύπο ανάγνωσης.

Όλες οι κασέτες των 100 και των 200 κύκλων περιλαμβάνουν επιπλέον 38 κύκλους. Η κασέτα των 300 κύκλων περιλαμβάνει επιπλέον 27 κύκλους. Για παράδειγμα, η κασέτα των 300 κύκλων παρέχει επαρκή ποσότητα αντιδραστηρίων για έως 327 κύκλους αλληλούχισης. Για πληροφορίες σχετικά με τον αριθμό των κύκλων αλληλούχισης, ανατρέξτε στην ενότητα [Αριθμός κύκλων σε μια ανάγνωση στη σελίδα 33](#).

Περιγραφές συμβόλων

Ο ακόλουθος πίνακας περιγράφει τα σύμβολα που βρίσκονται πάνω στα αναλώσιμα ή στη συσκευασία των αναλωσίμων.

Σύμβολο	Περιγραφή
	Η ημερομηνία λήξης του αναλώσιμου. Για καλύτερα αποτελέσματα, χρησιμοποιήστε το αναλώσιμο πριν από αυτήν την ημερομηνία.
	Υποδεικνύει τον κατασκευαστή (Illumina).
	Η προβλεπόμενη χρήση αφορά μόνο σκοπούς έρευνας (RUO).
	Υποδεικνύει τον αριθμό καταλόγου ώστε να είναι δυνατός ο προσδιορισμός του αναλώσιμου. ¹

Σύμβολο	Περιγραφή
	Υποδεικνύει τον κωδικό παρτίδας για την αναγνώριση της παρτίδας κατασκευής του αναλώσιμου. ¹
	Υποδεικνύει κίνδυνο για την υγεία.
	Εύρος θερμοκρασίας αποθήκευσης σε βαθμούς Κελσίου. Να αποθηκεύετε το αναλώσιμο εντός του υποδεικνυόμενου εύρους. ²

Βοηθητικά αναλώσιμα

Αγοράστε τα ακόλουθα αναλώσιμα για την αλληλούχηση και τη συντήρηση.

Αναλώσιμα για αλληλούχηση

Πίνακας 3 Αναλώσιμα για αλληλούχηση

Αναλώσιμο	Προμηθευτής	Σκοπός
Γάντια μίας χρήσης, χωρίς πούδρα	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Γενική χρήση.
Κιτ αντιδραστηρίων NextSeq 1000/2000 P2 (έκδ. 3)	Illumina: αρ. καταλόγου 20046811 (100 κύκλοι) αρ. καταλόγου 20046812 (200 κύκλοι) αρ. καταλόγου 20046813 (300 κύκλοι)	Παρέχει την κασέτα αντιδραστηρίου, την κυψελίδα ροής και το NextSeq 1000/2000 RSB με Tween 20 για μία εκτέλεση. Συμβατό με τα συστήματα αλληλούχησης NextSeq 1000 και NextSeq 2000.

Αναλώσιμο	Προμηθευτής	Σκοπός
Κιτ αντιδραστηρίων NextSeq 2000 P3	Illumina: αρ. καταλόγου 20046810 (50 κύκλοι) αρ. καταλόγου 20040559 (100 κύκλοι) αρ. καταλόγου 20040560 (200 κύκλοι) αρ. καταλόγου 20040561 (300 κύκλοι)	Παρέχει την κασέτα αντιδραστηρίου, την κυψελίδα ροής και το NextSeq 1000/2000 RSB με Tween 20 για μία εκτέλεση. Συμβατό μόνο με το NextSeq 2000.
Μικροσωλήνες, 1,5 ml	Fisher Scientific, αρ. καταλόγου 14-222-158, ή αντίστοιχοι σωλήνες χαμηλής ένωσης	Αραίωση βιβλιοθηκών στη συγκέντρωση φόρτωσης.
Άκρα πιπέτας, 10 μl	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αραίωση βιβλιοθηκών.
Άκρα πιπέτας, 20 μl	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αραίωση και φόρτωση βιβλιοθηκών.
Άκρα πιπέτας, 200 μl	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αραίωση βιβλιοθηκών.
Άκρα πιπέτας, 1000 μl	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Τρύπημα της αλουμινένιας συσκευασίας του δοχείου βιβλιοθηκών.
[Προαιρετικά] PhiX Control έκδ. 3	Illumina, αρ. καταλόγου FC-110-3001	Πραγματοποίηση εκτέλεσης μόνο με PhiX ή ενίσχυση σε PhiX control.
[Προαιρετικά] Χαρτοπετσέτες	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Στέγνωμα της φύσιγγας μετά από λουτρό ύδατος.

Αναλώσιμα για συντήρηση

Πίνακας 4 Αναλώσιμα για συντήρηση

Αναλώσιμο	Προμηθευτής	Σκοπός
Γάντια μίας χρήσης, χωρίς πούδρα	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Γενική χρήση.
Ανταλλακτικό φίλτρου αέρα NextSeq 1000/2000*	Illumina, αρ. καταλόγου 20029759	Αντικατάσταση του φίλτρου αέρα κάθε έξι μήνες.

* Το όργανο αποστέλλεται με ένα εγκατεστημένο και ένα ανταλλακτικό. Εφόσον παρέλθει η εγγύηση, η προμήθεια των ανταλλακτικών γίνεται από τον χρήστη. Πρέπει να παραμένει στη συσκευασία μέχρι τη χρήση.

Βοηθητικός εξοπλισμός

Αγοράστε τον ακόλουθο εξοπλισμό για σκοπούς αλληλούχισης.

Αντικείμενο	Προέλευση	Σκοπός
Καταψύκτης, -25°C έως -15°C	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αποθήκευση φύσιγγας.
Κάδος πάγου	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Διατήρηση των βιβλιοθηκών μέχρι την αλληλούχιση.
Πιπέτα, 10 μl	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αραίωση βιβλιοθηκών στη συγκέντρωση φόρτωσης.
Πιπέτα, 20 μl	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αραίωση των βιβλιοθηκών έως τη συγκέντρωση φόρτωσης και φόρτωση των βιβλιοθηκών στην κασέτα.
Πιπέτα, 200 μl	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αραίωση βιβλιοθηκών στη συγκέντρωση φόρτωσης.
Ψυγείο, 2°C έως 8°C	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Αποθήκευση κυψελίδας ροής ή απόψυξη κασέτας.
[Προαιρετικά] Ένα από τα παρακάτω λουτρά ύδατος που ελέγχονται με τη θερμοκρασία ή αντίστοιχο που μπορεί να διατηρείται σε θερμοκρασία 25°C:	<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Fisher Scientific, αρ. καταλόγου TSCIR 35 • Shel Lab, αρ. καταλόγου SWBC22 	Απόψυξη της κασέτας.
<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Scientific Precision 35L Circulating Water Bath (χωράει πέντε κασέτες ταυτόχρονα) • SHELL LAB 22L Digital Circulating Water Bath (χωράει τρεις κασέτες ταυτόχρονα) 		

Πρωτόκολλο

Σε αυτήν την ενότητα παρέχονται αναλυτικές οδηγίες σχετικά με τον τρόπο προετοιμασίας των αναλωσίμων, αραιώσης των βιβλιοθηκών και ρύθμισης μιας εκτέλεσης αλληλούχισης σε μία από τις τέσσερις λειτουργίες εκτέλεσης [οι λειτουργίες Cloud (Λειτουργία νέφους), Hybrid (Υβριδική λειτουργία) και Local (Τοπική λειτουργία) χρησιμοποιούν το DRAGEN ή το BaseSpace Sequence Hub, ενώ η λειτουργία Standalone (Αυτόνομη λειτουργία) είναι μια αυτόνομη εκτέλεση που προορίζεται για τη δημιουργία δεδομένων cBCL μόνο για ροές εργασιών προσαρμοσμένης ανάλυσης].

Όταν χειρίζεστε αντιδραστήρια και άλλες χημικές ουσίες, να φοράτε γυαλιά ασφαλείας, εργαστηριακή ποδιά και γάντια χωρίς πούδρα.

Βεβαιωθείτε ότι έχετε τα αναλώσιμα και τον εξοπλισμό που απαιτείται προτού ξεκινήσετε να εφαρμόζετε κάποιο πρωτόκολλο. Ανατρέξτε στην ενότητα [Αναλώσιμα και εξοπλισμός στη σελίδα 25](#).

Ακολουθήστε τα πρωτόκολλα στη σειρά που εμφανίζονται, χρησιμοποιώντας τους όγκους, τις θερμοκρασίες και τις χρονικές διάρκειες που καθορίζονται.

Ζητήματα αλληλούχισης

Πριν από την έναρξη του πρωτοκόλλου, μελετήστε τις ακόλουθες πληροφορίες για την προετοιμασία με σκοπό την αραιώση βιβλιοθηκών και τη ρύθμιση της εκτέλεσης. Η επίτευξη της βέλτιστης συγκέντρωσης φόρτωσης είναι πολύ σημαντική για την επιτυχή αλληλούχιση και ανάλυση. Η εισαγωγή του σωστού αριθμού κύκλων σε μια ανάγνωση συμβάλλει στη διασφάλιση της βέλτιστης εξόδου δεδομένων.

Όγκος και συγκεντρώσεις φόρτωσης

Ο όγκος φόρτωσης είναι 20 μl. Η συγκέντρωση φόρτωσης ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο της βιβλιοθήκης:

Τύπος βιβλιοθήκης	Συγκέντρωση φόρτωσης (pM)
AmpliSeq™ για Illumina Library PLUS	750
Illumina DNA Prep	750
Illumina DNA Prep με εμπλουτισμό	1000
Illumina Stranded Total RNA με Ribo-Zero Plus	750
Illumina Stranded mRNA Prep	750
Illumina DNA PCR-Free	1000

Τύπος βιβλιοθήκης	Συγκέντρωση φόρτωσης (pM)
100 % PhiX	650
TruSeq DNA Nano 350	1200
TruSeq DNA Nano 550	1500
TruSeq Stranded mRNA	1000

Για άλλους τύπους βιβλιοθηκών, η συνιστώμενη συγκέντρωση φόρτωσης έναρξης είναι 650 pM. Βελτιστοποιήστε αυτήν τη συγκέντρωση στις επόμενες εκτελέσεις για να προσδιορίσετε μια συγκέντρωση φόρτωσης που αποδίδει με συνέπεια δεδομένα, τα οποία πληρούν τις προδιαγραφές.

i | Για να βελτιστοποιήσετε τη συγκέντρωση φόρτωσης, χρησιμοποιήστε τη μέτρηση % Loading Concentration (% συγκέντρωσης φόρτωσης) στο αρχείο εξόδου `PrimaryAnalysisMetrics.csv` που είναι διαθέσιμο μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Εάν το ποσοστό συγκέντρωσης φόρτωσης είναι < 95%, αυξήστε τη συγκέντρωση φόρτωσης σε βήματα των 100 pM στις επόμενες εκτελέσεις.

Αριθμός κύκλων σε μια ανάγνωση

Για κάθε ανάγνωση, η εισαγωγή 26 κύκλων κατ' ελάχιστο και 151 κύκλων κατά μέγιστο συμβάλλει στη διασφάλιση της ποιότητας των δεδομένων. Ο ακριβής αριθμός των κύκλων εξαρτάται από τη δοκιμή σας. Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 απαιτεί τουλάχιστον 1 κύκλο για την Ανάγνωση 1, αλλά εμφανίζει μια προειδοποίηση όταν ο αριθμός των κύκλων στην Ανάγνωση 1 είναι μικρότερος από 26.

Ο συνολικός αριθμός κύκλων για την Ανάγνωση 1, το Ευρετήριο 1, το Ευρετήριο 2 και την Ανάγνωση 2 δεν μπορεί να υπερβαίνει τον αριθμό των κύκλων που υποστηρίζεται από το κιτ συν 38 κύκλους για τα κιτ των 100 κύκλων και των 200 κύκλων και 27 κύκλους για τα P3 κιτ των 300 κύκλων. Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 θα εμφανίσει μια προειδοποίηση όταν το Ευρετήριο 1 και το Ευρετήριο 2 είναι μικρότερα από 6 κύκλους. Η προειδοποίηση δεν θα εμφανιστεί εάν οι κύκλοι στο Ευρετήριο 1 ή στο Ευρετήριο 2 είναι 0.

Στον ελάχιστο και στον μέγιστο αριθμό κύκλων περιλαμβάνεται και ένας επιπλέον κύκλος. Να προσθέτετε πάντοτε έναν κύκλο στο επιθυμητό μήκος ανάγνωσης για τη διόρθωση των αποτελεσμάτων του phasing (καθυστέρηση βάσης) και του rerephasing (προχώρηση βάσης). Το μήκος ανάγνωσης είναι ο αριθμός των κύκλων *αλληλούχισης* σε Ανάγνωση 1 και Ανάγνωση 2, από τον οποίο αποκλείονται επιπλέον κύκλοι και κύκλοι ευρετηρίου. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στην υποενότητα Διόρθωση φάσης της ενότητας [Ποή εργασιών Real-Time Analysis στη σελίδα 64](#).

Παράδειγμα ρύθμισης εκτέλεσης:

- Για μήκος ανάγνωσης 35 (αλληλούχιση ενός άκρου), εισαγάγετε **36** στο πεδίο Read 1 (Ανάγνωση 1).

- Για μήκος ανάγνωσης 150 ανά ανάγνωση (αλληλούχιση συζευγμένων άκρων), εισαγάγετε **151** στο πεδίο Read 1 (Ανάγνωση 1) και **151** στο πεδίο Read 2 (Ανάγνωση 2).

Προγραμματισμός εκτέλεσης αλληλούχισης στο BaseSpace Sequence Hub

Χρησιμοποιήστε το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub για να δημιουργήσετε και να διαμορφώσετε ρυθμίσεις εκτέλεσης. Εάν ρυθμίζετε μια εκτέλεση σε λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία), πρέπει να υποβάλετε τη διαμόρφωση της εκτέλεσης στη λίστα των προγραμματισμένων εκτελέσεων στον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub που διαθέτετε, στην καρτέλα Planned Runs (Προγραμματισμένες εκτελέσεις). Οι εκτελέσεις που είναι διαθέσιμες για αλληλούχιση στα συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000 εμφανίζονται στην καρτέλα Planned Runs (Προγραμματισμένες εκτελέσεις). Εάν ρυθμίζετε μια εκτέλεση σε λειτουργία Local (Τοπική), χρησιμοποιήστε το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) για να δημιουργήσετε και να εξάγετε το φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2. Εναλλακτικά, ανατρέξτε στην ενότητα [Ρυθμίσεις φύλλου δείγματος v2 στη σελίδα 97](#) (Ρυθμίσεις φύλλων δείγματος v2) για να δημιουργήσετε ένα φύλλο δείγματος χωρίς το BaseSpace Sequence Hub χρησιμοποιώντας ένα παρεχόμενο πρότυπο.

Το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) του BaseSpace Sequence Hub δεν υποστηρίζει περισσότερα από 1536 δείγματα.

Ρύθμιση εκτέλεσης

1. Μεταβείτε στο BaseSpace Sequence Hub.
2. Εισαγάγετε τη διεύθυνση email και τον κωδικό πρόσβασης του BaseSpace Sequence Hub και κατόπιν επιλέξτε **Sign In** (Είσοδος).
3. Επιλέξτε την καρτέλα **Runs** (Εκτελέσεις) και κατόπιν επιλέξτε το αναπτυσσόμενο στοιχείο **New Run** (Νέα εκτέλεση).
4. Επιλέξτε **NextSeq 1000/2000**.
5. Στο πεδίο Run Name (Όνομα εκτέλεσης) εισαγάγετε ένα μοναδικό όνομα που προτιμάτε για τον προσδιορισμό της τρέχουσας εκτέλεσης.
Το όνομα της εκτέλεσης μπορεί να περιέχει κατά μέγιστο 225 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες, διαστήματα, παύλες και κάτω παύλες.
6. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω θέσεις ανάλυσης.
 - **BaseSpace**—Ανάλυση των δεδομένων αλληλούχισης στο νέφος.
 - **Local** (Τοπικά)—Ανάλυση των δεδομένων αλληλούχισης εντός του οργάνου ή δημιουργία φύλλου δείγματος v2 για λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία).
7. Επιλέξτε τύπο και έκδοση ανάλυσης.

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις δευτερεύουσες αναλύσεις, ανατρέξτε στην ενότητα [Αρχεία εξόδου δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN στη σελίδα 69](#) ή στην τεκμηρίωση της εφαρμογής BaseSpace Sequence Hub. Εάν επιλέξατε την ανάλυση DRAGEN Single Cell RNA, ανατρέξτε στη σελίδα αρχείων των προϊόντων NextSeq 1000/2000 για πληροφορίες σχετικά με τη συμβατότητα των κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης RNA μεμονωμένων κυττάρων άλλων κατασκευαστών.



Για ανάλυση εντός του οργάνου, η έκδοση που επιλέχθηκε πρέπει να ταιριάζει με την έκδοση του DRAGEN που είναι εγκατεστημένη στο όργανο. Για να επιβεβαιώσετε την έκδοση του DRAGEN που είναι εγκατεστημένη στο όργανο, ανατρέξτε στην ενότητα [Ενημερώσεις άδειας χρήσης και ροής εργασιών του DRAGEN στη σελίδα 85](#).

8. **[Προαιρετικά]** Ρυθμίστε προσαρμοσμένα κιτ ευρετηρίου ως εξής.
Εάν χρησιμοποιείτε περισσότερες από μία βιβλιοθήκες, οι βιβλιοθήκες πρέπει να έχουν το ίδιο μήκος ανάγνωσης ευρετηρίου.
 - a. Επιλέξτε **Add Custom Index Adapter Kit** (Προσθήκη προσαρμοσμένου κιτ προσαρμοσμένων ευρετηρίου) στο αναπτυσσόμενο στοιχείο Index Adapter Kit (Κιτ προσαρμοσμένων ευρετηρίου).
 - b. Επιλέξτε έναν τύπο προτύπου και εισαγάγετε το όνομα του κιτ, τις αλληλουχίες προσαρμοσμένων, τις στρατηγικές ευρετηρίου και τις αλληλουχίες ευρετηρίου.
Βεβαιωθείτε ότι οι αλληλουχίες προσαρμοσμένων του δεύτερου ευρετηρίου (i5) έχουν προσανατολισμό προς τα εμπρός.
 - c. Επιλέξτε **Create New Kit** (Δημιουργία νέου κιτ).
9. **[Προαιρετικά]** Ρυθμίστε ένα προσαρμοσμένο κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης ως εξής.
 - a. Επιλέξτε **Add Custom Library Prep Kit** (Προσθήκη προσαρμοσμένου κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης) στο αναπτυσσόμενο στοιχείο Library Prep Kit (Κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης).
 - b. Εισαγάγετε το όνομα, τους τύπους ανάγνωσης, τους προεπιλεγμένους κύκλους ανάγνωσης και τα συμβατά κιτ προσαρμοσμένων ευρετηρίου για το προσαρμοσμένο κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που διαθέτετε.
 - c. Επιλέξτε **Create New Kit** (Δημιουργία νέου κιτ).
10. Επιλέξτε τις παρακάτω ρυθμίσεις οργάνου. Ανάλογα με το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης, επιλέγονται αυτόματα οι συνιστώμενες επιλογές. Μερικά κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης έχουν σταθερό αριθμό αναγνώσεων ευρετηρίων και τύπων ανάγνωσης, ο οποίος δεν είναι δυνατό να μεταβληθεί.
 - Κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης
 - Κιτ προσαρμοσμένων ευρετηρίου
 - Αριθμός αναγνώσεων ευρετηρίου
 - Τύπος ανάγνωσης
 - Αριθμός κύκλων αλληλούχησης ανά ανάγνωση

i | Εάν επιλεγθεί το Not Specified (Δεν καθορίζεται) για το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης, ο αριθμός των αναγνώσεων ευρετηρίου δεν ενημερώνεται μέχρι να εισαχθούν οι αλληλουχίες ευρετηρίου στην ενότητα Sample Data (Δεδομένα δείγματος).

11. Εισαγάγετε τις πληροφορίες του δείγματος στο υπολογιστικό φύλλο Sample Data (Δεδομένα δείγματος) χρησιμοποιώντας μία από τις ακόλουθες επιλογές. Για να ομαδοποιήσετε τα δείγματα με σκοπό τη συγκέντρωση των δεδομένων κατά τη διάρκεια μεταγενέστερης ανάλυσης, εκχωρήστε ένα όνομα για την ομάδα στη στήλη Project (Έργο).
- Επιλέξτε **Import Data** (Εισαγωγή δεδομένων) και κατόπιν επιλέξτε το φύλλο δείγματος. Βεβαιωθείτε ότι το φύλλο δείγματος πληροί τις απαιτήσεις μορφοποίησης. Ανατρέξτε στην ενότητα [Ρυθμίσεις φύλλου δείγματος v2 στη σελίδα 97](#). Εάν τροποποιήσετε το φύλλο δείγματος μετά την αρχική λήψη, η ανάλυση μπορεί να αποτύχει.
 - Επικολλήστε τα αναγνωριστικά των δειγμάτων και είτε τις θέσεις των βοθρίων της πλάκας ευρετηρίου είτε τα ευρετήρια i7 και i5 απευθείας από ένα εξωτερικό αρχείο. Πριν από την επικόλληση, εισαγάγετε τον αριθμό των γραμμών του δείγματος στο πεδίο Rows (Γραμμές) και κατόπιν επιλέξτε το σύμβολο +. Το αναγνωριστικά των δειγμάτων μπορούν να περιέχουν μέχρι 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες, παύλες και κάτω παύλες.

i | Για τις πλάκες ευρετηρίου σταθερής διάταξης απαιτείται η εισαγωγή των θέσεων των βοθρίων. Για τα ευρετήρια χωρίς σταθερή διάταξη απαιτείται η εισαγωγή των ευρετηρίων i7 και i5. Τα ευρετήρια i5 πρέπει να εισαχθούν με προσανατολισμό προς τα εμπρός.

- Εισαγάγετε μη αυτόματα τα αναγνωριστικά των δειγμάτων και τις αντίστοιχες θέσεις των βοθρίων ή τα ευρετήρια. Εάν έχει επιλεγθεί το Not Specified (Δεν καθορίζεται) για το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης, εισαγάγετε τις αλληλουχίες του ευρετηρίου 2 (i5) με προσανατολισμό προς τα εμπρός.

12. Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Ρύθμιση δευτερεύουσας ανάλυσης

Ρυθμίστε τις παραμέτρους για τον τύπο ανάλυσης που επιλέξατε για την εκτέλεση. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις ροές εργασιών της ανάλυσης DRAGEN, ανατρέξτε στην ενότητα [Αρχεία εξόδου δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN στη σελίδα 69](#)

Illumina DRAGEN BCL Convert

Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για να διαμορφώσετε την ανάλυση Illumina DRAGEN BCL Convert.

1. Εισαγάγετε τις ακόλουθες προαιρετικές ρυθμίσεις.

Ρύθμιση	Περιγραφή
AdapterRead1	Αλληλουχία προσαρμογέα για την ανάγνωση 1. Εάν χρησιμοποιείτε κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης της Illumina, αφήστε κενό το πεδίο AdapterRead1.
AdapterRead2	Αλληλουχία προσαρμογέα για την ανάγνωση 2. Εάν χρησιμοποιείτε κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης της Illumina, αφήστε κενό το πεδίο AdapterRead2.
BarcodeMismatchesIndex1	Ο αριθμός των επιτρεπόμενων αναντιστοιχιών ανάμεσα στην πρώτη ανάγνωση ευρετηρίου και στην πρώτη αλληλουχία ευρετηρίου. Η προεπιλεγμένη τιμή είναι 1. Εάν ο γραμμωτός κωδικός είναι 6 bp, η συνιστώμενη τιμή είναι 0.
BarcodeMismatchesIndex2	Ο αριθμός των επιτρεπόμενων αναντιστοιχιών ανάμεσα στη δεύτερη ανάγνωση ευρετηρίου και στη δεύτερη αλληλουχία ευρετηρίου. Η προεπιλεγμένη τιμή είναι 1. Εάν ο γραμμωτός κωδικός είναι 6 bp, η συνιστώμενη τιμή είναι 0.
OverrideCycles	<p>Συμβολοσειρά που χρησιμοποιείται για τον καθορισμό των κύκλων UMI και την απόκρυψη των κύκλων μιας ανάγνωσης. Επιτρέπονται οι εξής τιμές:</p> <ul style="list-style-type: none"> • N—Καθορίζει τους κύκλους που θα αγνοηθούν. • Y—Καθορίζει τους κύκλους αλληλούχησης. • I—Καθορίζει τους κύκλους ευρετηρίου. • U—Καθορίζει τους κύκλους UMI που θα περικοπούν. <p>Κάθε στοιχείο χωρίζεται με ελληνικό ερωτηματικό. Παρακάτω παρουσιάζεται ένα παράδειγμα δεδομένων εισόδου για τη ρύθμιση OverrideCycles.</p> <pre>U8Y143; I8; I8; U8Y143 N10Y66; I6; N10Y66</pre>

2. Επιλέξτε εάν θα αποθηκευτεί ένα αντίγραφο των αρχείων FASTQ. Τα αρχεία FASTQ δημιουργούνται μόνο εάν επιλέξετε να διατηρήσετε αρχεία FASTQ.

3. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω μορφές εξόδου για τα αρχεία FASTQ:
 - **gzip**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή gzip.
 - **DRAGEN**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή ora.
4. Ολοκληρώστε τη διαμόρφωση εκτέλεσης.
 - Για να στείλετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης στον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub που διαθέτετε, επιλέξτε **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Οι εκτελέσεις που υποβάλλονται στο BaseSpace Sequence Hub εμφανίζονται στη λίστα των προγραμματισμένων εκτελέσεων και είναι διαθέσιμες για τα συστήματα που χρησιμοποιούνται λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία).
 - Για να αποθηκεύσετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης ως φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2, επιλέξτε **Export Sample Sheet** (Εξαγωγή φύλλου δείγματος) από την αναπτυσσόμενη λίστα **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Το φύλλο δείγματος είναι απαραίτητο για την έναρξη εκτελέσεων σε συστήματα που χρησιμοποιούν λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία). Αυτή η επιλογή είναι διαθέσιμη μόνο εάν έχει επιλεγθεί η λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) για τη θέση ανάλυσης.

Illumina DRAGEN Enrichment

Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για να διαμορφώσετε την ανάλυση Illumina DRAGEN Enrichment.

1. Επιλέξτε ένα γονιδίωμα αναφοράς.
Εάν είναι δυνατόν, χρησιμοποιήστε γονιδίωμα αναφοράς με αντιστοίχιση ALT-Aware.
2. Επιλέξτε ένα αρχείο *.bed που περιέχει τις περιοχές που θέλετε να στοχεύσετε ή αποστείλετε ένα νέο προσαρμοσμένο αρχείο.
Βεβαιωθείτε ότι το γονιδίωμα αναφοράς του αρχείου BED αντιστοιχεί στο γονιδίωμα αναφοράς που επιλέχθηκε στο βήμα 1. Για την ονομασία ενός νέου προσαρμοσμένου αρχείου BED, χρησιμοποιήστε την ακόλουθη μορφή: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
 - **Λειτουργία Local** (Τοπική λειτουργία)—Επιλέξτε **Select Custom File (Local)** [Επιλογή προσαρμοσμένου αρχείου (Τοπική λειτουργία)] για αποστολή για μία εκτέλεση ή **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)] για επαναλαμβανόμενη χρήση.
 - **Λειτουργία Cloud ή Hybrid** (Λειτουργία νέφους ή υβριδική λειτουργία)—Επιλέξτε **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)]. Το προσαρμοσμένο αρχείο BED είναι διαθέσιμο μόνο στην ομάδα εργασίας στην οποία απεστάλη.
3. Επιλέξτε είτε τη βλαστική σειρά είτε τον αντιστοιχιστή σωματικής παραλλαγής.
4. **[Προαιρετικά]** Εάν χρησιμοποιήσετε τον αντιστοιχιστή σωματικής παραλλαγής, επιλέξτε ένα αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου. Για περισσότερες πληροφορίες ανατρέξτε στην ενότητα [Εισαγωγή αρχείων τιμής αναφοράς θορύβου στη σελίδα 19](#).

5. Επιλέξτε μια μορφή εξόδου αντιστοίχισης/ευθυγράμμισης.
6. Επιλέξτε εάν θα αποθηκευτεί ένα αντίγραφο των αρχείων FASTQ. Τα αρχεία FASTQ δημιουργούνται μόνο εάν επιλέξετε να διατηρήσετε αρχεία FASTQ.
7. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω μορφές εξόδου για τα αρχεία FASTQ:
 - **gzip**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή gzip.
 - **DRAGEN**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή ora.
8. Ολοκληρώστε τη διαμόρφωση εκτέλεσης.
 - Για να στείλετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης στον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub που διαθέτετε, επιλέξτε **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Οι εκτελέσεις που υποβάλλονται στο BaseSpace Sequence Hub εμφανίζονται στη λίστα των προγραμματισμένων εκτελέσεων και είναι διαθέσιμες για τα συστήματα που χρησιμοποιούνται λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία).
 - Για να αποθηκεύσετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης ως φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2, επιλέξτε **Export Sample Sheet** (Εξαγωγή φύλλου δείγματος) από την αναπτυσσόμενη λίστα **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Το φύλλο δείγματος και τα υποστηρικτικά αρχεία για τη δευτερεύουσα ανάλυση λαμβάνονται σε φάκελο *.zip και είναι απαραίτητα για την έναρξη εκτελέσεων σε συστήματα που χρησιμοποιούν λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία). Αυτή η επιλογή είναι διαθέσιμη μόνο εάν έχει επιλεγεί η λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) για τη θέση ανάλυσης.

Illumina DRAGEN Germline

Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για να διαμορφώσετε την ανάλυση Illumina DRAGEN Germline.

1. Επιλέξτε το γονιδίωμα αναφοράς που θέλετε.
Εάν είναι δυνατόν, χρησιμοποιήστε γονιδίωμα αναφοράς με αντιστοίχιση ALT-Aware.
2. Επιλέξτε μια μορφή εξόδου αντιστοίχισης/ευθυγράμμισης.
3. Επιλέξτε εάν θα αποθηκευτεί ένα αντίγραφο των αρχείων FASTQ. Τα αρχεία FASTQ δημιουργούνται μόνο εάν επιλέξετε να διατηρήσετε αρχεία FASTQ.
4. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω μορφές εξόδου για τα αρχεία FASTQ:
 - **gzip**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή gzip.
 - **DRAGEN**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή ora.
5. Ολοκληρώστε τη διαμόρφωση εκτέλεσης.
 - Για να στείλετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης στον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub που διαθέτετε, επιλέξτε **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Οι εκτελέσεις που υποβάλλονται στο BaseSpace Sequence Hub εμφανίζονται στη λίστα των προγραμματισμένων εκτελέσεων και είναι διαθέσιμες για τα συστήματα που χρησιμοποιούνται λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία).

- Για να αποθηκεύσετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης ως φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2, επιλέξτε **Export Sample Sheet** (Εξαγωγή φύλλου δείγματος) από την αναπτυσσόμενη λίστα **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Το φύλλο δείγματος και τα υποστηρικτικά αρχεία για τη δευτερεύουσα ανάλυση λαμβάνονται σε φάκελο *.zip και είναι απαραίτητα για την έναρξη εκτελέσεων σε συστήματα που χρησιμοποιούν λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία). Αυτή η επιλογή είναι διαθέσιμη μόνο εάν έχει επιλεγεί η λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) για τη θέση ανάλυσης.

Illumina DRAGEN RNA

Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για να διαμορφώσετε την ανάλυση Illumina DRAGEN RNA.

1. Επιλέξτε το γονιδίωμα αναφοράς που θέλετε.
Εάν είναι δυνατόν, χρησιμοποιήστε γονιδίωμα αναφοράς χωρίς αντιστοίχιση ALT-Aware.
2. Επιλέξτε τη μορφή εξόδου αντιστοίχισης/ευθυγράμμισης που θέλετε.
3. Επιλέξτε εάν θα αποθηκευτεί ένα αντίγραφο των αρχείων FASTQ. Τα αρχεία FASTQ δημιουργούνται μόνο εάν επιλέξετε να διατηρήσετε αρχεία FASTQ.
4. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω μορφές εξόδου για τα αρχεία FASTQ:
 - **gzip**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή gzip.
 - **DRAGEN**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή ora.
5. **[Προαιρετικά]** Αποστείλετε ένα αρχείο επισημείωσης RNA σε μορφή Gene Transfer Format (GTF).
 - **Λειτουργία Local** (Τοπική λειτουργία)—Επιλέξτε **Select Custom File (Local)** [Επιλογή προσαρμοσμένου αρχείου (Τοπική λειτουργία)] για αποστολή για μία εκτέλεση ή **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)] για επαναλαμβανόμενη χρήση.
 - **Λειτουργία Cloud ή Hybrid** (Λειτουργία νέφους ή υβριδική λειτουργία)—Επιλέξτε **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)]. Το αρχείο GTF είναι διαθέσιμο μόνο στην ομάδα εργασίας στην οποία απεστάλη.

Μόλις αποσταλεί το αρχείο GTF σε μια ομάδα εργασίας BaseSpace Sequence Hub, επιλέξτε το αρχείο επισημείωσης RNA από το αναπτυσσόμενο μενού.
6. Επιλέξτε εάν θα ενεργοποιήσετε τη διαφορική έκφραση.
7. Εάν ενεργοποιήσετε τη διαφορική έκφραση, επιλέξτε μια τιμή ελέγχου ή σύγκρισης για κάθε δείγμα.
Σε κάθε ομάδα σύγκρισης, κάθε δείγμα που έχει επισημανθεί ως δείγμα ελέγχου συγκρίνεται με όλα τα δείγματα που έχουν επισημανθεί ως δείγματα σύγκρισης. Εάν το δείγμα δεν περιέχει τιμή ελέγχου ή σύγκρισης, επιλέξτε το **na** ως τιμή.
8. Ολοκληρώστε τη διαμόρφωση εκτέλεσης.

- Για να στείλετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης στον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub που διαθέτετε, επιλέξτε **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Οι εκτελέσεις που υποβάλλονται στο BaseSpace Sequence Hub εμφανίζονται στη λίστα των προγραμματισμένων εκτελέσεων και είναι διαθέσιμες για τα συστήματα που χρησιμοποιούνται λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία).
- Για να αποθηκεύσετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης ως φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2, επιλέξτε **Export Sample Sheet** (Εξαγωγή φύλλου δείγματος) από την αναπτυσσόμενη λίστα **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Το φύλλο δείγματος και τα υποστηρικτικά αρχεία για τη δευτερεύουσα ανάλυση λαμβάνονται σε φάκελο *.zip, εφόσον έχει παρασχεθεί ένα προαιρετικό αρχείο GTF, και είναι απαραίτητα για την έναρξη εκτελέσεων σε συστήματα που χρησιμοποιούν λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία). Αυτή η επιλογή είναι διαθέσιμη μόνο εάν έχει επιλεγθεί η λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) για τη θέση ανάλυσης.

Illumina DRAGEN Single Cell RNA

Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για να διαμορφώσετε την ανάλυση Illumina DRAGEN Single Cell RNA.

1. Επιλέξτε το γονιδίωμα αναφοράς που θέλετε.
Εάν είναι δυνατόν, χρησιμοποιήστε γονιδίωμα αναφοράς χωρίς αντιστοίχιση ALT-Aware.
2. **[Προαιρετικά]** Αποστείλετε ένα αρχείο επισημείωσης RNA σε μορφή Gene Transfer Format (GTF).
 - **Λειτουργία Local** (Τοπική λειτουργία)—Επιλέξτε **Select Custom File (Local)** [Επιλογή προσαρμοσμένου αρχείου (Τοπική λειτουργία)] για αποστολή για μία εκτέλεση ή **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)] για επαναλαμβανόμενη χρήση.
 - **Λειτουργία Cloud ή Hybrid** (Λειτουργία νέφους ή υβριδική λειτουργία)—Επιλέξτε **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)]. Το αρχείο GTF είναι διαθέσιμο μόνο στην ομάδα εργασίας στην οποία απεστάλη.Μόλις αποσταλεί το αρχείο GTF σε μια ομάδα εργασίας BaseSpace Sequence Hub, επιλέξτε το αρχείο επισημείωσης RNA από το αναπτυσσόμενο μενού.
3. Επιλέξτε τη μορφή εξόδου αντιστοίχισης/ευθυγράμμισης που θέλετε.
4. Επιλέξτε εάν θα αποθηκευτεί ένα αντίγραφο των αρχείων FASTQ. Τα αρχεία FASTQ δημιουργούνται μόνο εάν επιλέξετε να διατηρήσετε αρχεία FASTQ.
5. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω μορφές εξόδου για τα αρχεία FASTQ:
 - **gzip**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή gzip.
 - **DRAGEN**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή ora.
6. Επιλέξτε τη διαμόρφωση που είναι ίδια με τον τύπο του κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που διαθέτετε.

Για παράδειγμα, εάν επιλέξατε το Single Cell RNA Library Kit 1 (Κιτ βιβλιοθήκης RNA μεμονωμένων κυττάρων 1) ως κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης, επιλέξτε Type 1 (Τύπος 1) για το Configuration Type (Τύπος διαμόρφωσης).

7. Επιλέξτε την ανάγνωση του γραμμωτού κωδικού.
8. **[Προαιρετικά]** Επεξεργαστείτε τον αριθμό των βάσεων στους γραμμωτούς κωδικούς και στο UMI. Οι τιμές συμπληρώνονται αυτόματα με βάση το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης και τον τύπο διαμόρφωσης που επιλέξατε.
9. Επιλέξτε τον προσανατολισμό της αλυσίδας.
10. **[Προαιρετικά]** Επιλέξτε ένα αρχείο που περιέχει τις αλληλουχίες γραμμωτών κωδικών σας ή αποστείλετε ένα νέο προσαρμοσμένο αρχείο.
11. Εάν χρησιμοποιείτε τύπο διαμόρφωσης Advanced/Custom (Προηγμένη/Προσαρμοσμένη), εισαγάγετε τιμές για τον αριθμό των κύκλων ακύρωσης, τη θέση του γραμμωτού κωδικού και τη θέση UMI.
12. Ολοκληρώστε τη διαμόρφωση εκτέλεσης.
 - Για να στείλετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης στον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub που διαθέτετε, επιλέξτε **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Οι εκτελέσεις που υποβάλλονται στο BaseSpace Sequence Hub εμφανίζονται στη λίστα των προγραμματισμένων εκτελέσεων και είναι διαθέσιμες για τα συστήματα που χρησιμοποιούνται λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία).
 - Για να αποθηκεύσετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης ως φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2, επιλέξτε **Export Sample Sheet** (Εξαγωγή φύλλου δείγματος) από την αναπτυσσόμενη λίστα **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Το φύλλο δείγματος και τα υποστηρικτικά αρχεία για τη δευτερεύουσα ανάλυση λαμβάνονται σε φάκελο *.zip, εφόσον έχει παρασχεθεί ένα προαιρετικό αρχείο GTF, και είναι απαραίτητα για την έναρξη εκτελέσεων σε συστήματα που χρησιμοποιούν λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία). Αυτή η επιλογή είναι διαθέσιμη μόνο εάν έχει επιλεγθεί η λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) για τη θέση ανάλυσης.

Illumina DRAGEN Amplicon

Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για να διαμορφώσετε την ανάλυση Illumina DRAGEN Amplicon.

1. Επιλέξτε το γονιδίωμα αναφοράς που θέλετε.
2. Επιλέξτε ένα αρχείο *.bed που περιέχει τις περιοχές που θέλετε να στοχεύσετε ή αποστείλετε ένα νέο προσαρμοσμένο αρχείο.

Βεβαιωθείτε ότι το γονιδίωμα αναφοράς του αρχείου BED αντιστοιχεί στο γονιδίωμα αναφοράς που επιλέχθηκε στο βήμα 1. Για την ονομασία ενός νέου προσαρμοσμένου αρχείου BED, χρησιμοποιήστε την ακόλουθη μορφή: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.

- **Λειτουργία Cloud ή Hybrid** (Λειτουργία νέφους ή υβριδική λειτουργία)—Επιλέξτε **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)]. Το προσαρμοσμένο αρχείο BED είναι διαθέσιμο μόνο στην ομάδα εργασίας στην οποία απεστάλη.
 - **Λειτουργία Local** (Τοπική λειτουργία)—Επιλέξτε **Select Custom File (Local)** [Επιλογή προσαρμοσμένου αρχείου (Τοπική λειτουργία)] για αποστολή για μία εκτέλεση ή **Upload Custom File (BaseSpace)** [Αποστολή προσαρμοσμένου αρχείου (BaseSpace)] για επαναλαμβανόμενη χρήση.
3. Επιλέξτε είτε τη βλαστική σειρά είτε τον αντιστοιχιστή σωματικής παραλλαγής.
 4. Επιλέξτε τη μορφή εξόδου αντιστοιχιστής/ευθυγράμμισης που θέλετε.
 5. **[Local]** (Τοπική λειτουργία) Επιλέξτε εάν θα αποθηκευτεί ένα αντίγραφο των αρχείων FASTQ. Τα αρχεία FASTQ δημιουργούνται μόνο εάν επιλέξετε να διατηρήσετε αρχεία FASTQ.
 6. Επιλέξτε εάν θα αποθηκευτεί ένα αντίγραφο των αρχείων FASTQ. Τα αρχεία FASTQ δημιουργούνται μόνο εάν επιλέξετε να διατηρήσετε αρχεία FASTQ.
 7. Επιλέξτε μία από τις παρακάτω μορφές εξόδου για τα αρχεία FASTQ:
 - **gzip**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή gzip.
 - **DRAGEN**—Τα αρχεία FASTQ αποθηκεύονται σε μορφή ora.
 8. Ολοκληρώστε τη διαμόρφωση εκτέλεσης.
 - Για να στείλετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης στον λογαριασμό BaseSpace Sequence Hub που διαθέτετε, επιλέξτε **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Οι εκτελέσεις που υποβάλλονται στο BaseSpace Sequence Hub εμφανίζονται στη λίστα των προγραμματισμένων εκτελέσεων και είναι διαθέσιμες για τα συστήματα που χρησιμοποιούνται λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία).
 - **[Local]** (Τοπική λειτουργία) Για να αποθηκεύσετε τη διαμόρφωση εκτέλεσης ως φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2, επιλέξτε **Export Sample Sheet** (Εξαγωγή φύλλου δείγματος) από την αναπτυσσόμενη λίστα **Submit Run** (Υποβολή εκτέλεσης). Το φύλλο δείγματος και τα υποστηρικτικά αρχεία για τη δευτερεύουσα ανάλυση λαμβάνονται σε φάκελο *.zip και είναι απαραίτητα για την έναρξη εκτελέσεων σε συστήματα που χρησιμοποιούν λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία). Αυτή η επιλογή είναι διαθέσιμη μόνο εάν έχει επιλεγθεί η λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία) για τη θέση ανάλυσης.

Απόψυξη της συσκευασμένης στον σάκο κασέτας και της κυψελίδας ροής

Στο βήμα αυτό πραγματοποιείται απόψυξη της κασέτας *μέσα στον κλειστό σάκο* και προετοιμασία της κυψελίδας ροής. Αποψύξτε τη συσκευασμένη στον σάκο κασέτα χρησιμοποιώντας μία από τις τρεις μεθόδους: ελεγχόμενο λουτρό ύδατος, ψυγείο ή αέρα σε θερμοκρασία δωματίου. Η κασέτα

πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως μετά την απόψυξη και δεν πρέπει να επαναψύχεται. Εάν δεν μπορείτε να χρησιμοποιήσετε την κασέτα αμέσως μετά την απόψυξη, ανατρέξτε στην ενότητα [Επιστροφή αναλωσίμων στον χώρο αποθήκευσης στη σελίδα 91](#).

Εικόνα 4 Συσκευασμένη στον σάκο κασέτα




Απόψυξη κασέτας σε ελεγχόμενο λουτρό ύδατος

1. Φορέστε ένα νέο ζευγάρι γαντιών χωρίς πούδρα και βγάλτε την κασέτα από τον χώρο αποθήκευσης.
 2. Βγάλτε την κασέτα από το κουτί, αλλά **μην ανοίξετε τον ασημένιο αλουμινένιο σάκο**.
- !** Εάν ο σάκος είναι σκισμένος ή τρυπημένος, η απόψυξη σε λουτρό ύδατος μπορεί να προκαλέσει την αποτυχία της αλληλούχησης. Σε αυτήν την περίπτωση, πραγματοποιήστε την απόψυξη σε θερμοκρασία δωματίου ή σε ψυγείο.
3. Αποψύξτε τη συσκευασμένη στον σάκο κασέτα σε ελεγχόμενο λουτρό ύδατος θερμοκρασίας 25°C για 6 ώρες:
 - Διατηρήστε το βάθος τουλάχιστον 9,5–10 cm ανεξάρτητα από τον αριθμό των κασετών που αποψύχετε.
 - Η θερμοκρασία του λουτρού ύδατος πρέπει να είναι ελεγχόμενη στους 25°C.
 - Στρέψτε την ετικέτα του σάκου προς τα επάνω και τοποθετήστε τον στο λουτρό ύδατος χωρίς να τον βυθίσετε.
- !** Μην επιχειρήσετε να τοποθετήσετε βάρος πάνω στην κασέτα προκειμένου να βυθιστεί. Εάν η ετικέτα του σάκου δεν είναι στραμμένη προς τα επάνω ή εάν η κασέτα αναποδογυρίσει κατά τη διάρκεια της απόψυξης, τα δεδομένα αλληλούχησης θα επηρεαστούν αρνητικά.


- Η κασέτα δεν πρέπει να παραμένει περισσότερες από 8 ώρες στο λουτρό ύδατος.
 - Δεν πρέπει να αποψύχετε ταυτόχρονα περισσότερες κασέτες από αυτές που υποστηρίζονται από το λουτρό ύδατος. Για τα συμβατά λουτρά ύδατος, ανατρέξτε στην ενότητα [Βοηθητικός εξοπλισμός στη σελίδα 31](#).
 - Μη στοιβάζετε τις κασέτες.
4. Βγάλτε την κασέτα από το λουτρό ύδατος και στεγνώστε τη με χαρτοπετσέτες.

Απόψυξη κασέτας σε ψυγείο

1. Φορέστε ένα νέο ζευγάρι γαντιών χωρίς πούδρα.
2. Μία ημέρα πριν από την προγραμματισμένη εκτέλεση, πάρτε την κασέτα από τον χώρο αποθήκευσης όπου βρίσκεται σε θερμοκρασία -25°C έως -15°C .
3. Βγάλτε την κασέτα από το κουτί, αλλά **μην ανοίξετε τον ασημένιο αλουμινένιο σάκο**.
4. Αφήστε την κασέτα σε θερμοκρασία δωματίου, τοποθετημένη έτσι ώστε η ετικέτα να είναι στραμμένη προς τα πάνω και η κυκλοφορία του αέρα να είναι δυνατή στις πλευρές και στο πάνω μέρος.

 Εάν η ετικέτα του σάκου δεν είναι στραμμένη προς τα επάνω, τα δεδομένα αλληλούχησης θα επηρεαστούν αρνητικά.


5. Αποψύξτε την κασέτα σε θερμοκρασία δωματίου για 6 ώρες.
6. Τοποθετήστε την κασέτα σε ψυγείο σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C , έτσι ώστε η ετικέτα να είναι στραμμένη προς τα πάνω και η κυκλοφορία του αέρα να είναι δυνατή στις πλευρές.

 Εάν η ετικέτα του σάκου δεν είναι στραμμένη προς τα επάνω, τα δεδομένα αλληλούχησης θα επηρεαστούν αρνητικά.

7. Αποψύξτε την κασέτα στο ψυγείο για 12 ώρες. Μην υπερβαίνετε τις 72 ώρες.

Απόψυξη κασέτας σε θερμοκρασία δωματίου

1. Φορέστε ένα νέο ζευγάρι γαντιών χωρίς πούδρα.
2. Πάρτε την κασέτα από τον χώρο αποθήκευσης όπου βρίσκεται σε θερμοκρασία -25°C έως -15°C .
3. Βγάλτε την κασέτα από το κουτί, αλλά **μην ανοίξετε τον ασημένιο αλουμινένιο σάκο**.
4. Τοποθετήστε την κασέτα έτσι ώστε η ετικέτα να είναι στραμμένη προς τα πάνω και η κυκλοφορία του αέρα να είναι δυνατή στις πλευρές και στο πάνω μέρος.

 Εάν η ετικέτα του σάκου δεν είναι στραμμένη προς τα επάνω, τα δεδομένα αλληλούχησης θα επηρεαστούν αρνητικά.

5. Αποψύξτε την κασέτα σε θερμοκρασία δωματίου για 9 ώρες. Μην υπερβαίνετε τις 16 ώρες.

Προετοιμασία της κυψελίδας ροής και της κασέτας

1. Προετοιμάστε την κυψελίδα ροής, όπως περιγράφεται στη συνέχεια.
 - a. Πάρτε μια νέα κυψελίδα ροής από τον χώρο αποθήκευσης όπου βρίσκεται σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C.
 - b. Αφήστε την κλειστή συσκευασία σε θερμοκρασία δωματίου για 10–15 λεπτά για να αποτραπεί η υγροποίηση κατά την αποσυσκευασία της κυψελίδας ροής. Η προετοιμασία της κυψελίδας ροής τώρα εξασφαλίζει ότι θα φτάσει εγκαίρως σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Εάν χρησιμοποιείτε τη μέθοδο απόψυξης με το ψυγείο:
 - a. Πάρτε την αποψυγμένη κασέτα από τον χώρο αποθήκευσης όπου βρίσκεται σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C.
 - b. Αφήστε τη συσκευασμένη κασέτα σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν από την αλληλούχιση. Μην υπερβαίνετε τη 1 ώρα.

Βιβλιοθήκες αραιώσης

Εάν χρησιμοποιείται αποδιάταξη και αραιώση στο όργανο, το βήμα αυτό αραιώνει τις βιβλιοθήκες στην κατάλληλη συγκέντρωση φόρτωσης. Ένα προαιρετικό διάλυμα γνωστής περιεκτικότητας PhiX¹ 2% παρέχει πρόσθετες τιμές μέτρησης, ποικιλομορφία βάσης ή θετικό έλεγχο. Το ποσοστό του διαλύματος γνωστής περιεκτικότητας PhiX θα πρέπει να αυξάνεται για βιβλιοθήκες με χαμηλότερη ποικιλομορφία βάσης.

Εάν η αποδιάταξη και η αραιώση των βιβλιοθηκών πραγματοποιείται μη αυτόματα, χρησιμοποιήστε τον *Οδηγό αποδιάταξης και αραιώσης βιβλιοθηκών σε συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και 2000* (αρ. εγγράφου 1000000139235). Το βήμα αυτό ισχύει μόνο για αποδιάταξη και αραιώση στο όργανο.

Αραιώση βιβλιοθήκης σε 2 nM

1. [Προαιρετικά] Πάρτε 10 nM αποθέματος PhiX από τον χώρο αποθήκευσης όπου βρίσκονται σε θερμοκρασία -25°C έως -15°C.
Το PhiX απαιτείται μόνο για προαιρετική χρήση διαλύματος γνωστής περιεκτικότητας ή για την εκτέλεση μόνο με PhiX.
2. [Προαιρετικά] Αποψύξτε το PhiX σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά και στη συνέχεια πραγματοποιήστε ποσοτικοποίηση χρησιμοποιώντας μέθοδο με βάση τον φθορισμό, όπως το Qubit, για να επιβεβαιώσετε τη συγκέντρωση του PhiX.
Εάν η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή, συνεχίστε με συγκέντρωση 10 nM.
3. Αναμείξτε τη βιβλιοθήκη ή PhiX σύντομα και κατόπιν φυγοκεντρήστε στα 280 × g για 1 λεπτό.
4. Χρησιμοποιώντας RSB με Tween 20 ως αραιωτικό, προετοιμάστε τουλάχιστον 24 μl 2 nM βιβλιοθήκης σε μικροσωλήνα χαμηλής ένωσης.

¹Το PhiX είναι μια μικρή, έτοιμη προς χρήση βιβλιοθήκη Illumina με ισορροπημένη εκπροσώπηση νουκλεοτιδίων.

Για οδηγίες σχετικά με το διάλυμα γνωστής περιεκτικότητας PhiX, ανατρέξτε στην ενότητα [Προσθήκη PhiX Control \(προαιρετικά\) στη σελίδα 48](#).

5. Αναμείξτε σύντομα και κατόπιν φυγοκεντρήστε στα 280 × g για 1 λεπτό.

Αραίωση 2 nM βιβλιοθήκης σε συγκέντρωση φόρτωσης

1. Συνδυάστε τους ακόλουθους όγκους σε έναν μικροσωλήνα χαμηλής ένωσης για την προετοιμασία 24 μl βιβλιοθήκης αραιωμένης στην κατάλληλη συγκέντρωση φόρτωσης:

Τύπος βιβλιοθήκης*	Συγκέντρωση φόρτωσης (pM)	Όγκος 2 nM βιβλιοθήκης (μl)	Όγκος RSB με Tween 20 (μl)
Ampliseq για Illumina Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep με εμπλουτισμό	1000	12	12
Illumina Stranded Total RNA με 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

* Για τύπους βιβλιοθήκης που δεν περιλαμβάνονται στη λίστα, ξεκινήστε με συγκέντρωση φόρτωσης 650 pM και βελτιστοποιήστε τη στις επόμενες εκτελέσεις.

Στον πίνακα αυτόν, παρέχονται παραδείγματα συγκεντρώσεων φόρτωσης. Το σύστημα NextSeq 1000/2000 είναι συμβατό με όλα τα κιτ προετοιμασίας βιβλιοθηκών της Illumina, αλλά η βέλτιστη συγκέντρωση φόρτωσης μπορεί να διαφέρει.

2. Αναμείξτε σύντομα και κατόπιν φυγοκεντρήστε στα 280 × g για 1 λεπτό.
3. Αφήστε την αραιωμένη βιβλιοθήκη σε πάγο μέχρι να είναι έτοιμη για αλληλούχιση. Προσδιορίστε την αλληλουχία των βιβλιοθηκών που έχουν αραιωθεί στη συγκέντρωση φόρτωσης την ίδια ημέρα με την πραγματοποίηση της αραίωσης.

4. Συνεχίστε ως εξής.

- Εάν προσθέσετε PhiX, ανατρέξτε στην ενότητα [Προσθήκη PhiX Control \(προαιρετικά\) στη σελίδα 48](#).
- Εάν δεν προσθέσετε PhiX ή εάν πραγματοποιείτε εκτέλεση μόνο με PhiX, ανατρέξτε στην ενότητα [Φόρτωση αναλωσίμων στην κασέτα στη σελίδα 48](#).

Προσθήκη PhiX Control (προαιρετικά)

1. Συνδυάστε τους ακόλουθους όγκους σε έναν μικροσωλήνα χαμηλής ένωσης για την προετοιμασία 20 μl 1 nM PhiX:
 - 10 nM PhiX (2 μl)
 - RSB με Tween 20 (18 μl)
2. Αναμείξτε σύντομα και κατόπιν φυγοκεντρήστε στα 280 × g για 1 λεπτό.
3. Προσθέστε 1 μl 1 nM PhiX σε 24 μl βιβλιοθήκης που έχει αραιωθεί στην τελική συγκέντρωση φόρτωσης.
Οι όγκοι αυτοί έχουν ως αποτέλεσμα διάλυμα γνωστής περιεκτικότητας PhiX ~2%. Το πραγματικό ποσοστό διαφέρει ανάλογα με την ποιότητα και την ποσότητα της εκάστοτε βιβλιοθήκης.
4. Αφήστε την βιβλιοθήκη με διάλυμα γνωστής περιεκτικότητας PhiX σε πάγο μέχρι να είναι έτοιμη για αλληλούχιση.
Προσδιορίστε την αλληλουχία των βιβλιοθηκών με διάλυμα γνωστής περιεκτικότητας PhiX την ίδια ημέρα με την εκτέλεση της αραιώσης.

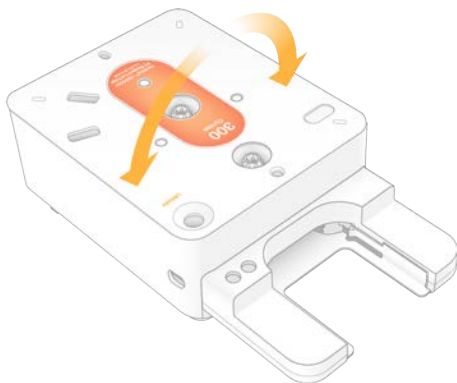
Φόρτωση αναλωσίμων στην κασέτα

Στο βήμα αυτό προετοιμάζεται η κασέτα για την αλληλούχιση, αναμειγνύοντας τα προπληρωμένα αντιδραστήρια και φορτώνοντας τις αραιωμένες βιβλιοθήκες και την κυψελίδα ροής.

Προετοιμασία της κασέτας

1. Ανοίξτε τον σάκο της κασέτας από τις εγκοπές που βρίσκονται στο πάνω μέρος κάθε πλευράς, σκίζοντάς τον ή κόβοντάς τον με ένα ψαλίδι.
2. Αφαιρέστε την κασέτα από τον σάκο. Απορρίψτε τον σάκο και το αφυγραντικό.

3. Αναποδογυρίστε την κασέτα 10 φορές για να αναμειχθούν τα αντιδραστήρια.
Καθώς αναποδογυρίζετε την κασέτα μπορεί να ακούγεται ένα κροτάλισμα από τα εσωτερικά εξαρτήματα, το οποίο όμως είναι φυσιολογικό.



Φόρτωση της κυψελίδας ροής

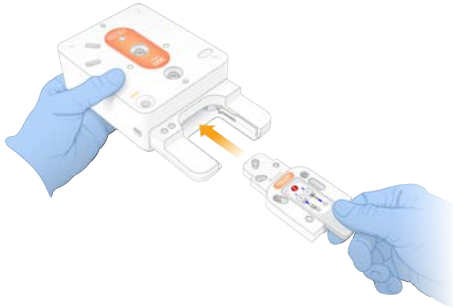
1. Ανοίξτε την ασημένια, αλουμινένια συσκευασία από τις σχισμές που βρίσκονται στο πάνω μέρος κάθε πλευράς, σκίζοντάς την ή κόβοντάς την με ένα ψαλίδι.
Εάν δεν μπορείτε να χρησιμοποιήσετε αμέσως την κυψελίδα ροής, ανατρέξτε στην ενότητα [Επιστροφή αναλωσίμων στον χώρο αποθήκευσης στη σελίδα 91](#).
2. Βγάλτε την κυψελίδα ροής από τη συσκευασία.
Αφήστε στην άκρη την αλουμινένια συσκευασία και το αφυγραντικό σε περίπτωση που θελήσετε να επιστρέψετε την κυψελίδα ροής στον χώρο αποθήκευσης. Το αφυγραντικό περιέχεται μέσα σε ένα σακουλάκι που βρίσκεται στον πυθμένα της αλουμινένιας συσκευασίας. Απορρίψτε τα όταν ξεκινήσει η αλληλούχηση.



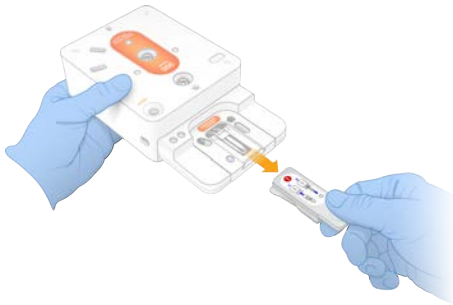
3. Κρατήστε την κυψελίδα ροής από τη γκρι γλωττίδα με την ετικέτα της γλωττίδας στραμμένη προς τα επάνω.

4. Ωθήστε την κυψελίδα ροής για να εισαχθεί στην υποδοχή που βρίσκεται στο μπροστινό μέρος της κασέτας.

Το χαρακτηριστικό κλικ που ακούγεται υποδεικνύει ότι η κυψελίδα ροής είναι στη θέση της. Όταν η κυψελίδα ροής φορτωθεί σωστά, η γκρι γλωττίδα προεξέχει από την κασέτα.



5. Τραβήξτε προς τα πίσω και αφαιρέστε τη γκρι γλωττίδα για να αποκαλυφθεί η κυψελίδα ροής. Ανακυκλώστε τη γλωττίδα.



Φόρτωση βιβλιοθηκών

1. Χρησιμοποιώντας ένα νέο άκρο πιπέτας P1000, τρυπήστε το δοχείο βιβλιοθηκών και ωθήστε το αλουμίνιο προς τα άκρα για να μεγαλώσει η οπή.
2. Απορρίψτε το άκρο της πιπέτας για να αποφύγετε τυχόν επιμόλυνση.



3. Προσθέστε 20 μl αραιωμένης βιβλιοθήκης στον **πυθμένα** του δοχείου, χαμηλώνοντας αργά το άκρο της πιπέτας στον πυθμένα του δοχείου πριν από τη διανομή. Μην αγγίζετε το αλουμίνιο.




Έναρξη εκτέλεσης αλληλούχισης

Σε αυτό το βήμα πραγματοποιείται η έναρξη μιας εκτέλεσης αλληλούχισης σε μία από τις τέσσερις λειτουργίες:

- **Λειτουργία Cloud** (Λειτουργία νέφους)—Η εκτέλεση επιλέγεται από μια λίστα προγραμματισμένων εκτελέσεων στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000. Κατά τη διάρκεια της αλληλούχισης, τα δεδομένα cBCL αποστέλλονται στο BaseSpace Sequence Hub. Μετά την αλληλούχιση, το DRAGEN εκκινείται αυτόματα στο BaseSpace Sequence Hub.
- **Λειτουργία Hybrid** (Υβριδική λειτουργία)—Η εκτέλεση επιλέγεται από μια λίστα προγραμματισμένων εκτελέσεων στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000. Μετά την αλληλούχιση, εκκινείται αυτόματα η ανάλυση εντός του οργάνου. Τα δεδομένα cBCL και τα αρχεία εξόδου της δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN αποθηκεύονται στον επιλεγμένο φάκελο εξόδου.
- **Λειτουργία Local** (Τοπική λειτουργία)—Ένα φύλλο δείγματος σε μορφή αρχείου v2 εισάγεται μη αυτόματα στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000. Μετά την αλληλούχιση, εκκινείται αυτόματα η ανάλυση εντός του οργάνου. Τα δεδομένα cBCL και τα αρχεία εξόδου της δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN αποθηκεύονται στον επιλεγμένο φάκελο εξόδου. Εάν έχει επιλεχθεί το Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), η ανάλυση μπορεί επίσης να ξεκινήσει μέσω των εφαρμογών του BaseSpace Sequence Hub μετά την ολοκλήρωση της αλληλούχισης.
- **Λειτουργία Standalone** (Αυτόνομη λειτουργία)—Ρυθμίστε μια εκτέλεση, σύμφωνα με τις οδηγίες του λογισμικού ελέγχου NextSeq 1000/2000, για να δημιουργήσετε δεδομένα cBCL.


-  Το άνοιγμα του προστατευτικού καλύμματος κατά τη διάρκεια του ελέγχου πριν από την εκτέλεση ή κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης μπορεί να προκαλέσει την αποτυχία της εκτέλεσης.
-  Μην αγγίζετε με τα χέρια σας το όργανο κατά το άνοιγμα και το κλείσιμο του προστατευτικού καλύμματος για την αποφυγή τραυματισμού.

Έναρξη εκτέλεσης σε λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους) ή Hybrid (Υβριδική λειτουργία)

1. Διαμορφώστε τη λειτουργία εκτέλεσης, όπως περιγράφεται στην ενότητα [Διαμόρφωση λειτουργίας εκτέλεσης στη σελίδα 21](#).
 2. Επιλέξτε **Start** (Έναρξη).
 3. Εισαγάγετε τα διαπιστευτήρια για την είσοδό σας στο BaseSpace Sequence Hub και κατόπιν επιλέξτε **Sign In** (Είσοδος).
 4. Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), επιλέξτε την ομάδα εργασίας που περιέχει την εκτέλεση που δημιουργήθηκε στο Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub.
-  Η επιλογή ομάδας εργασίας είναι απαραίτητη για την αποφυγή σφαλμάτων. Βεβαιωθείτε ότι έχετε επιλέξει ομάδα εργασίας προτού συνεχίσετε.
5. Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).
 6. Επιλέξτε την εκτέλεση που θέλετε.
 7. Επιβεβαιώστε ότι η έκδοση των Analysis (Ανάλυση), Run Length (Διάρκεια εκτέλεσης) και Secondary Analysis (Δευτερεύουσα ανάλυση) αντιστοιχεί στη σωστή εκτέλεση. Στο Analysis (Ανάλυση) εμφανίζεται η ένδειξη Cloud (Λειτουργία νέφους) προκειμένου να υποδεικνύεται ότι η ανάλυση πραγματοποιείται στο BaseSpace Sequence Hub.
 8. Επιλέξτε **Review** (Επισκόπηση).
 9. **[Προαιρετικά]** Εισαγάγετε τη θέση του προσαρμοσμένου εκκινητή ανάγνωσης και του προσαρμοσμένου εκκινητή ευρετηρίου.
Για πληροφορίες σχετικά με την προετοιμασία και την προσθήκη προσαρμοσμένων εκκινητών, ανατρέξτε στον *Οδηγό προσαρμοσμένων εκκινητών NextSeq 1000 και 2000* (αρ. εγγράφου 1000000139569). Φροντίστε να επισκεφθείτε τη σελίδα των συμβατών προϊόντων για το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που διαθέτετε, προκειμένου να ελέγξετε εάν οι προσαρμοσμένοι εκκινητές Illumina είναι απαραίτητοι.
 10. **[Προαιρετικά]** Επιλέξτε μια προσαρμοσμένη συνταγή. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα [Αλληλούχιση νυχτερινού κύκλου στη σελίδα 114](#)
Εάν χρησιμοποιείτε το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3 και το κιτ Illumina Stranded Total RNA Prep με Ribo-Zero Plus ή το κιτ Illumina Stranded mRNA Prep, η προσαρμοσμένη συνταγή θα επιλεγεί αυτόματα.

11. **[Προαιρετικά]** Για τη μη αυτόματη αποδιάταξη και αραιώση των βιβλιοθηκών, καταργήστε την επιλογή από το πλαίσιο ελέγχου **Denature and Dilute On Board** (Αποδιάταξη και αραιώση στο όργανο). Ανατρέξτε στον *Οδηγό αποδιάταξης και αραιώσης βιβλιοθηκών σε συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και 2000* (αρ. εγγράφου 1000000139235).
Η προεπιλογή διαμορφώνεται στις ρυθμίσεις του λογισμικού ελέγχου NextSeq 1000/2000.
12. **[Προαιρετικά]** Για να αλλάξετε τον φάκελο εξόδου, επιλέξτε το πεδίο Output Folder (Φάκελος εξόδου) και εισαγάγετε μια νέα θέση.
Το πεδίο Output Folder (Φάκελος εξόδου) συμπληρώνεται αυτόματα από τις προεπιλεγμένες ρυθμίσεις σας και είναι υποχρεωτικό εκτός αν έχει επιλεγθεί το **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση).
Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), στο στοιχείο Save to BaseSpace Sequence Hub (Αποθήκευση στο BaseSpace Sequence Hub) θα εμφανίζεται η ένδειξη Enabled (Ενεργοποιημένο).
Εάν έχετε επιλέξει Proactive and Run Monitoring (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης), στο στοιχείο Save to BaseSpace Sequence Hub (Αποθήκευση στο BaseSpace Sequence Hub) θα εμφανίζεται η ένδειξη Disabled (Απενεργοποιημένο).
13. Ελέγξτε τις πληροφορίες εκτέλεσης και κατόπιν επιλέξτε **Prep** (Προετοιμασία).

Έναρξη εκτέλεσης σε λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία)

1. Διαμορφώστε τη λειτουργία εκτέλεσης, όπως περιγράφεται στην ενότητα [Διαμόρφωση λειτουργίας εκτέλεσης στη σελίδα 21](#).
 2. Επιλέξτε **Start** (Έναρξη).
 3. Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση) ή Proactive and Run Monitoring (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης), εισαγάγετε τα διαπιστευτήρια για την είσοδό σας στο BaseSpace Sequence Hub και κατόπιν επιλέξτε **Sign In** (Είσοδος).
 4. Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), επιλέξτε την ομάδα εργασίας BaseSpace Sequence Hub για να αποθηκεύσετε την εκτέλεση και κατόπιν επιλέξτε **Next** (Επόμενο).
-  Η επιλογή ομάδας εργασίας είναι απαραίτητη για την αποφυγή σφαλμάτων. Βεβαιωθείτε ότι έχετε επιλέξει ομάδα εργασίας προτού συνεχίσετε.
5. Επιλέξτε **Choose...** (Επιλογή...) στην ενότητα Start With Sample Sheet (Έναρξη με φύλλο δείγματος) και μεταβείτε στο φύλλο δείγματος σε μορφή v2 στο όργανο NextSeq 1000/2000, στη φορητή μονάδα δίσκου ή στη σταθερή μονάδα δίσκου δικτύου. Τα ονόματα των αρχείων των φύλλων δείγματος δεν επιτρέπεται να περιέχουν ειδικούς χαρακτήρες.

Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3 εντοπίζει αυτόματα την έκδοση του DRAGEN από το φύλλο δείγματος και σας ζητά να αλλάξετε εκδόσεις, εάν χρειάζεται. Η έκδοση του DRAGEN πρέπει να είναι εγκατεστημένη στο σύστημα. Για πληροφορίες σχετικά με την εγκατάσταση, ανατρέξτε στην ενότητα [Ενημερώσεις λογισμικού στη σελίδα 84](#).

- **Instrument Run Setup Used** (Η ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου χρησιμοποιήθηκε)—Επιλέξτε τον φάκελο .zip που περιέχει το φύλλο δείγματος σε μορφή v2 και τα αρχεία υποστήριξης κατά περίπτωση. Διαφορετικά, επιλέξτε το φύλλο δείγματος σε μορφή v2.
- **Instrument Run Setup Not Used** (Η ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου δεν χρησιμοποιήθηκε)—Βεβαιωθείτε ότι το αρχείο υποστήριξης της δευτερεύουσας ανάλυσης βρίσκεται στον ίδιο κατάλογο με το φύλλο δείγματος σε μορφή v2.

i | Το επιλεγμένο φύλλο δείγματος πρέπει να είναι σε μορφή v2. Για να δημιουργήσετε ένα φύλλο δείγματος σε μορφή v2, πραγματοποιήστε λήψη του δημιουργημένου φύλλου δείγματος από το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub ή επεξεργαστείτε ένα πρότυπο φύλλο δείγματος σε μορφή v2 που παρέχεται στη σελίδα υποστήριξης του συστήματος NextSeq 1000/2000. Ανατρέξτε στην ενότητα [Ρυθμίσεις φύλλου δείγματος v2 στη σελίδα 97](#) για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη μορφή v2 και τις απαιτήσεις των φύλλων δείγματος. Βεβαιωθείτε ότι τα αρχεία που αναφέρονται στο φύλλο δείγματος βρίσκονται στον ίδιο φάκελο με το φύλλο δείγματος.

6. Επιλέξτε **Review** (Επισκόπηση).
7. **[Προαιρετικά]** Εισαγάγετε τη θέση του προσαρμοσμένου εκκινητή ανάγνωσης και του προσαρμοσμένου εκκινητή ευρετηρίου.
Για πληροφορίες σχετικά με την προετοιμασία και την προσθήκη προσαρμοσμένων εκκινητών, ανατρέξτε στον *Οδηγό προσαρμοσμένων εκκινητών NextSeq 1000 και 2000 (αρ. εγγράφου 1000000139569)*. Φροντίστε να επισκεφθείτε τη σελίδα των συμβατών προϊόντων για το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που διαθέτετε, προκειμένου να ελέγξετε εάν οι προσαρμοσμένοι εκκινητές Illumina είναι απαραίτητοι.
8. **[Προαιρετικά]** Επιλέξτε μια προσαρμοσμένη συνταγή. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα [Αλληλούχιση νυχτερινού κύκλου στη σελίδα 114](#)
Εάν χρησιμοποιείτε το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3 και το κιτ Illumina Stranded Total RNA Prep με Ribo-Zero Plus ή το κιτ Illumina Stranded mRNA Prep, η προσαρμοσμένη συνταγή θα επιλεγεί αυτόματα.
9. **[Προαιρετικά]** Για τη μη αυτόματη αποδιάταξη και αραίωση των βιβλιοθηκών, καταργήστε την επιλογή από το πλαίσιο ελέγχου **Denature and Dilute On Board** (Αποδιάταξη και αραίωση στο όργανο). Ανατρέξτε στον *Οδηγό αποδιάταξης και αραίωσης βιβλιοθηκών σε συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και 2000 (αρ. εγγράφου 1000000139235)*.
Η προεπιλογή διαμορφώνεται στις ρυθμίσεις του λογισμικού ελέγχου NextSeq 1000/2000.
10. **[Προαιρετικά]** Για να αλλάξετε τον φάκελο εξόδου, επιλέξτε το πεδίο Output Folder (Φάκελος εξόδου) και εισαγάγετε μια νέα θέση.

Το πεδίο Output Folder (Φάκελος εξόδου) συμπληρώνεται αυτόματα από τις προεπιλεγμένες ρυθμίσεις σας και είναι υποχρεωτικό εκτός αν έχει επιλεγθεί το Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση).

Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), στο στοιχείο Save to BaseSpace Sequence Hub (Αποθήκευση στο BaseSpace Sequence Hub) θα εμφανίζεται η ένδειξη Enabled (Ενεργοποιημένο).

Εάν έχετε επιλέξει Proactive and Run Monitoring (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης), στο στοιχείο Save to BaseSpace Sequence Hub (Αποθήκευση στο BaseSpace Sequence Hub) θα εμφανίζεται η ένδειξη Disabled (Απενεργοποιημένο).

11. Ελέγξτε τις πληροφορίες εκτέλεσης και κατόπιν επιλέξτε **Prep** (Προετοιμασία).

Έναρξη εκτέλεσης σε λειτουργία Standalone (Αυτόνομη λειτουργία)

1. Διαμορφώστε τη λειτουργία εκτέλεσης, όπως περιγράφεται στην ενότητα [Διαμόρφωση λειτουργίας εκτέλεσης στη σελίδα 21](#).
2. Επιλέξτε **Start** (Έναρξη).
3. Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση) ή Proactive and Run Monitoring (Προληπτική παρακολούθηση και παρακολούθηση εκτέλεσης), εισαγάγετε τα διαπιστευτήρια για την είσοδό σας στο BaseSpace Sequence Hub και κατόπιν επιλέξτε **Sign In** (Είσοδος).
4. Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), επιλέξτε την ομάδα εργασίας BaseSpace Sequence Hub για να αποθηκεύσετε την εκτέλεση και κατόπιν επιλέξτε **Next** (Επόμενο).
5. Επιλέξτε **Set Up New Run** (Ρύθμιση νέας εκτέλεσης).
6. Στο πεδίο Run Name (Όνομα εκτέλεσης) εισαγάγετε ένα μοναδικό όνομα που προτιμάτε για τον προσδιορισμό της τρέχουσας εκτέλεσης.
Το όνομα της εκτέλεσης μπορεί να περιέχει αλφαριθμητικούς χαρακτήρες, παύλες και κάτω παύλες.
7. Για τον τύπο ανάγνωσης, επιλέξτε πόσες αναγνώσεις αλληλούχισης πρέπει να πραγματοποιηθούν:
 - **Single Read** (Αλληλούχιση ενός άκρου)—Πραγματοποιείται μία ανάγνωση. Είναι η απλούστερη και ταχύτερη επιλογή.
 - **Paired End** (Αλληλούχιση συζευγμένων άκρων)—Πραγματοποιούνται δύο αναγνώσεις, η ομοφωνία των οποίων παράγει δεδομένα υψηλότερης ποιότητας και παρέχει ακριβέστερη ευθυγράμμιση.

8. Εισαγάγετε τον αριθμό των κύκλων που θα εκτελεστούν σε κάθε ανάγνωση:
Δεν υπάρχει μέγιστος αριθμός κύκλων ευρετηρίου, αλλά το άθροισμα των κύκλων ανάγνωσης και των κύκλων ευρετηρίου πρέπει να είναι μικρότερο από τον αριθμό των κύκλων που υποδεικνύονται στην ετικέτα της κασέτας συν 27.

Read 1 (Ανάγνωση 1)—Εισαγάγετε **1–151** κύκλους.

Index 1 (Ευρετήριο 1)—Εισαγάγετε τον αριθμό των κύκλων για τον εκκινητή του Ευρετηρίου 1 (i7). Για μια εκτέλεση μόνο με PhiX, εισαγάγετε **0** και στα δύο πεδία ευρετηρίου.

Index 2 (Ευρετήριο 2)—Εισαγάγετε τον αριθμό των κύκλων για τον εκκινητή του Ευρετηρίου 2 (i5).

Read 2 (Ανάγνωση 2)—Εισαγάγετε μέχρι **151** κύκλους. Αυτή η τιμή είναι συνήθως η ίδια με την τιμή της Ανάγνωσης 1.

9. Εάν έχετε επιλέξει Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση), επιλέξτε **Choose...** (Επιλογή...) για να εισαγάγετε ένα φύλλο δείγματος.

Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3 εντοπίζει αυτόματα την έκδοση του DRAGEN από το φύλλο δείγματος και σας ζητά να αλλάξετε εκδόσεις, εάν χρειάζεται. Η έκδοση του DRAGEN πρέπει να είναι εγκατεστημένη στο σύστημα. Για πληροφορίες σχετικά με την εγκατάσταση, ανατρέξτε στην ενότητα [Ενημερώσεις λογισμικού στη σελίδα 84](#).

i | Το επιλεγμένο φύλλο δείγματος πρέπει να είναι σε μορφή v2. Για να δημιουργήσετε ένα φύλλο δείγματος σε μορφή v2, πραγματοποιήστε λήψη του δημιουργημένου φύλλου δείγματος από το Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub ή επεξεργαστείτε ένα πρότυπο φύλλο δείγματος σε μορφή v2 που παρέχεται στη σελίδα υποστήριξης του συστήματος NextSeq 1000/2000. Ανατρέξτε στην ενότητα [Ρυθμίσεις φύλλου δείγματος v2 στη σελίδα 97](#) για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη μορφή v2 και τις απαιτήσεις των φύλλων δείγματος. Βεβαιωθείτε ότι τα αρχεία που αναφέρονται στο φύλλο δείγματος βρίσκονται στον ίδιο φάκελο με το φύλλο δείγματος.

10. **[Προαιρετικά]** Εισαγάγετε τη θέση του προσαρμοσμένου εκκινητή ανάγνωσης και του προσαρμοσμένου εκκινητή ευρετηρίου.

Για πληροφορίες σχετικά με την προετοιμασία και την προσθήκη προσαρμοσμένων εκκινητών, ανατρέξτε στον *Οδηγό προσαρμοσμένων εκκινητών NextSeq 1000 και 2000* (αρ. εγγράφου 1000000139569). Φροντίστε να επισκεφθείτε τη σελίδα των συμβατών προϊόντων για το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που διαθέτετε, προκειμένου να ελέγξετε εάν οι προσαρμοσμένοι εκκινητές Illumina είναι απαραίτητοι.

11. **[Προαιρετικά]** Επιλέξτε μια προσαρμοσμένη συνταγή. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα [Αλληλούχηση νυχτερινού κύκλου στη σελίδα 114](#)

12. **[Προαιρετικά]** Για τη μη αυτόματη αποδιάταξη και αραιώση των βιβλιοθηκών, καταργήστε την επιλογή από το πλαίσιο ελέγχου **Denature and Dilute On Board** (Αποδιάταξη και αραιώση στο όργανο). Ανατρέξτε στον *Οδηγό αποδιάταξης και αραιώσης βιβλιοθηκών σε συστήματα αλληλούχησης NextSeq 1000 και 2000* (αρ. εγγράφου 1000000139235).

Η προεπιλογή διαμορφώνεται στις ρυθμίσεις του λογισμικού ελέγχου NextSeq 1000/2000.

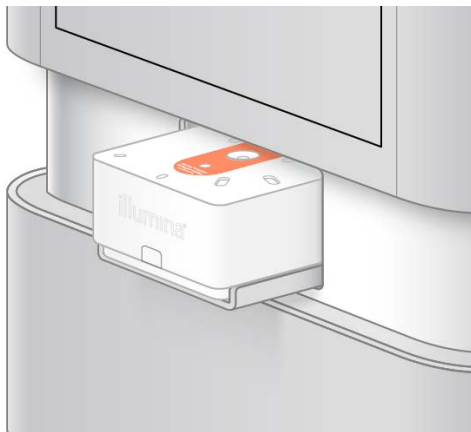
13. **[Προαιρετικά]** Για να αλλάξετε τον φάκελο εξόδου, επιλέξτε το πεδίο Output Folder (Φάκελος εξόδου) και εισαγάγετε μια νέα θέση.

Το πεδίο Output Folder (Φάκελος εξόδου) συμπληρώνεται αυτόματα από τις προεπιλεγμένες ρυθμίσεις σας και είναι υποχρεωτικό εκτός αν έχει επιλεγθεί το Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση).

14. Επιλέξτε **Prep** (Προετοιμασία).

Φόρτωση των αναλωσίμων στο όργανο


1. Βεβαιωθείτε ότι η κασέτα έχει προηγουμένως αποψυχθεί και έχει αναποδογυριστεί 10 φορές για να γίνει ανάμειξη πριν από τη φόρτωση της κυψελίδας ροής (η γκρι γλωττίδα αφαιρέθηκε) και της αραιωμένης βιβλιοθήκης.
2. Επιλέξτε **Load** (Φόρτωση).
Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 ανοίγει το προστατευτικό κάλυμμα και εξάγεται ο δίσκος.
3. Τοποθετήστε την κασέτα στον δίσκο με την ετικέτα στραμμένη προς τα επάνω και την κυψελίδα ροής εντός του οργάνου. Ωθείστε την κασέτα προς τα μέσα μέχρι να κλειδώσει στη θέση της.



4. Επιλέξτε **Close** (Κλείσιμο) για να εισαχθεί η κασέτα και να κλείσει το προστατευτικό κάλυμμα. Το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 εμφανίζει τις πληροφορίες από τα σαρωμένα αναλώσιμα μετά από ~3 λεπτά.
5. **[Προαιρετικά]** Επιλέξτε **Eject Cartridge** (Εξαγωγή κασέτας) για να αφαιρεθεί η κασέτα. Το προστατευτικό κάλυμμα θα ανοίξει μετά από 1 λεπτό και θα εξαχθεί η κασέτα.
6. Επιλέξτε **Sequence** (Αλληλουχία).

Έλεγχοι πριν από την εκτέλεση

Οι έλεγχοι πριν από την εκτέλεση περιλαμβάνουν τον έλεγχο του οργάνου που ακολουθείται από τον έλεγχο των υδραυλικών. Κατά τον έλεγχο των υδραυλικών διαρρηγνύεται η στεγανοποίηση της κασέτας και ακούγονται τρεις-τέσσερις κρότοι από το όργανο. Αυτό είναι αναμενόμενο. Το αντιδραστήριο έχει διέλθει πλέον από την κυψελίδα ροής.

 Τα αναλώσιμα δεν μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν από τη στιγμή που ξεκινήσει ο έλεγχος των υδραυλικών.

1. Περιμένετε περίπου 15 λεπτά για να ολοκληρωθούν οι έλεγχοι πριν από την εκτέλεση. Η εκτέλεση αρχίζει αυτόματα μετά την επιτυχή ολοκλήρωση.
2. Εάν εμφανιστεί κάποιο σφάλμα κατά τη διάρκεια του ελέγχου του οργάνου, επιλέξτε **Retry** (Επανάληψη) για να επαναλάβετε τον έλεγχο. Όταν κάποιος έλεγχος είναι σε εξέλιξη, απεικονίζεται ένας κύκλος για αυτόν τον έλεγχο.
3. Για την αντιμετώπιση επαναλαμβανόμενων σφαλμάτων, ανατρέξτε στην ενότητα [Επίλυση μηνυμάτων σφάλματος στη σελίδα 90](#).

Παρακολούθηση της εξέλιξης της εκτέλεσης

1. Παρακολουθήστε την εξέλιξη της εκτέλεσης και τις τιμές μέτρησης καθώς εμφανίζονται στην οθόνη Sequencing (Αλληλούχηση).
 - **Estimated run completion** (Εκτίμηση ολοκλήρωσης εκτέλεσης)—Η ημερομηνία και η ώρα ολοκλήρωσης της εκτέλεσης κατά προσέγγιση. Η μέτρηση της εκτιμώμενης ολοκλήρωσης της εκτέλεσης απαιτεί 10 προηγούμενες εκτελέσεις για τον υπολογισμό του χρόνου ολοκλήρωσης της εκτέλεσης με ακρίβεια.
 - **Average %Q30** (Μέσος όρος %Q30)—Ο μέσος όρος του ποσοστού των αντιστοιχισμένων βάσεων με βαθμολογία ποιότητας (Q-score) ≥ 30 .
 - **Projected Yield** (Προβαλλόμενη απόδοση)—Ο αναμενόμενος αριθμός των αντιστοιχισμένων βάσεων για την εκτέλεση.
 - **Total Reads PF** (Συνολικές αναγνώσεις PF)—Ο αριθμός των συστάδων αλληλούχησης συζευγμένων άκρων (εάν ισχύει) που διέρχονται από το φίλτρο (σε εκατομμύρια).
 - **Real Time Demux** (Αποπολύπλεξη σε πραγματικό χρόνο)—Η κατάσταση της αποπολύπλεξης όταν εκκινείται στην αρχή της Ανάγνωσης 2 μετά την ολοκλήρωση των κύκλων Ανάγνωσης 1, Ευρετηρίου 1 και Ευρετηρίου 2. Στην κατάσταση θα εμφανίζεται η ένδειξη Complete (Ολοκληρωμένη) ακόμη και αν οι κύκλοι ευρετηρίου δεν εκτελούνται. Δεν είναι διαθέσιμο για εκτελέσεις σε λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους).
 - **Real Time Alignment** (Ευθυγράμμιση σε πραγματικό χρόνο)—Η κατάσταση της ευθυγράμμισης της Ανάγνωσης 1 όταν εκκινείται στην αρχή της Ανάγνωσης 2 μετά την ολοκλήρωση των κύκλων Ανάγνωσης 1, Ευρετηρίου 1 και Ευρετηρίου 2. Δεν είναι διαθέσιμο για εκτελέσεις σε λειτουργία Cloud (Λειτουργία νέφους).

Το Q30 και οι παραγόμενες τιμές μέτρησης εμφανίζονται μετά τον κύκλο 26 (~6 ώρες μετά την έναρξη της εκτέλεσης).

2. Για να παρακολουθήσετε τις διαδικασίες εκτέλεσης, επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **Process Management** (Διαχείριση διαδικασίας).
3. Για να ακυρώσετε μια εκτέλεση, επιλέξτε **End Run** (Τερματισμός εκτέλεσης). Ανατρέξτε στην ενότητα **Ακύρωση εκτέλεσης στη σελίδα 91** (Ακύρωση εκτέλεσης) για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ακύρωση των εκτελέσεων.
4. Εκφορτώστε τα αναλώσιμα από το όργανο. Αφαιρέστε την κασέτα από το όργανο εντός 3 ημερών.

Εκφόρτωση αναλωσίμων

1. Όταν ολοκληρωθεί η αλληλούχηση, επιλέξτε **Eject Cartridge** (Εξαγωγή κασέτας). Το λογισμικό εξάγει την χρησιμοποιημένη κασέτα από το όργανο.
2. Αφαιρέστε την κασέτα από τον δίσκο.
3. Αφαιρέστε την κυψελίδα ροής από την κασέτα.
4. Απορρίψτε την κυψελίδα ροής, η οποία περιέχει ηλεκτρονικά εξαρτήματα, σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα για την περιοχή σας.
5. [Προαιρετικά] Αφαιρέστε το πώμα αποστράγγισης, το οποίο βρίσκεται κάτω από το λογότυπο της Illumina στην πλευρά της κασέτας, πάνω από κατάλληλο χώρο (δηλαδή, νιπτήρα ή δοχείο επικίνδυνων υγρών αποβλήτων) με το πώμα στραμμένο οριζόντια ή προς τα κάτω και μακριά από το πρόσωπό σας. Αποστραγγίστε τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια, σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα για την περιοχή σας. Ο χρόνος αποστράγγισης εξαρτάται από το μέγεθος της κασέτας εφόσον δεν έχει ενεργοποιηθεί η αυτόματη εκκαθάριση των αντιδραστηρίων.



Το συγκεκριμένο σετ αντιδραστηρίων περιέχει δυνητικά επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η εισπνοή, η κατάποση και η επαφή με το δέρμα ή τα μάτια μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό. Φοράτε προστατευτικό εξοπλισμό, συμπεριλαμβανομένου εξοπλισμού προστασίας για τα μάτια, γάντια και εργαστηριακή ποδιά, κατάλληλο για τον κίνδυνο έκθεσης. Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως χημικά απόβλητα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες περιφερειακούς, εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το περιβάλλον, την υγεία και την ασφάλεια, ανατρέξτε στο SDS, στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

6. Απορρίψτε την κασέτα των αντιδραστηρίων.
Δεν απαιτείται πλύση μετά την εκτέλεση, επειδή τα υδραυλικά απορρίπτονται μαζί με την κασέτα.
7. Επιλέξτε **Close Door** (Κλείσιμο θύρας) για την επαναφόρτωση του δίσκου και την επιστροφή στην αρχική οθόνη.
Το λογισμικό επαναφορτώνει αυτόματα τον δίσκο και οι αισθητήρες επιβεβαιώνουν την αφαίρεση της κασέτας.

Καθαρισμός του δίσκου κασέτας

Ο καθαρισμός του δίσκου της κασέτας είναι απαραίτητος μόνο εφόσον έχει διαρρεύσει αντιδραστήριο στον δίσκο της κασέτας.

1. Αφαιρέστε την κασέτα από το όργανο.
2. Φορέστε ένα νέο ζευγάρι γαντιών χωρίς πούδρα και τυχόν επιπρόσθετο προστατευτικό εξοπλισμό.
3. Ψεκάστε ένα πανί με διάλυμα καθαριστικού 10%.
4. Σκουπίστε τον δίσκο της κασέτας με το πανί και κατόπιν αφαιρέστε αμέσως το διάλυμα καθαριστικού χρησιμοποιώντας ένα ανθεκτικό μαντηλάκι.
Το καθαριστικό θα αφήσει κηλίδες στον δίσκο της κασέτας εάν δεν αφαιρεθεί αμέσως.
5. Ψεκάστε διάλυμα αιθανόλης 70% στον δίσκο της κασέτας και αφαιρέστε το αμέσως χρησιμοποιώντας ένα ανθεκτικό μαντηλάκι.
6. Τοποθετήστε τον δίσκο της κασέτας ξανά στη θέση φόρτωσης.

Δεδομένα εξόδου αλληλούχησης

Στην παρούσα ενότητα περιγράφεται το λογισμικό Real-Time Analysis, το οποίο πραγματοποιεί αντιστοίχιση βάσης, εκχωρεί βαθμολογίες ποιότητας και παράγει δεδομένα. Θα μάθετε σχετικά με τους διαφορετικούς τύπους αρχείων εξόδου και τη θέση στην οποία βρίσκονται μετά την εκτέλεση.

Επισκόπηση Real-Time Analysis

Τα συστήματα αλληλούχησης NextSeq 1000 και NextSeq 2000 εκτελούν το RTA3, μια εφαρμογή του λογισμικού Real-Time Analysis, στο Compute Engine (CE) του οργάνου. Το RTA3 εξάγει εντάσεις από τις εικόνες που λαμβάνονται από την κάμερα, πραγματοποιεί αντιστοίχιση βάσης, εκχωρεί βαθμολογία ποιότητας στις αντιστοιχισίες βάσης, πραγματοποιεί ευθυγράμμιση ως προς το PhiX και αναφέρει δεδομένα σε αρχεία InterOp για προβολή στο λογισμικό ελέγχου του οργάνου.

Για τη βελτίωση του χρόνου επεξεργασίας, το RTA3 αποθηκεύει πληροφορίες στη μνήμη. Εάν το RTA3 τερματιστεί, η επεξεργασία δεν θα συνεχιστεί και θα χαθούν τα δεδομένα εκτέλεσης που υποβάλλονται σε επεξεργασία στη μνήμη.

Δεδομένα εισόδου του RTA3

Το RTA3 απαιτεί εικονίδια πλακιδίων που περιέχονται στην τοπική μνήμη του συστήματος για επεξεργασία. Το RTA3 λαμβάνει τις πληροφορίες και τις εντολές εκτέλεσης από το λογισμικό ελέγχου.

Δεδομένα εξόδου του RTA3

Οι εικόνες για κάθε έγχρωμο κανάλι περνιούνται στη μνήμη του RTA3 ως πλακίδια. Από αυτές τις εικόνες, το RTA3 εξάγει ένα σύνολο αρχείων αντιστοίχισης βάσης, βαθμολογημένων ως προς την ποιότητα, και αρχείων φίλτρου. Όλα τα υπόλοιπα δεδομένα εξόδου υποστηρίζουν τα αρχεία εξόδου.

Τύπος αρχείου	Περιγραφή
Αρχεία αντιστοίχισης βάσης	Κάθε πλακίδιο που αναλύεται περιλαμβάνεται σε ένα συνενωμένο αρχείο αντιστοίχισης βάσης (*.cbcl). Τα πλακίδια από την ίδια λωρίδα και επιφάνεια συγκεντρώνονται σε 1 αρχείο *.cbcl για κάθε λωρίδα και επιφάνεια.
Αρχεία φίλτρου	Κάθε πλακίδιο παράγει ένα αρχείο φίλτρου (*.filter) που καθορίζει εάν μια συστάδα διέρχεται από τα φίλτρα.

Τύπος αρχείου	Περιγραφή
Αρχεία θέσεων συστάδων	Τα αρχεία θέσης συστάδας (*.locs) περιέχουν τις συντεταγμένες X,Y για κάθε συστάδα σε ένα πλακίδιο. Αρχείο θέσης συστάδας δημιουργείται για κάθε εκτέλεση.

Τα αρχεία εξόδου χρησιμοποιούνται για μεταγενέστερη ανάλυση στο DRAGEN και στο BaseSpace Sequence Hub.

Χειρισμός σφαλμάτων

Το RTA3 δημιουργεί αρχεία καταγραφής και τα εγγράφει στον φάκελο Logs (Αρχεία καταγραφής). Τα σφάλματα καταγράφονται σε ένα αρχείο κειμένου μορφής *.log.

Τα παρακάτω αρχεία καταγραφής μεταφέρονται στον τελικό προορισμό εξόδου στο τέλος της επεξεργασίας:

Το αρχείο `info_00000.log` συνοψίζει σημαντικά συμβάντα εκτέλεσης.

Το αρχείο `error_00000.log` περιλαμβάνει τα σφάλματα που εμφανίστηκαν κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.

Το αρχείο `warning_00000.log` περιλαμβάνει τις προειδοποιήσεις που εμφανίστηκαν κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.

Πλακίδια κυψελίδας ροής

Τα πλακίδια είναι μικρές περιοχές απεικόνισης στην κυψελίδα ροής. Η κάμερα λαμβάνει μία εικόνα ανά πλακίδιο.

Η κυψελίδα ροής NextSeq 1000/2000 P2 έχει συνολικά 132 πλακίδια. Η κυψελίδα ροής NextSeq 1000/2000 P3 έχει συνολικά 264 πλακίδια.

Πίνακας 5 Πλακίδια κυψελίδας ροής

Στοιχείο κυψελίδας ροής	Κυψελίδα ροής NextSeq 1000/2000 P2	Κυψελίδα ροής NextSeq 1000/2000 P3	Περιγραφή
Λωρίδες	1	2	Οι λωρίδες είναι οπτικά διακριτές, αλλά όχι υδραυλικά ξεχωριστά κανάλια.
Επιφάνειες	2	2	Οι κυψελίδες ροής P2 και P3 απεικονίζονται σε δύο επιφάνειες: την επάνω και την κάτω. Η επάνω επιφάνεια ενός πλακιδίου απεικονίζεται πρώτη.

Στοιχείο κυψελίδας ροής	Κυψελίδα ροής NextSeq 1000/2000 P2	Κυψελίδα ροής NextSeq 1000/2000 P3	Περιγραφή
Ζώνες ανά λωρίδα	6	6	Η ζώνη είναι μια στήλη σε μια λωρίδα κυψελίδα ροής.
Πλακίδια ανά ζώνες	11	11	Το πλακίδιο είναι ένα τμήμα μιας ζώνης και αναπαριστά μια απεικονισμένη περιοχή στην κυψελίδα ροής.
Σύνολο πλακιδίων που δημιουργήθηκαν	132	264	Το γινόμενο λωρίδες × επιφάνειες × ζώνες × πλακίδια ανά ζώνη ισοδυναμεί με τον συνολικό αριθμό των πλακιδίων.

Ονομασία πλακιδίων

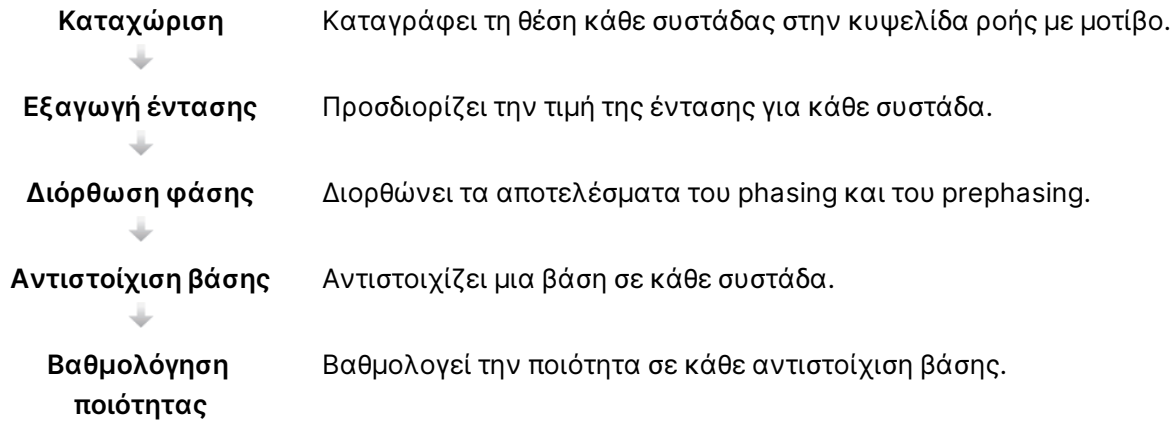
Το όνομα του πλακιδίου είναι ένας τετραψήφιος αριθμός που αντιπροσωπεύει τη θέση του πλακιδίου στην κυψελίδα ροής. Για παράδειγμα, το όνομα πλακιδίου 1205 υποδεικνύει την επάνω επιφάνεια, τη ζώνη 2, το πλακίδιο 05.

Το πρώτο ψηφίο αντιπροσωπεύει την επιφάνεια: 1 για επάνω ή 2 για κάτω.

Το δεύτερο ψηφίο αντιπροσωπεύει τον αριθμό της ζώνης: 1, 2, 3, 4, 5 ή 6.

Τα δύο τελευταία ψηφία αντιπροσωπεύουν τον αριθμό πλακιδίου. Για αριθμούς ζώνης 1-4, η αρίθμηση ξεκινά με 01 στο άκρο εξόδου της κυψελίδας ροής μέχρι 11 στο άκρο εισόδου. Για αριθμούς ζώνης 5-6, η αρίθμηση ξεκινά με 01 στο άκρο εισόδου και 11 στο άκρο εξόδου.

Ροή εργασιών Real-Time Analysis



Καταχώριση

Η καταχώριση ευθυγραμμίζει μια εικόνα ως προς την περιστραμμένη τετράγωνη συστοιχία των νανοβοθρίων στην κυψελίδα ροής με μοτίβο. Λόγω της οργανωμένης διάταξης των νανοβοθρίων, οι συντεταγμένες X και Y για κάθε συστάδα ενός πλακιδίου είναι προκαθορισμένες. Οι θέσεις των συστάδων αναγράφονται σε ένα αρχείο θέσεων συστάδων (s.locs) για κάθε εκτέλεση.

Εάν αποτύχει η καταχώριση για οποιεσδήποτε εικόνες σε έναν κύκλο, δεν δημιουργούνται αντιστοιχίσεις βάσης για το συγκεκριμένο πλακίδιο στον συγκεκριμένο κύκλο. Χρησιμοποιήστε το Πρόγραμμα προβολής ανάλυσης αλληλούχισης για να προσδιορίσετε τις εικόνες για τις οποίες απέτυχε η καταχώριση.

Εξαγωγή έντασης

Μετά την καταχώριση, η εξαγωγή έντασης υπολογίζει την τιμή της έντασης για κάθε νανοβοθρίο σε μια δεδομένη εικόνα. Εάν αποτύχει η καταχώριση, δεν θα είναι δυνατή η εξαγωγή της έντασης για το συγκεκριμένο πλακίδιο.

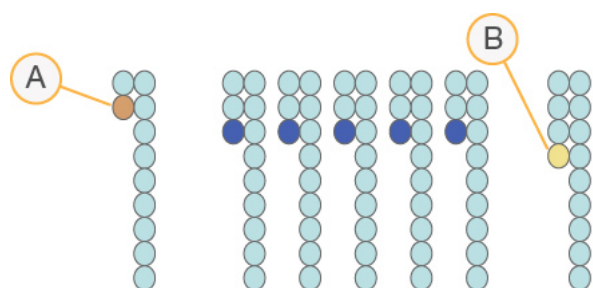
Διόρθωση φάσης

Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης αλληλούχισης, κάθε αλυσίδα DNA σε μια συστάδα επιμηκύνεται κατά μία βάση ανά κύκλο. Το phasing (καθυστέρηση βάσης) και το prephasing (προχώρηση βάσης) συμβαίνουν όταν μια αλυσίδα βρίσκεται εκτός φάσης στον τρέχοντα κύκλο ενσωμάτωσης.

Το phasing (καθυστέρηση βάσης) συμβαίνει όταν η επιμήκυνση καθυστερεί κατά μία βάση.

Το prephasing (προχώρηση βάσης) συμβαίνει όταν η επιμήκυνση προηγείται κατά μία βάση.

Εικόνα 5 Phasing και Prephasing



- A. Ανάγνωση με μια βάση που καθυστερεί
- B. Ανάγνωση με μια βάση που προηγείται.

Το RTA3 διορθώνει τα αποτελέσματα του phasing (καθυστέρηση βάσης) και του prephasing (προχώρηση βάσης) και μεγιστοποιεί την ποιότητα των δεδομένων σε κάθε κύκλο καθ' όλη τη διάρκεια της εκτέλεσης.

Αντιστοίχιση βάσης

Η αντιστοίχιση βάσης αντιστοιχίζει μια βάση (A, C, G ή T) σε κάθε συστάδα ενός δεδομένου πλακιδίου σε έναν συγκεκριμένο κύκλο. Τα συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000 χρησιμοποιούν αλληλούχιση δύο καναλιών, η οποία απαιτεί μόνο δύο εικόνες για την κωδικοποίηση των δεδομένων για τις τέσσερις βάσεις του DNA, μία από το πράσινο κανάλι και μία από το μπλε κανάλι.

Η περίπτωση καμίας αντιστοίχισης προσδιορίζεται ως N. Περίπτωση καμίας αντιστοίχισης προκύπτει όταν μια συστάδα δεν περνά το φίλτρο, αποτυγχάνει η καταχώριση ή μια συστάδα μετακινείται εκτός της εικόνας.

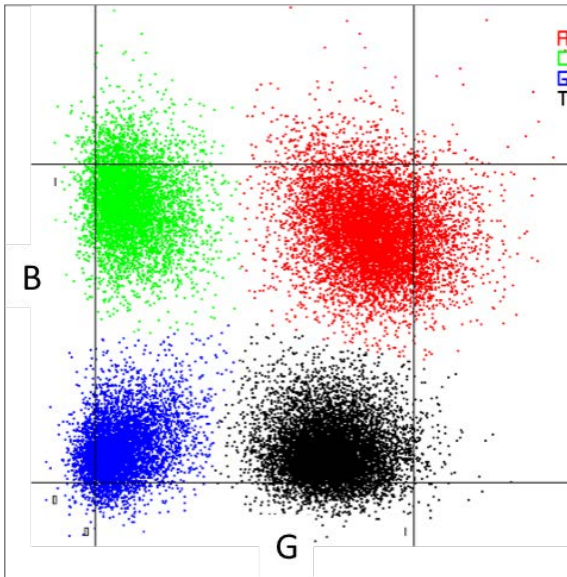
Οι εντάσεις για κάθε συστάδα εξάγονται από την πράσινη και τη μπλε εικόνα και συγκρίνονται μεταξύ τους, με αποτέλεσμα τέσσερις διακριτούς πληθυσμούς. Κάθε πληθυσμός αντιστοιχεί σε μια βάση. Η διαδικασία αντιστοίχισης βάσης προσδιορίζει σε ποιον πληθυσμό ανήκει κάθε συστάδα.

Πίνακας 6 Αντιστοιχίσεις βάσης σε αλληλούχιση δύο καναλιών

Βάση	Πράσινο κανάλι	Μπλε κανάλι	Αποτέλεσμα
A	1 (υπάρχει)	1 (υπάρχει)	Συστάδες που εμφανίζουν ένταση τόσο στο πράσινο όσο και στο μπλε κανάλι.
C	0 (δεν υπάρχει)	1 (υπάρχει)	Συστάδες που εμφανίζουν ένταση μόνο στο μπλε κανάλι.

Βάση	Πράσινο κανάλι	Μπλε κανάλι	Αποτέλεσμα
G	0 (δεν υπάρχει)	0 (δεν υπάρχει)	Συστάδες που δεν εμφανίζουν ένταση σε μια γνωστή θέση συστάδας.
T	1 (υπάρχει)	0 (δεν υπάρχει)	Συστάδες που εμφανίζουν ένταση μόνο στο πράσινο κανάλι.

Εικόνα 6 Απεικόνιση των εντάσεων των συστάδων



i Το χρώμα κάθε συστάδας συσχετίζεται με τα γραφήματα %Base στο Πρόγραμμα προβολής ανάλυσης αλληλούχισης (Sequence Analysis Viewer, SAV) και τα δεδομένα εκτέλεσης κατά κύκλο του BaseSpace Sequence Hub και δεν θα πρέπει να συσχετίζεται με το πράσινο και το μπλε κανάλι.

Φίλτρο διέλευσης συστάδων

Κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης, η RTA3 φιλτράρει τα μη επεξεργασμένα δεδομένα για να αφαιρεθούν οι αναγνώσεις που δεν ικανοποιούν το κατώφλι ποιότητας των δεδομένων. Οι αλληλοεπικαλυπτόμενες και οι χαμηλής ποιότητας συστάδες απομακρύνονται.

Για την ανάλυση δύο καναλιών, η RTA3 χρησιμοποιεί ένα σύστημα βασισμένο στον πληθυσμό για να προσδιορίσει την αγνότητα (μέτρηση της καθαρότητας της έντασης) μιας αντιστοίχισης βάσης. Οι συστάδες διέρχονται από το φίλτρο (pass filter, PF) όταν μόνο μία αντιστοίχιση βάσης στους πρώτους 25 κύκλους έχει αγνότητα κάτω ενός σταθερού κατωφλίου. Όταν συμπεριλαμβάνεται, η

ευθυγράμμιση PhiX πραγματοποιείται στον κύκλο 26 σε ένα υποσύνολο πλακιδίων για συστάδες που διήλθαν από το φίλτρο. Οι συστάδες που δεν διέρχονται από το φίλτρο δεν αντιστοιχίζονται σε βάση και δεν ευθυγραμμίζονται.

Βαθμολογίες ποιότητας

Η βαθμολογία ποιότητας (Q-score) αποτελεί μια πρόβλεψη της πιθανότητας εσφαλμένης αντιστοίχισης βάσης. Ένα υψηλότερο Q-score υποδηλώνει ότι η αντιστοίχιση βάσης είναι υψηλότερης ποιότητας και πιο πιθανό να είναι σωστή. Μετά τον προσδιορισμό του Q-score, τα αποτελέσματα καταγράφονται σε αρχεία αντιστοίχισης βάσης (*.cbcl).

Το Q-score γνωστοποιεί συνοπτικά μικρές πιθανότητες σφάλματος. Οι βαθμολογίες ποιότητας παριστάνονται με Q(X), όπου X είναι η βαθμολογία. Ο ακόλουθος πίνακας δείχνει τη σχέση μεταξύ της βαθμολογίας ποιότητας και της πιθανότητας σφάλματος.

Q-Score Q(X)	Πιθανότητα σφάλματος
Q40	0,0001 (1 σε 10.000)
Q30	0,001 (1 σε 1000)
Q20	0,01 (1 σε 100)
Q10	0,1 (1 σε 10)

Βαθμολόγηση και αναφορά ποιότητας

Η βαθμολόγηση της ποιότητας υπολογίζει ένα σύνολο ανεξάρτητων μεταβλητών για κάθε αντιστοίχιση βάσης και κατόπιν χρησιμοποιεί τις τιμές των μεταβλητών για την εύρεση του Q-score σε έναν πίνακα ποιότητας. Οι πίνακες ποιότητας δημιουργούνται για να παρέχουν προβλέψεις ως προς την ποιότητα με τη βέλτιστη ακρίβεια για εκτελέσεις που δημιουργούνται από μια συγκεκριμένη διαμόρφωση πλατφόρμας αλληλούχησης και έκδοσης χημικής ανάλυσης.



Η βαθμολόγηση της ποιότητας βασίζεται σε μια τροποποιημένη έκδοση του αλγορίθμου Phred.

Για τη δημιουργία του πίνακα ποιότητας για τα συστήματα αλληλούχησης NextSeq 1000 και NextSeq 2000, προσδιορίστηκαν τρεις ομάδες αντιστοιχίσεων βάσης, με βάση τη δημιουργία συστάδων από αυτές τις συγκεκριμένες δυνατότητες πρόβλεψης. Μετά την ομαδοποίηση των αντιστοιχίσεων βάσης, υπολογίστηκε εμπειρικά το μέσο ποσοστό σφάλματος για καθεμία από τις τρεις ομάδες και οι αντίστοιχες βαθμολογίες ποιότητας καταγράφηκαν στον πίνακα ποιότητας δίπλα στις δυνατότητες πρόβλεψης που συσχετίζονταν με τη συγκεκριμένη ομάδα. Επομένως, μόνο τρεις βαθμολογίες ποιότητας είναι δυνατές με το RTA3 και οι συγκεκριμένες βαθμολογίες ποιότητας αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο του ποσοστού σφάλματος της ομάδας ([Απλοποιημένη βαθμολόγηση ποιότητας με το RTA3 στη σελίδα 68](#)). Γενικά, αυτό έχει ως αποτέλεσμα μια απλοποιημένη αλλά πολύ ακριβή βαθμολόγηση ποιότητας. Οι τρεις ομάδες του πίνακα ποιότητας αντιστοιχούν σε οριακές (< Q15), μέτριες (~Q20) και υψηλής ποιότητας (> Q30) αντιστοιχίσεις βάσης και λαμβάνουν αντίστοιχα τις

βαθμολογίες 12, 23 και 37. Επιπλέον, σε οποιαδήποτε μη αντιστοίχιση εκχωρείται η μηδενική βαθμολογία 2. Αυτό το μοντέλο αναφοράς του Q-score μειώνει τις απαιτήσεις χώρου αποθήκευσης και εύρους ζώνης χωρίς να επηρεάζει την ακρίβεια ή την απόδοση.

Εικόνα 7 Απλοποιημένη βαθμολόγηση ποιότητας με το RTA3



Αρχεία εξόδου αλληλούχησης

Τύπος αρχείου	Περιγραφή, θέση και όνομα αρχείου
Συνενωμένα αρχεία αντιστοίχισης βάσης	Κάθε συστάδα που αναλύεται περιλαμβάνεται σε ένα συνενωμένο αρχείο αντιστοίχισης βάσης και όλες οι συστάδες συγκεντρώνονται σε ένα αρχείο ανά κύκλο, λωρίδα και επιφάνεια. Το συγκεντρωτικό αρχείο περιέχει τη συνενωμένη αντιστοίχιση βάσης και την κωδικοποιημένη βαθμολογία ποιότητας για κάθε συστάδα. Τα συνενωμένα αρχεία αντιστοίχισης βάσης χρησιμοποιούνται από το BaseSpace Sequence Hub ή το bcl2fastq2. Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, για παράδειγμα L001_1.cbcl
Αρχεία θέσεων συστάδων	Για κάθε κυψελίδα ροής, ένα δυαδικό αρχείο θέσεων συστάδων περιέχει τις συντεταγμένες XY των συστάδων σε ένα πλακίδιο. Μια εξαγωγική διάταξη που ταιριάζει με τη διάταξη των νανοβοθρίων της κυψελίδας ροής προκαθορίζει τις συντεταγμένες. Data/Intensities s_[lane].locs

Τύπος αρχείου	Περιγραφή, θέση και όνομα αρχείου
Αρχεία φίλτρου	Το αρχείο φίλτρου καθορίζει εάν μια συστάδα διήλθε από τα φίλτρα. Τα αρχεία φίλτρου δημιουργούνται στον κύκλο 26 χρησιμοποιώντας 25 κύκλους δεδομένων. Για κάθε πλακίδιο δημιουργείται ένα αρχείο φίλτρου. Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter
Αρχεία InterOp	Τα δυαδικά αρχεία αναφοράς μπορούν να προβληθούν εντός του οργάνου με το λογισμικό ελέγχου του οργάνου ή εκτός του οργάνου στο SAV ή στο BaseSpace Sequence Hub. Τα αρχεία InterOp ενημερώνονται καθ' όλη τη διάρκεια της εκτέλεσης. Φάκελος InterOp
Αρχείο πληροφοριών εκτέλεσης	Περιλαμβάνει το όνομα της εκτέλεσης, τον αριθμό των κύκλων σε κάθε ανάγνωση, το εάν η ανάγνωση είναι ανάγνωση ευρετηρίου και τον αριθμό των ζωνών και των πλακιδίων στην κυψελίδα ροής. Το αρχείο πληροφοριών εκτέλεσης δημιουργείται κατά την έναρξη της εκτέλεσης. [Root folder], RunInfo.xml

Αρχεία εξόδου δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN

Το DRAGEN Bio-IT Platform αναλύει περαιτέρω τα δεδομένα εξόδου της αλληλούχησης εντός του οργάνου χρησιμοποιώντας μία από τις παρακάτω διαδικασίες ανάλυσης.

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

Στην παρούσα ενότητα παρέχονται πληροφορίες σχετικά με κάθε διαδικασία DRAGEN, συμπεριλαμβανομένων πληροφοριών που αφορούν τα αρχεία εξόδου. Εκτός από τη δημιουργία αρχείων ειδικά για κάθε διαδικασία, το DRAGEN παρέχει μετρήσεις από την ανάλυση σε ένα αρχείο `<sample_name>.metrics.json` καθώς και τις αναφορές που περιγράφονται στην ενότητα [Διαδικασία DRAGEN BCL Convert στη σελίδα 75](#). Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με το DRAGEN ανατρέξτε στη [σελίδα της τοποθεσίας υποστήριξης DRAGEN Bio-IT Platform](#).

Όλες οι διαδικασίες DRAGEN υποστηρίζουν την αποσυμπίεση αρχείων εισόδου BCL και τη συμπίεση αρχείων εξόδου BAM/CRAM.

Ζητήματα που αφορούν τα αρχεία εξόδου:

- Για τις διαδικασίες Germline, RNA, Enrichment και DNA Amplicon που εκτελούν ανάλυση εντός του οργάνου, τα αρχεία BAM δεν θα αποστέλλονται στο BaseSpace Sequence Hub εάν έχει επιλεγθεί το Proactive, Run Monitoring and Storage (Προληπτική παρακολούθηση, παρακολούθηση εκτέλεσης και αποθήκευση).

Διαδικασία DRAGEN Enrichment

Η διαδικασία DRAGEN Enrichment υποστηρίζει τις ακόλουθες δυνατότητες. Εάν χρησιμοποιείται το DRAGEN 3.7 ή νεότερη έκδοση, υποστηρίζονται αμφότερες οι λειτουργίες ανάλυσης βλαστικής σειράς και σωματικής ανάλυσης (μόνο όγκος).

- Αποπολύπλεξη δείγματος
- Αντιστοίχιση και ευθυγράμμιση, συμπεριλαμβανομένων της ταξινόμησης και της επισήμανσης αντιγράφων
- Αντιστοίχιση μικρής παραλλαγής
- Αντιστοίχιση δομικής παραλλαγής

Για πραγματοποιηθεί η αντιστοίχιση παραλλαγής, πρέπει να συμπεριληφθεί ένα αρχείο *.bed στο φύλλο δείγματος ή να καθοριστεί στο Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub. Η αντιστοίχιση δομικής παραλλαγής δημιουργείται μόνο για αναγνώσεις αλληλούχισης συζευγμένων άκρων και για τη λειτουργία ανάλυσης βλαστικής σειράς.

Εάν χρησιμοποιείται το DRAGEN Enrichment έκδοση 3.8 ή νεότερη έκδοση, πρέπει να εισαγάγετε ένα αρχείο τιμής αναφοράς θορύβου για τη βελτίωση της απόδοσης στη λειτουργία σωματικής ανάλυσης. Ανατρέξτε στην ενότητα [Εισαγωγή αρχείων τιμής αναφοράς θορύβου στη σελίδα 19](#).

Η διαδικασία δημιουργεί τα ακόλουθα αρχεία εξόδου.

Στοιχείο	Τύπος	Όνομα αρχείου εξόδου
Αντιστοίχιση/ευθυγράμμιση	BAM ή CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam ή • <sample_name>.cram
Αντιστοίχιση μικρής παραλλαγής	VCF και gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
Αντιστοίχιση δομικής παραλλαγής	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.sv.vcf.gz

* Τα αρχεία εξόδου gVCF είναι διαθέσιμα μόνο στη λειτουργία ανάλυσης βλαστικής σειράς.

Διαδικασία DRAGEN Germline

Η διαδικασία DRAGEN Germline υποστηρίζει τις ακόλουθες δυνατότητες:

- Αποπολύπλεξη δείγματος
- Αντιστοίχιση και ευθυγράμμιση, συμπεριλαμβανομένων της ταξινόμησης και της επισήμανσης αντιγράφων
- Αντιστοίχιση μικρής παραλλαγής
- Αντιστοίχιση δομικής παραλλαγής για αναγνώσεις αλληλούχισης συζευγμένων άκρων
- Αντιγραφή αριθμού αντιστοίχισης παραλλαγής για ανθρώπινα γονιδιώματα
- Επανάληψη επεκτάσεων για ανθρώπινα γονιδιώματα
- Περιοχές ομοζυγωτίας για ανθρώπινα γονιδιώματα
- **[DRAGEN έκδ. 3.8 ή νεότερη έκδοση]** Ανίχνευση CYP2D6

Η αντιστοίχιση δομικής παραλλαγής δημιουργείται μόνο για αναγνώσεις αλληλούχισης συζευγμένων άκρων.

Η διαδικασία δημιουργεί τα ακόλουθα αρχεία εξόδου.

Στοιχείο	Τύπος	Όνομα αρχείου εξόδου
Αντιστοίχιση/ευθυγράμμιση	BAM ή CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam ή • <sample_name>.cram
Αντιστοίχιση μικρής παραλλαγής	VCF και gVCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
Αντιστοιχιστής δομικής παραλλαγής	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.sv.vcf.gz
Αντιγραφή αριθμού παραλλαγών	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.cnv.vcf.gz
Επανάληψη επέκτασης	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.repeats.vcf.gz
Περιοχές ομοζυγωτίας	CSV και BED	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.roh_metrics.csv • <sample_name>.roh.bed
Ανίχνευση CYP2D6	TSV	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.cyp2d6.tsv

Διαδικασία DRAGEN DNA Amplicon

Η διαδικασία DRAGEN υποστηρίζει τις ακόλουθες δυνατότητες:

- Αποπολύπλεξη δείγματος
- Αντιστοίχιση και ευθυγράμμιση, συμπεριλαμβανομένων της ταξινόμησης και της επισήμανσης αντιγράφων

- Αντιστοίχιση μικρής παραλλαγής σε λειτουργία ανάλυσης βλαστικής σειράς ή λειτουργία σωματικής ανάλυσης.

Για πραγματοποιηθεί η αντιστοίχιση παραλλαγής, πρέπει να συμπεριληφθεί ένα αρχείο *.bed στο φύλλο δείγματος ή να καθορισθεί στο Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) στο BaseSpace Sequence Hub.

Η διαδικασία δημιουργεί τα ακόλουθα αρχεία εξόδου.

Στοιχείο	Τύπος	Όνομα αρχείου εξόδου
Αντιστοίχιση/ευθυγράμμιση	BAM ή CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam ή • <sample_name>.cram
Αντιστοίχιση μικρής παραλλαγής	VCF και gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz

* Τα αρχεία εξόδου gVCF είναι διαθέσιμα μόνο στη λειτουργία ανάλυσης βλαστικής σειράς.

Διαδικασία DRAGEN RNA

Η διαδικασία DRAGEN RNA υποστηρίζει τις ακόλουθες δυνατότητες

- Αποπολύπλεξη δείγματος
- Αντιστοίχιση και ευθυγράμμιση, συμπεριλαμβανομένων της ταξινόμησης και της επισήμανσης αντιγράφων
- Ανίχνευση σύντηξης γονιδίων
- Ποσοτικοποίηση μεταγράφου
- [DRAGEN έκδ. 3.8 ή νεότερη έκδοση] Διαφορική έκφραση γονιδίων

Για να δημιουργήσετε αρχεία εξόδου, καθορίστε ένα αρχείο GTF στο φύλλο δείγματος ή βεβαιωθείτε ότι προεπιλεγμένο αρχείο `genes.gtf.gz` υπάρχει μαζί με το γονιδίωμα αναφοράς.

Η διαδικασία δημιουργεί τα ακόλουθα αρχεία εξόδου.

Στοιχείο	Τύπος	Όνομα αρχείου εξόδου	Περιγραφή
Αντιστοίχιση/ευθυγράμμιση	BAM ή CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam ή • <sample_name>.cram 	Αρχείο εξόδου ευθυγράμμισης που πληροί τις προδιαγραφές SAM.

Στοιχείο	Τύπος	Όνομα αρχείου εξόδου	Περιγραφή
Ανίχνευση σύντηξης γονιδίων	Απλό κείμενο	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.fusion_candidates.preliminary <sample_name>.fusion_candidates.final 	<ul style="list-style-type: none"> Υποψήφιας σύντηξης πριν από την εφαρμογή των φίλτρων. Υποψήφιας σύντηξης μετά την εφαρμογή των φίλτρων.
Ποσοτικοποίηση μεταγράφου	Απλό κείμενο	<ul style="list-style-type: none"> sample_name.quant.genes.sf sample_name.quant.sf 	<ul style="list-style-type: none"> Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης μεταγράφου στο επίπεδο του γονιδίου. Όλα τα αποτελέσματα ποσοτικοποίησης μεταγράφου.
Διαφορική έκφραση	PNG	Ανατρέξτε στον παρακάτω πίνακα αρχείων εξόδου διαφορικής έκφρασης.	Για τη δημιουργία αρχείων εξόδου, πρέπει να ρυθμιστεί μια σύγκριση στο φύλλο δείγματος.

Τα παρακάτω αρχεία είναι αρχεία εξόδου όταν είναι ενεργοποιημένη η διαφορική έκφραση.

Όνομα αρχείου	Περιγραφή
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	Περιέχει μετρήσεις ανάλυσης διαφορικής έκφρασης.
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	Περιγράφει τον αριθμό των αναγνώσεων που αντιστοιχίζονται σε κάθε γονίδιο για κάθε δείγμα στην ομάδα ελέγχου και στην ομάδα σύγκρισης.

Όνομα αρχείου	Περιγραφή
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	Θερμική αντιστοίχιση της έκφρασης των διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων για δείγματα στην ομάδα ελέγχου και στην ομάδα σύγκρισης. Η θερμική αντιστοίχιση δείχνει μόνο διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια με προσαρμοσμένη τιμή $P < -0,05$. Εάν υπάρχουν περισσότερα από 30 διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια, χρησιμοποιούνται μόνο τα πρώτα 30 διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια. Εάν το DESeq1 αποτύχει να συγκλίνει ή εάν δεν υπάρχουν διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια, το αρχείο δεν δημιουργείται.
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	Περιέχει την απόκλιση των λόγων της έκφρασης των γονιδίων ως συνάρτηση της μέσης έντασης σήματος. Για την εμφάνιση των διαφορών μεταξύ των μετρήσεων που λαμβάνονται σε δύο δείγματα, το γράφημα μετασχηματίζει τα δεδομένα στις κλίμακες M (λογαριθμικός λόγος) και A (μέση τιμή), και στη συνέχεια αποτυπώνονται γραφικά οι τιμές. Το γράφημα MA εμφανίζει τις λογαριθμημένες με βάση το 2 μεταβολές (log2 fold changes) που μπορούν να αποδοθούν σε μια δεδομένη μεταβλητή στη μέση τιμή των κανονικοποιημένων μετρήσεων για όλα τα δείγματα. Εάν η προσαρμοσμένη τιμή P είναι μικρότερη από 0,1, τα σημεία είναι κόκκινα. Τα σημεία που βρίσκονται έξω από το παράθυρο απεικονίζονται στο γράφημα ως ανοιχτά τρίγωνα. Τα τρίγωνα των οποίων η κορυφή είναι στραμμένη προς τα πάνω αντιπροσωπεύουν μια θετική λογαριθμημένη μεταβολή. Τα τρίγωνα των οποίων η κορυφή είναι στραμμένη προς τα κάτω αντιπροσωπεύουν μια αρνητική λογαριθμημένη μεταβολή.
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	Το γράφημα εμφανίζει τα πρώτα δύο βασικά στοιχεία που εξηγούν τη μεγαλύτερη διακύμανση.

Όνομα αρχείου	Περιγραφή
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	Περιέχει τα αποτελέσματα DESeq2, τα οποία περιγράφουν τη μέση έκφραση, τη λογαριθμημένη με βάση το 2 μεταβολή [\log_2 (fold change)], το τυπικό σφάλμα του λογαρίθμου με βάση το 2, την τιμή P, την προσαρμοσμένη τιμή P και την κατάσταση της έκφρασης κάθε γονιδίου.
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	Περιέχει κανονικοποιημένες, μετασχηματισμένες λογαριθμικά μετρήσεις που υπολογίζονται από το DESeq2.

Διαδικασία DRAGEN Single Cell RNA

Το DRAGEN υποστηρίζει τις ακόλουθες δυνατότητες:

- Αποπολύπλεξη δείγματος
- Αντιστοίχιση και ευθυγράμμιση, συμπεριλαμβανομένων της ταξινόμησης και της επισήμανσης αντιγράφων
- Ταξινόμηση κυττάρων και γονιδίων

Για να δημιουργήσετε αρχεία εξόδου, καθορίστε ένα αρχείο GTF στο φύλλο δείγματος ή βεβαιωθείτε ότι προεπιλεγμένο αρχείο `genes.gtf.gz` υπάρχει μαζί με το γονιδίωμα αναφοράς.

Η διαδικασία δημιουργεί τα ακόλουθα αρχεία εξόδου.

Στοιχείο	Τύπος	Όνομα αρχείου εξόδου
Αντιστοίχιση/ευθυγράμμιση	BAM ή CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.bam</code> ή • <code><sample_name>.cram</code>
Ταξινόμηση κυττάρων/γονιδίων	TSV, CSV και MTX	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.scRNA.barcodeSummary.tsv</code> • <code><sample_name>.scRNA.genes.tsv</code> • <code><sample_name>.scRNA.matrix.mtx</code>
Αναφορές ανάλυσης	HTML	<code><sample_name>.dragen.scrna-report.*.html</code>

Διαδικασία DRAGEN BCL Convert

Η διαδικασία DRAGEN BCL Convert χρησιμοποιεί δεδομένα BCL που δημιουργούνται από την εκτέλεση αλληλούχησης και τις πληροφορίες του φύλλου δείγματος για την έξοδο ενός αρχείου FASTQ για κάθε δείγμα. Το όνομα του αρχείου FASTQ είναι `<sample_name>.fastq.gz`.

Η διαδικασία δημιουργεί τις ακόλουθες αναφορές.

Στοιχείο	Τύπος	Όνομα αρχείου εξόδου
Αποπολύπλεξη	CSV	• Demultiplex_Stats.csv
Μετρήσεις προσαρμογέα	CSV	• Adapter_Metrics.csv
Αλλαγή ευρετηρίου	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv
Πρώτοι άγνωστοι γραμμωτοί κωδικοί	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv

Αναφορά στατιστικών στοιχείων αποπολύπλεξης

Η αναφορά στατιστικών στοιχείων αποπολύπλεξης περιέχει πληροφορίες σχετικά με τον αριθμό των αναγνώσεων φίλτρου διέλευσης, οι οποίες εκχωρούνται σε κάθε δείγμα του φύλλου δειγμάτων. Οι αναγνώσεις που δεν σχετίζονται σαφώς με ένα δείγμα ταξινομούνται ως απροσδιόριστες. Η αναφορά περιλαμβάνει επίσης πληροφορίες σχετικά με τις βαθμολογίες ποιότητας των βάσεων στις αναγνώσεις φίλτρου διέλευσης (PF) που είναι εκχωρημένες σε κάθε δείγμα.

Περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες.

Μέτρηση	Περιγραφή
Lane	Η λωρίδα της κυψελίδας ροής στην οποία το δείγμα υποβλήθηκε σε αλληλούχιση.
SampleID	Το αναγνωριστικό του δείγματος από το φύλλο δείγματος. Εάν μια ανάγνωση δεν αντιστοιχεί σε ένα δείγμα, στο πεδίο εμφανίζεται η ένδειξη <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).
Index	Η συνένωση της ανάγνωσης ευρετηρίου 1 και της ανάγνωσης ευρετηρίου 2 από το φύλλο δείγματος, χωρισμένες με παύλα. Εάν μια ανάγνωση δεν αντιστοιχεί σε ένα δείγμα, στο πεδίο εμφανίζεται η ένδειξη <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).
# Reads	Ο αριθμός των αναγνώσεων PF που έχουν υποστεί αποπολύπλεξη για το δείγμα στην καθορισμένη λωρίδα.
# Perfect Index Reads	Ο αριθμός των αναγνώσεων με τέλεια αντιστοίχιση με τις συνδυασμένες αλληλουχίες ευρετηρίου που καθορίζονται στο φύλλο δείγματος.
# One Mismatch Index Reads	Ο αριθμός των αναγνώσεων με ένα σφάλμα στις συνδυασμένες αλληλουχίες ευρετηρίου που καθορίζονται στο φύλλο δείγματος.

Μέτρηση	Περιγραφή
# of \geq Q30 Bases (PF)	Ο αριθμός των βάσεων, συμπεριλαμβανομένων των προσαρμογών, που αντιστοιχούν σε αναγνώσεις οι οποίες περνούν ένα κατώφλι ποιότητας Q30.
Mean Quality Score (PF)	Η μέση βαθμολογία ποιότητας για αναγνώσεις που αντιστοιχούν στο δείγμα στην καθορισμένη λωρίδα. Η τιμή περιλαμβάνει βάσεις προσαρμογέα.

Αναφορές μετρήσεων προσαρμογέα

Το αρχείο μετρήσεων προσαρμογέα περιέχει τον αριθμό των βάσεων του προσαρμογέα και του δείγματος που σχετίζονται με κάθε ανάγνωση.

Περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες.

Μέτρηση	Περιγραφή
Lane	Η λωρίδα της κυψελίδας ροής στην οποία το δείγμα υποβλήθηκε σε αλληλούχηση.
Sample_ID	Το αναγνωριστικό του δείγματος από το φύλλο δείγματος. Εάν μια ανάγνωση δεν αντιστοιχεί σε ένα δείγμα, στο πεδίο εμφανίζεται η ένδειξη <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).
index	Η αλληλουχία <code>index1</code> από το φύλλο δείγματος. Το πεδίο είναι κενό εάν το ευρετήριο δεν καθορίστηκε στο φύλλο δείγματος ή εάν η τιμή του αναγνωριστικού δείγματος είναι <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).
index2	Η αλληλουχία <code>index2</code> από το φύλλο δείγματος. Το πεδίο είναι κενό εάν το <code>index2</code> δεν καθορίστηκε στο φύλλο δείγματος ή εάν η τιμή του αναγνωριστικού δείγματος είναι <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).
R1_AdapterBases	Ο αριθμός των βάσεων που αντιστοιχούν στο AdapterRead1 στο φύλλο δείγματος.
R1_SampleBases	Ο αριθμός των βάσεων που έχουν περικοπεί ή αποκρυφθεί από την Ανάγνωση 1 για την αντίστοιχη λωρίδα και το αντίστοιχο δείγμα.
R2_AdapterBases	Ο αριθμός των βάσεων που αντιστοιχούν στο AdapterRead2 στο φύλλο δείγματος.
R2_SampleBases	Ο αριθμός των βάσεων που έχουν περικοπεί ή αποκρυφθεί από την Ανάγνωση 2 για την αντίστοιχη λωρίδα και το αντίστοιχο δείγμα.
# Reads	Ο αριθμός των αναγνώσεων για το δείγμα στην καθορισμένη λωρίδα.

Αναφορά μετρήσεων αλλαγής ευρετηρίου

Η αναφορά μετρήσεων αλλαγής ευρετηρίου περιέχει τον αριθμό των αναγνώσεων για κάθε αναμενόμενο και αλλαγμένο ευρετήριο για εκτελέσεις διπλού ευρετηρίου. Η αναφορά περιλαμβάνει μόνο μοναδικά διπλά ευρετήρια ανά λωρίδα, στην οποία δεν εντοπίζεται σύγκρουση γραμμωτών κωδικών σε κανένα ευρετήριο. Για τη δημιουργία μετρήσεων αλλαγής ευρετηρίου για μια λωρίδα, κάθε ζεύγος καταχωρίσεων μέσα σε κάθε ευρετήριο πρέπει να έχει μεγάλη απόσταση τουλάχιστον $2N + 1$, όπου το N αντιπροσωπεύει την ανοχή της αναντιστοιχίας των γραμμωτών κωδικών που καθορίστηκε για το ευρετήριο.

Περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες.

Για εκτελέσεις χωρίς ευρετήριο, εκτελέσεις μονού ευρετηρίου ή λωρίδες που δεν περιέχουν μοναδικά διπλά ευρετήρια, το αρχείο περιέχει μόνο τις επικεφαλίδες.

Μέτρηση	Περιγραφή
Lane	Η λωρίδα της κυψελίδας ροής στην οποία το δείγμα υποβλήθηκε σε αλληλούχιση.
# Reads	Ο αριθμός των αναγνώσεων για το δείγμα στην καθορισμένη λωρίδα.
SampleID	Το αναγνωριστικό του δείγματος από το φύλλο δείγματος. Εάν μια ανάγνωση δεν αντιστοιχεί σε ένα δείγμα, στο πεδίο εμφανίζεται η ένδειξη <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).
index	Η αλληλουχία <code>index1</code> από το φύλλο δείγματος. Το πεδίο είναι κενό εάν μια ανάγνωση είναι μονού άκρου ή εάν η τιμή του αναγνωριστικού του δείγματος είναι <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).
index2	Η αλληλουχία <code>index2</code> από το φύλλο δείγματος. Το πεδίο είναι κενό εάν μια ανάγνωση είναι μονού άκρου ή εάν η τιμή του αναγνωριστικού του δείγματος είναι <code>undetermined</code> (Απροσδιόριστο).

Αναφορά πρώτων άγνωστων γραμμωτών κωδικών

Η αναφορά πρώτων άγνωστων γραμμωτών κωδικών περιέχει τα πρώτα 100 ευρετήρια ή ζεύγη ευρετηρίων ανά λωρίδα που δεν αναγνωρίστηκαν στο φύλλο δείγματος σύμφωνα με τον αριθμό των επιτρεπόμενων αναντιστοιχιών. Εάν υπάρχουν πολλαπλές τιμές ευρετηρίου καταχωρισμένες στην 100ή υψηλότερη μέτρηση ευρετηρίου, όλες οι τιμές ευρετηρίου με την ίδια μέτρηση εξαγονται ως 100ή καταχώριση.

Περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες:

Μέτρηση	Περιγραφή
Lane	Η λωρίδα της κυψελίδας ροής στην οποία το δείγμα υποβλήθηκε σε αλληλούχιση.

Μέτρηση	Περιγραφή
index	Η αλληλουχία για κάθε άγνωστο ευρετήριο στην Ανάγνωση 1 του ευρετηρίου. Το πεδίο είναι κενό εάν δεν βρεθούν άγνωστα ευρετήρια.
index2	Η αλληλουχία για κάθε άγνωστο ευρετήριο στην Ανάγνωση 2 του ευρετηρίου. Εάν η εκτέλεση ήταν αλληλούχησης ενός άκρου ή δεν βρέθηκαν άγνωστα ευρετήρια, το πεδίο είναι κενό.
# Reads	Ο αριθμός των αναγνώσεων για το δείγμα στην καθορισμένη λωρίδα.

Αναφορές Illumina DRAGEN QC

Για όλες τις διαδικασίες, το DRAGEN FastQC δημιουργεί γραφήματα QC από προεπιλογή. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα QC αποθηκεύονται στον φάκελο `AggregatedFastqcMetrics` και τα αποτελέσματα ανά δείγμα αποθηκεύονται στον φάκελο `<sample_name>`.

Δεν δημιουργούνται αναφορές QC εάν ο αριθμός των δειγμάτων είναι μεγαλύτερος από 512.

Παρέχονται τα παρακάτω γραφήματα QC.

Γράφημα QC	Περιγραφή
adapter_content	Το ποσοστό των ακολουθιών για κάθε ζεύγος βάσεων.
positional_mean_quality	Η μέση βαθμολογία ποιότητας των βάσεων στην κλίμακα Phred για κάθε θέση ανάγνωσης.
gc_content	Το ποσοστό του περιεχομένου GC για κάθε ανάγνωση αλληλούχησης.
positional_quality.read_1	Η μέση τιμή της ποιότητας στην κλίμακα Phred των βάσεων με συγκεκριμένο νουκλεοτίδιο και σε δεδομένη θέση στην Ανάγνωση 1.
gc_quality	
positional_quality.read_2	Η μέση τιμή της ποιότητας στην κλίμακα Phred των βάσεων με συγκεκριμένο νουκλεοτίδιο και σε δεδομένη θέση στην Ανάγνωση 2.
n_content	
read_length	Το μήκος της αλληλουχίας για κάθε ανάγνωση.
positional_base_content.read_1	Ο αριθμός των βάσεων κάθε ειδικού νουκλεοτιδίου σε δεδομένες θέσεις στην Ανάγνωση 1.
read_quality	Η μέση βαθμολογία ποιότητας στην κλίμακα Phred για κάθε ανάγνωση αλληλούχησης.

Γράφημα QC	Περιγραφή
positional_base_content.read_2	Ο αριθμός των βάσεων κάθε ειδικού νουκλεοτιδίου σε δεδομένες θέσεις στην Ανάγνωση 2.

Δομή φακέλου εξόδου δευτερεύουσας ανάλυσης DRAGEN

Από προεπιλογή, το DRAGEN δημιουργεί αρχεία εξόδου στον φάκελο εξόδου που επιλέχθηκε στην καρτέλα Settings (Ρυθμίσεις). Για κάθε ροή εργασιών, το DRAGEN δημιουργεί μια συνοπτική αναφορά στο αρχείο `report.html`.

📁 Data

📄 `report.html`

📄 `report_files`

📁 AggregateFastQCPlots

📄 `*.png`

📄 `*stderr_.txt`

📄 `*stdout_.txt`

📄 `dragen_prev_48_hrs.log`

📄 `dln_prev_48_hrs.log`

📄 `SampleSheet.csv`

📄 Run input files (eg, BED, GTF files)

📁 sample_name

📁 enrich_caller , germline_seq, dna_amplicon_seq, rna_seq ή scrna_seq

📁 sample_name

📄 `*.png`

📄 `dragen_*.log`

📄 `sample_name.*.metrics.csv`

📄 `[DNA] sample_name.*.vcf.gz`

📄 `[DNA] sample_name.*.gvcf.gz`—Δεν είναι διαθέσιμο για τη διαδικασία DRAGEN Bio-IT Platform Amplicon (σωματική ανάλυση).

📄 `sample_name.*.bam` ή `sample_name.*.cram`

📄 `Logs`

- 📄 [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**—Διαθέσιμο μόνο εφόσον το KeepFastq έχει οριστεί σε true (Αληθές).

- 📄 *.fastq.gz

📁 **ora_fastq**—Διαθέσιμο μόνο εφόσον το FastqCompressionFormat έχει οριστεί σε dragen.

- 📄 *.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

Reports

Demultiplex_Stats.csv
RunInfo.xml
Trim_Metrics.csv
fastq_list.csv
SampleSheet.csv
Index_Hopping_Counts.csv
Top_Unknown_Barcodes.csv

Read1InstrumentAnalyticsMetrics—Μόνο για αναγνώσεις αλληλούχισης συζευγμένων άκρων.

0001

dataset.json

0002

dataset.json
Adapter_Metrics.csv
Demultiplex_Stats.csv
Index_Hopping_Counts.csv

Read1Metrics—Μόνο για αναγνώσεις αλληλούχισης συζευγμένων άκρων.


Adapter_Metrics.csv
Index_Hopping_Counts.csv

Συντήρηση

Στην παρούσα ενότητα περιγράφονται οι διαδικασίες που είναι απαραίτητες για τη διατήρηση του συστήματος σε άριστη κατάσταση. Θα μάθετε τον τρόπο με τον οποίο μπορείτε να εγκαταστήσετε τις ενημερώσεις του λογισμικού, να αλλάξετε τα φίλτρα αέρα και να πραγματοποιήσετε άλλες διαδικασίες περιοδικής συντήρησης. Η συνεχής ενημέρωση του λογισμικού ελέγχου θα εξασφαλίσει την εγκατάσταση των πιο πρόσφατων επιδιορθώσεων σφαλμάτων και δυνατοτήτων στο σύστημά σας με σκοπό τη βέλτιστη απόδοση.

Απελευθέρωση χώρου στον σκληρό δίσκο

Για την πραγματοποίηση μιας εκτέλεσης αλληλούχισης, απαιτείται χώρος περίπου 200 GB στον τοπικό σκληρό δίσκο. Όταν ο χώρος είναι περιορισμένος εμφανίζεται μια προειδοποίηση. Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για να απελευθερώσετε χώρο διαγράφοντας ολοκληρωμένες εκτελέσεις και εγκατεστημένα γονιδιώματα αναφοράς από έναν φάκελο προσωρινών εκτελέσεων.

 | Να διαγράψετε εκτελέσεις χρησιμοποιώντας μόνο το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 και όχι μη αυτόματα μέσω του λειτουργικού συστήματος. Η μη αυτόματη διαγραφή εκτελέσεων μπορεί να επηρεάσει αρνητικά το λογισμικό ελέγχου.

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου επιλέξτε **Disk Management** (Διαχείριση δίσκου). Εμφανίζεται η οθόνη Disk Management (Διαχείριση δίσκου) με μια λίστα εκτελέσεων και γονιδιωμάτων αναφοράς που είναι αποθηκευμένα στον τοπικό σκληρό δίσκο.
2. Για την εκτέλεση που θέλετε να διαγράψετε επιλέξτε **Delete Run** (Διαγραφή εκτέλεσης). Η διαγραφή μιας εκτέλεσης διαγράφει τον τοπικό φάκελο εκτέλεσης. Ο φάκελος εξόδου, ο οποίος είναι αντίγραφο του φακέλου εκτέλεσης, διατηρείται.
3. Στο πλαίσιο διαλόγου επιλέξτε **Yes, Delete Run** (Ναι, διαγραφή εκτέλεσης) για να επιβεβαιώσετε τη διαγραφή της εκτέλεσης.
4. Επαναλάβετε τα βήματα 2 και 3 για κάθε εκτέλεση που θέλετε να διαγράψετε.
5. Για το γονιδίωμα που θέλετε να διαγράψετε επιλέξτε **Delete Genome** (Διαγραφή γονιδιώματος).
6. Στο πλαίσιο διαλόγου επιλέξτε **Yes, Delete Genome** (Ναι, διαγραφή γονιδιώματος).
7. Επαναλάβετε τα βήματα 5 και 6 για κάθε γονιδίωμα που θέλετε να διαγράψετε.
8. Όταν τελειώσετε, κλείστε το Disk Management (Διαχείριση δίσκου) και επιστρέψτε στην αρχική οθόνη.

Ενημερώσεις λογισμικού

Η ενημέρωση του λογισμικού εξασφαλίζει ότι το σύστημά σας διαθέτει τις πιο πρόσφατες δυνατότητες και επιδιορθώσεις. Οι ενημερώσεις λογισμικού συγκεντρώνονται σε μια οικογένεια λογισμικού συστήματος, που περιλαμβάνει τα παρακάτω λογισμικά:

- Λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000
- Συνταγές NextSeq 1000/2000
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

i | Οι μονάδες DRAGEN δεν συμπεριλαμβάνονται στην οικογένεια λογισμικού του συστήματος. Εγκαταστήστε τις ξεχωριστά, εάν απαιτείται. Μπορείτε να αποκτήσετε πρόσβαση στο λογισμικό της μονάδας DRAGEN από τις σελίδες υποστήριξης.

Το σύστημα είναι διαμορφωμένο για τη λήψη ενημερώσεων λογισμικού αυτόματα ή μη αυτόματα:

- **Automatic updates** (Αυτόματες ενημερώσεις)—Οι ενημερώσεις λαμβάνονται αυτόματα από το BaseSpace Sequence Hub για να τις εγκαταστήσετε. Αυτή η επιλογή απαιτεί σύνδεση στο διαδίκτυο, αλλά όχι λογαριασμό στο BaseSpace Sequence Hub.
- **Manual updates** (Μη αυτόματες ενημερώσεις)—Οι ενημερώσεις λαμβάνονται μη αυτόματα από το διαδίκτυο, αποθηκεύονται τοπικά ή σε μια φορητή μονάδα δίσκου και εγκαθίστανται από τη θέση στην οποία αποθηκεύτηκαν. Για αυτή την επιλογή, δεν απαιτείται σύνδεση του οργάνου στο διαδίκτυο.

Εγκατάσταση αυτόματης ενημέρωσης λογισμικού

1. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν σε εξέλιξη εκτελέσεις αλληλούχησης ή δευτερεύουσα ανάλυση εντός του οργάνου.
2. Συνδεθείτε στον λογαριασμό ilmnadmin.
3. Επιλέξτε **Software Update** (Ενημέρωση λογισμικού) από το μενού λογισμικού ελέγχου. Τα συστήματα που είναι διαμορφωμένα έτσι ώστε να ενημερώνονται αυτόματα εμφανίζουν έναν συναγερμό όταν υπάρχει διαθέσιμη ενημέρωση.
4. Για να εκτελέσετε έλεγχο για ενημερώσεις, επιλέξτε **Check Online for Software Update** (Ηλεκτρονικός έλεγχος για ενημερώσεις λογισμικού).
5. Επιλέξτε **Update Now** (Ενημέρωση τώρα) για να λάβετε τη νέα έκδοση του λογισμικού. Όταν ολοκληρωθεί η λήψη, το λογισμικό ελέγχου κλείνει και εμφανίζεται ο οδηγός εγκατάστασης. Το λογισμικό ελέγχου επανεκκινείται αυτόματα. Μετά την επανεκκίνηση, εκτελείται αυτόματα η εκάστοτε ενημέρωση του υλικολογισμικού.

- i** | Η ακύρωση μιας ενημέρωσης δεν είναι δυνατή μετά την έναρξη της εγκατάστασης. Μπορείτε να ακυρώσετε μια ενημέρωση μόνο κατά τη διάρκεια της λήψης.

Εγκατάσταση μη αυτόματης ενημέρωσης λογισμικού

1. Συνδεθείτε στον λογαριασμό ilmnadmin.
2. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν σε εξέλιξη εκτελέσεις αλληλούχισης ή δευτερεύουσα ανάλυση εντός του οργάνου.
3. Όταν υπάρχει διαθέσιμη ενημέρωση λογισμικού, πρέπει να γίνει λήψη του προγράμματος εγκατάστασης της οικογένειας λογισμικού (*.tar.gz) από τη [σελίδα υποστήριξης των συστημάτων αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000](#). Αποθηκεύστε το αρχείο εγκατάστασης σε μια τοπική ή φορητή μονάδα δίσκου.
4. Εάν αποθηκεύσατε το αρχείο εγκατάστασης σε φορητή μονάδα δίσκου, συνδέστε τη μονάδα δίσκου σε μία από τις θύρες USB 3.0, οι οποίες βρίσκονται στην πλευρά και στο πίσω μέρος του οργάνου.
5. Στο λογισμικό ελέγχου, επιλέξτε **Software Update** (Ενημέρωση λογισμικού) από το μενού λογισμικού ελέγχου.
6. Επιλέξτε **Choose...** (Επιλογή...) για να μεταβείτε στο αρχείο εγκατάστασης.
7. Επιλέξτε **Update Now** (Ενημέρωση τώρα) για να ξεκινήσει η εγκατάσταση. Το λογισμικό ελέγχου εμφανίζει την ένδειξη ότι είναι απασχολημένο κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης. Το λογισμικό ελέγχου επανεκκινείται αυτόματα. Μετά την επανεκκίνηση, εκτελείται αυτόματα η εκάστοτε ενημέρωση του υλικολογισμικού.

- i** | Η ακύρωση μιας ενημέρωσης δεν είναι δυνατή μετά την έναρξη της εγκατάστασης. Μπορείτε να ακυρώσετε μια ενημέρωση μόνο κατά τη διάρκεια της λήψης.

Ενημερώσεις άδειας χρήσης και ροής εργασιών του DRAGEN

Η εγκατάσταση των ροών εργασιών του DRAGEN και η ανανέωση της άδειας χρήσης του DRAGEN μπορούν να πραγματοποιηθούν μόνο από τους διαχειριστές του συστήματος.

Ανανέωση άδειας χρήσης του DRAGEN με σύνδεση

Εάν το NextSeq 1000/2000 είναι συνδεδεμένο στο διαδίκτυο, μπορείτε να ενημερώσετε την άδεια χρήσης του DRAGEN Bio-IT Platform ως εξής.

1. Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina για να πάρετε ένα νέο κλειδί άδειας χρήσης.

2. Περιμένετε 24 ώρες προκειμένου η άδεια χρήσης να ενημερωθεί αυτόματα ή ενημερώστε αμέσως την άδεια χρήσης ως εξής.
 - a. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **DRAGEN**.
 - b. Επιλέξτε **Check Online** (Ηλεκτρονικός έλεγχος) για να ελέγξετε εάν υπάρχει διαθέσιμο ένα νέο κλειδί άδειας χρήσης του DRAGEN.
 - c. Εάν υπάρχει διαθέσιμο επιλέξτε **Update** (Ενημέρωση).

Ανανέωση άδειας χρήσης του DRAGEN εκτός σύνδεσης

Εάν το NextSeq 1000/2000 δεν είναι συνδεδεμένο στο διαδίκτυο, μπορείτε να ενημερώσετε την άδεια χρήσης του DRAGEN Bio-IT Platform ως εξής.

1. Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina για να πάρετε ένα νέο κλειδί άδειας χρήσης. Αποθηκεύστε το αρχείο `license.zip` σε μια τοπική ή φορητή μονάδα.
2. Εάν αποθηκεύσατε το αρχείο *.zip σε φορητή μονάδα δίσκου, συνδέστε τη μονάδα δίσκου σε μία από τις θύρες USB 3.0, οι οποίες βρίσκονται στην πλευρά και στο πίσω μέρος του οργάνου. Μετακινήστε προσεκτικά το όργανο, εάν χρειαστεί, για να αποκτήσετε πρόσβαση στο πίσω μέρος του.
3. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **DRAGEN**.
4. Επιλέξτε **Choose** (Επιλογή) για να μεταβείτε στο αρχείο *.zip και κατόπιν επιλέξτε **Open** (Άνοιγμα).

Εγκατάσταση ρών εργασιών του DRAGEN σε σύνδεση

Εάν το NextSeq 1000/2000 είναι συνδεδεμένο στο διαδίκτυο, μπορείτε να εγκαταστήσετε τις ροές εργασιών του DRAGEN απευθείας στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000. Η δυνατότητα εγκατάστασης των ρών εργασιών του DRAGEN σε σύνδεση είναι διαθέσιμη μόνο στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3.

1. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **Process Management** (Διαχείριση διαδικασίας).
2. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν σε εξέλιξη εκτελέσεις αλληλούχισης ή δευτερεύουσα ανάλυση εντός του οργάνου.
3. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **DRAGEN**. Στο στοιχείο Version (Έκδοση), η ενότητα Available Workflows (Διαθέσιμες ροές εργασιών) εμφανίζει τις ροές εργασιών που είναι ήδη εγκατεστημένες στο σύστημα.
4. Για να εγκαταστήσετε ροές εργασιών του DRAGEN στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 επιλέξτε **Check Online** (Ηλεκτρονικός έλεγχος). Με την εγκατάσταση σε σύνδεση δεν είναι συμβατές όλες οι εκδόσεις και οι ροές εργασιών του DRAGEN. Χρησιμοποιήστε την εγκατάσταση εκτός σύνδεσης για επιπλέον ροές εργασιών.

5. Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου για τις ροές εργασιών που θα θέλατε να εγκαταστήσετε. Εάν δεν εγκατασταθούν, φροντίστε να εγκαταστήσετε πρώτα την πιο πρόσφατη έκδοση του BCL Convert. Μπορείτε να δείτε πληροφορίες σχετικά με την πιο πρόσφατη έκδοση μιας ροής εργασιών στις σημειώσεις έκδοσης.
6. Επιλέξτε **Install** (Εγκατάσταση) για να ξεκινήσει η εγκατάσταση.
7. Εισαγάγετε ilmnadmin για τον κωδικό πρόσβασης στο σύστημα και κατόπιν επιλέξτε **Authenticate** (Έλεγχος ταυτότητας).

Εγκατάσταση ροών εργασιών του DRAGEN εκτός σύνδεσης

1. Όταν μια ενημέρωση ροής εργασιών του DRAGEN είναι διαθέσιμη, πραγματοποιήστε λήψη του αρχείου εγκατάστασης (*.tar.gz) από τη [σελίδα υποστήριξης του DRAGEN](#). Αποθηκεύστε το αρχείο εγκατάστασης σε μια τοπική ή φορητή μονάδα δίσκου.
2. Εάν αποθηκεύσατε το αρχείο εγκατάστασης σε φορητή μονάδα δίσκου, συνδέστε τη μονάδα δίσκου σε μία από τις θύρες USB 3.0, οι οποίες βρίσκονται στην πλευρά και στο πίσω μέρος του οργάνου. Μετακινήστε προσεκτικά το όργανο, εάν χρειαστεί, για να αποκτήσετε πρόσβαση στο πίσω μέρος του.
3. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **Process Management** (Διαχείριση διαδικασίας).
4. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν σε εξέλιξη εκτελέσεις αλληλούχισης ή δευτερεύουσα ανάλυση εντός του οργάνου.
5. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **DRAGEN**.
6. Στο στοιχείο Version (Έκδοση) επιλέξτε **Browse for New Version** (Περιήγηση για νέα έκδοση) για να μεταβείτε στο αρχείο εγκατάστασης.
7. Επιλέξτε **Install** (Εγκατάσταση) για να ξεκινήσει η εγκατάσταση.
8. Εισαγάγετε ilmnadmin για τον κωδικό πρόσβασης στο σύστημα και κατόπιν επιλέξτε **Authenticate** (Έλεγχος ταυτότητας).

Αντικατάσταση του φίλτρου αέρα

Ακολουθήστε τις παρακάτω οδηγίες για να αντικαθιστάτε τα ληγμένα φίλτρα αέρα κάθε 6 μήνες.

Το φίλτρο αέρα είναι μια ορθογώνια κασέτα μίας χρήσης που καλύπτει τον ανεμιστήρα που βρίσκονται στη δεξιά πλευρά του οργάνου. Διασφαλίζει τη σωστή ψύξη και αποτρέπει την είσοδο μικρών αντικειμένων στο σύστημα. Το όργανο αποστέλλεται με ένα φίλτρο αέρα εγκατεστημένο και με ένα ανταλλακτικό. Επιπρόσθετα ανταλλακτικά περιλαμβάνονται με μια έγκυρη σύμβαση επισκευής του οργάνου ή μπορούν να αγοραστούν ξεχωριστά από την Illumina.

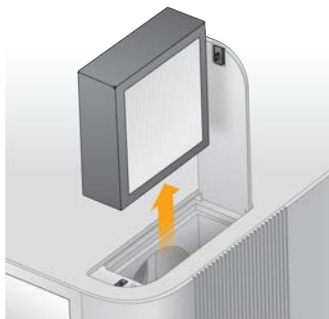
1. Στο πάνω μέρος του οργάνου, πιέστε τη δεξιά πλευρά του επάνω πλαισίου για να το απελευθερώσετε, όπως φαίνεται στην ακόλουθη εικόνα.



2. Ανοίξτε το πλαίσιο.



3. Πιέστε για να απελευθερωθεί η κασέτα του φίλτρου αέρα, αφαιρέστε τη και απορρίψτε τη.



4. Τοποθετήστε ένα νέο φίλτρο αέρα και πιέστε το για να ασφαλίσει.

5. Κλείστε το επάνω πλαίσιο και πιέστε το για να κουμπώσει στη θέση του.



6. Επανατοποθετήστε το όργανο στην αρχική του θέση.

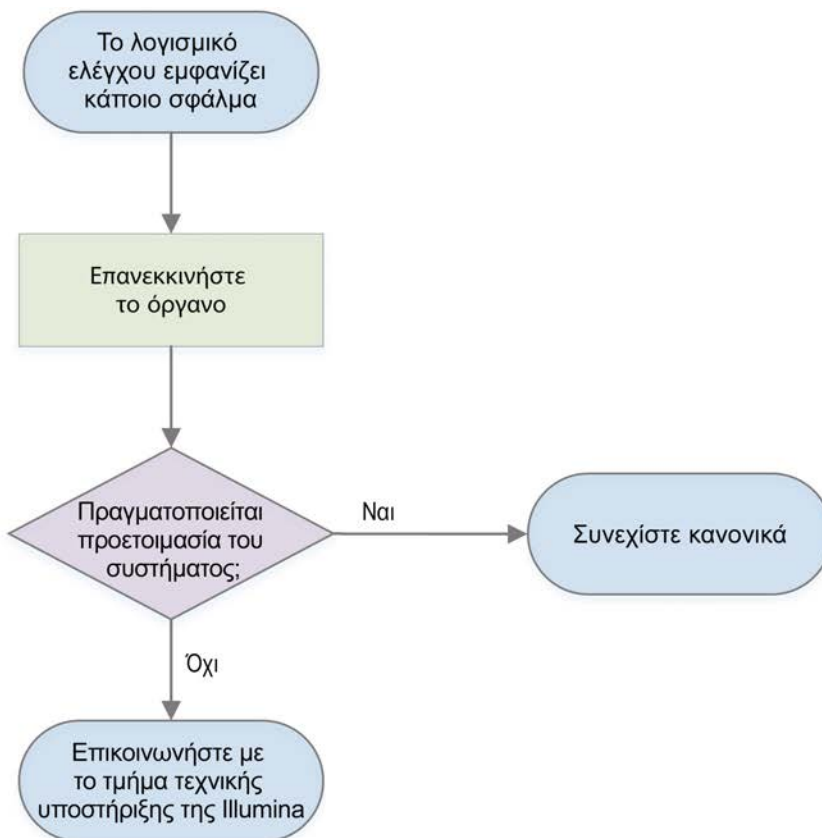
Αντιμετώπιση προβλημάτων

Στην παρούσα ενότητα παρέχονται αναλυτικές οδηγίες σχετικά με την ακύρωση μιας εκτέλεσης, την επανεκκίνηση του οργάνου και άλλες διαδικασίες αντιμετώπισης προβλημάτων.

Επίλυση μηνυμάτων σφάλματος


Το παράρτημα αυτό παρέχει λεπτομερείς οδηγίες για διάφορα βήματα αντιμετώπισης προβλημάτων. Το ακόλουθο διάγραμμα ροής παρέχει μια επισκόπηση της αντιμετώπισης των μηνυμάτων σφάλματος που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας, της ρύθμισης εκτέλεσης ή της αλληλούχησης και τα οποία δεν επιλύονται με επανάληψη των ενεργειών.

Πολλά σφάλματα μπορούν να επιλυθούν πραγματοποιώντας επανεκκίνηση: απενεργοποίηση και κατόπιν εκ νέου ενεργοποίηση του οργάνου. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την επανεκκίνηση ανατρέξτε στην ενότητα [Επανεκκίνηση του οργάνου στη σελίδα 93](#).



Επιστροφή αναλωσίμων στον χώρο αποθήκευσης

Ακολουθήστε τις παρακάτω οδηγίες προκειμένου να αποθηκεύσετε μια αποφυγμένη κασέτα και μια κυψελίδα ροής σε περίπτωση σφάλματος του οργάνου κατά τη διάρκεια του ελέγχου πριν από την εκτέλεση του οργάνου και πριν από τον έλεγχο των υδραυλικών.

1. Χωρίστε την κυψελίδα ροής από την κασέτα.
2. Αφαιρέστε και απορρίψτε την αραιωμένη βιβλιοθήκη από το δοχείο (μέχρι ~18 μl).
-  Προετοιμάστε μια νέα αραιώση από την ίδια βιβλιοθήκη για την επόμενη εκτέλεση, προκειμένου να αποφευχθεί η διασταυρούμενη επιμόλυνση του δείγματος από το υπόλειμμα της βιβλιοθήκης στο δοχείο.
3. Αποθηκεύστε την κασέτα σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C, έτσι ώστε η ετικέτα να είναι στραμμένη προς τα πάνω και η κυκλοφορία του αέρα να είναι δυνατή σε όλες τις πλευρές.
Μην υπερβαίνετε τις 72 ώρες. Εάν η κασέτα αποψύχθηκε στο ψυγείο επί 12 ώρες κατά τη διάρκεια της νύχτας, δεν πρέπει να υπερβαίνετε τις 60 ώρες.
4. Επανατοποθετήστε την κυψελίδα ροής στην αρχική ασημένια, αλουμινένια συσκευασία μαζί με το αφυγραντικό.
5. Κλείστε με ταινία την αλουμινένια συσκευασία και αποθηκεύστε την σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C.
Μην υπερβαίνετε τις 72 ώρες.

Ακύρωση εκτέλεσης

1. Επιλέξτε **End Run** (Τερματισμός εκτέλεσης).
2. Για την αυτόματη εκκαθάριση της κασέτας αντιδραστηρίων επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Purge Reagent Cartridge** (Εκκαθάριση κασέτας αντιδραστηρίων).
Η προεπιλογή διαμορφώνεται στις ρυθμίσεις του λογισμικού ελέγχου NextSeq 1000/2000.
3. Επιλέξτε **Yes, end the sequencing run** (Ναι, να τερματιστεί η εκτέλεση αλληλούχησης).
Η ακύρωση μιας εκτέλεσης είναι οριστική. Το λογισμικό δεν μπορεί να συνεχίσει την εκτέλεση και τα αναλώσιμα δεν μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν αφού το όργανο πραγματοποιήσει τους ελέγχους πριν από την εκτέλεση.
4. Επιλέξτε **Eject Cartridge** (Εξαγωγή κασέτας) για να ανοίξει το προστατευτικό κάλυμμα και να εξαχθεί ο δίσκος.
5. Αφαιρέστε την κασέτα από τον δίσκο.

6. Αποθηκεύστε ή απορρίψτε την κασέτα, ανάλογα με τον χρόνο ακύρωσης:

Συνθήκες	Παράδειγμα
Η ακύρωση έγινε πριν ή κατά τη διάρκεια του ελέγχου του οργάνου πριν από την εκτέλεση και θέλετε να επαναχρησιμοποιήσετε τα αναλώσιμα.	Ανατρέξτε στην ενότητα Επιστροφή αναλωσίμων στον χώρο αποθήκευσης στη σελίδα 91 .
Όλες οι άλλες συνθήκες.	Ανατρέξτε στην ενότητα Εκφόρτωση αναλωσίμων στη σελίδα 59 .

7. Επιλέξτε **Close Door** (Κλείσιμο θύρας) για την επαναφόρτωση του δίσκου και την επιστροφή στην αρχική οθόνη.

Οι αισθητήρες επιβεβαιώνουν την αφαίρεση της κασέτας.

Επανατοποθέτηση εκτέλεσης στην ουρά

Εάν εμφανιστεί κάποιο σφάλμα για την κατάσταση της δευτερεύουσας ανάλυσης στη διαχείριση διαδικασίας, μπορείτε να επανατοποθετήσετε την εκτέλεση στην ουρά για να πραγματοποιηθεί εκ νέου ανάλυση DRAGEN εντός του οργάνου στα αρχεία cBCL που δημιουργήθηκαν. Ο αρχικός φάκελος εκτέλεσης πρέπει να εξακολουθεί να υπάρχει στο όργανο για τη λειτουργικότητα επανατοποθέτησης στην ουρά. Η χρήση αυτής της λειτουργικότητας επανατοποθέτησης στην ουρά δεν επανατοποθετεί στην ουρά εκτελέσεις στο BaseSpace Sequence Hub. Για την επανατοποθέτηση στην ουρά στο BaseSpace Sequence Hub, ανατρέξτε στην ενότητα Fix Sample Sheet (Επιδιόρθωση φύλλου δείγματος) στο κέντρο βοήθειας του BaseSpace Sequence Hub.

1. Ενημερώστε το φύλλο δείγματος μορφής v2 και κατόπιν αποθηκεύστε το φύλλο δείγματος σε μια φορητή ή σταθερή μονάδα δίσκου δικτύου.
2. Εάν αποθηκεύσατε το φύλλο δείγματος σε φορητή μονάδα δίσκου, συνδέστε τη μονάδα δίσκου σε μία από τις θύρες USB 3.0, οι οποίες βρίσκονται στην πλευρά και στο πίσω μέρος του οργάνου. Μετακινήστε προσεκτικά το όργανο, εάν χρειαστεί, για να αποκτήσετε πρόσβαση στο πίσω μέρος του.
3. Επιλέξτε το μενού λογισμικού ελέγχου και κατόπιν επιλέξτε **Process Management** (Διαχείριση διαδικασίας).
4. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν σε εξέλιξη εκτελέσεις αλληλούχησης ή δευτερεύουσες αναλύσεις εντός του οργάνου.
5. Επιλέξτε **Requeue** (Επανατοποθέτηση στην ουρά) δίπλα στην ολοκληρωμένη εκτέλεση για πραγματοποιηθεί η επανατοποθέτηση στην ουρά.
6. Επιλέξτε **Choose** (Επιλογή) για να μεταβείτε στο ενημερωμένο φύλλο δείγματος και κατόπιν επιλέξτε **Open** (Άνοιγμα).
7. Επιλέξτε **Start Requeue** (Έναρξη επανατοποθέτησης στην ουρά).

Επανεκκίνηση του οργάνου

Η επανεκκίνηση του οργάνου τερματίζει και θέτει σε λειτουργία εκ νέου με ασφάλεια το σύστημα για την αποκατάσταση μιας απώλειας σύνδεσης, την ευθυγράμμιση μιας προδιαγραφής ή την επίλυση μιας αποτυχίας κατά την προετοιμασία. Τα μηνύματα λογισμικού υποδεικνύουν πότε απαιτείται επανεκκίνηση του οργάνου για την επίλυση ενός σφάλματος ή μιας προειδοποίησης.

1. Από το μενού λογισμικού ελέγχου, επιλέξτε **Shut Down Instrument** (Τερματισμός λειτουργίας οργάνου).
2. Εάν η λειτουργία του συστήματος δεν τερματίζεται, πατήστε παρατεταμένα το κουμπί τροφοδοσίας που βρίσκεται στη δεξιά πλευρά του οργάνου μέχρι να σβήσει σταδιακά ο φωτισμός του.
3. Όταν το κουμπί τροφοδοσίας αναβοσβήνει, πατήστε τον διακόπτη τροφοδοσίας (θέση **0**) στον πίσω πίνακα.
Το κουμπί τροφοδοσίας ενδέχεται να συνεχίσει να αναβοσβήνει μετά την απενεργοποίηση.

Εικόνα 8 Θέση διακόπτη



4. Περιμένετε 30 δευτερόλεπτα.
5. Πατήστε τον διακόπτη τροφοδοσίας (θέση **I**).

- Όταν το κουμπί τροφοδοσίας αρχίσει να αναβοσβήνει, περιμένετε 30 δευτερόλεπτα και μετά πατήστε το.

Εικόνα 9 Θέση κουμπιού τροφοδοσίας



- Περιμένετε περίπου 5 λεπτά για να φορτωθεί το λειτουργικό σύστημα. Όταν φορτωθεί το λειτουργικό σύστημα, συνδεθείτε στο σύστημα. Το λογισμικό ελέγχου εκκινείται και προετοιμάζει το σύστημα. Περιμένετε περίπου 5 λεπτά για την προετοιμασία του συστήματος. Όταν ολοκληρωθεί η προετοιμασία, εμφανίζεται η αρχική οθόνη.

Πραγματοποίηση ελέγχου συστήματος

Ο έλεγχος του συστήματος δεν είναι απαραίτητος για την κανονική λειτουργία ή για τη συντήρηση του οργάνου. Ωστόσο, ο εκπρόσωπος του τμήματος τεχνικής υποστήριξης της Illumina ενδέχεται να σας ζητήσει να πραγματοποιήσετε έλεγχο του συστήματος για σκοπούς αντιμετώπισης προβλημάτων.

Οι τέσσερις έλεγχοι υποσυστημάτων διαρκούν περίπου 58 λεπτά για την αντιμετώπιση των σφαλμάτων ελέγχου πριν από την εκτέλεση και άλλων ζητημάτων. Οι έλεγχοι επιβεβαιώνουν εάν τα εξαρτήματα είναι σωστά ευθυγραμμισμένα και λειτουργικά.

Τα αποτελέσματα των ελέγχων εξάγονται στον φάκελο `system-check` που βρίσκεται στο `/usr/local/illumina/system-check`.

Πριν από την εκτέλεση των ελέγχων του συστήματος, πρέπει να εκφορτώνεται η κασέτα.

Εκτέλεση ελέγχου συστήματος

- Από το μενού λογισμικού ελέγχου, επιλέξτε **System Checks** (Έλεγχοι συστήματος).
- Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου για οποιονδήποτε από τους παρακάτω ελέγχους συστήματος που θέλετε να εκτελέσετε.
 - Network Connectivity** (Συνδεσιμότητα δικτύου)—Ελέγχει την απόδοση και την κατάσταση της σύνδεσής σας στο δίκτυο.

- **Enclosure** (Περίβλημα)—Ελέγχει την απόδοση του θερμικού συστήματος και του μηχανισμού ανύψωσης του προστατευτικού καλύμματος.
- **Motion** (Κίνηση)—Ελέγχει τα όρια κίνησης και την απόδοση κατά τον άξονα Z και κατά τους άξονες XY.
- **Optics** (Οπτικό σύστημα)—Ελέγχει την απόδοση της μονάδας απεικόνισης.

3. Επιλέξτε **Start** (Έναρξη).

Επαναφορά εργοστασιακών ρυθμίσεων


Επαναφέρετε το σύστημα στις εργοστασιακές προεπιλογές για τον υποβιβασμό του λογισμικού ή την αποκατάσταση από μια ανεπιθύμητη διαμόρφωση. Η δυνατότητα αυτή θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από κάποιον εκπρόσωπο της Illumina.

Δημιουργία ειδώλου εγκατάστασης

Δημιουργήστε ένα είδωλο του συστήματος ως αντίγραφο ασφαλείας μιας εγκατάστασης λογισμικού που λειτουργεί επιτυχώς. Μπορεί να πραγματοποιηθεί επαναφορά αυτού του ειδώλου συστήματος σε μεταγενέστερο χρονικό σημείο. Η δημιουργία ειδώλου του συστήματος συνιστάται να πραγματοποιείται αμέσως μετά την ολοκλήρωση της αρχικής εγκατάστασης και την αλλαγή του κωδικού πρόσβασης με έναν εκπρόσωπο της Illumina.

1. Επανεκκινήστε το Linux.
2. Όταν σας ζητηθεί να επιλέξετε λειτουργικό σύστημα, επιλέξτε **Capture Installed Image** (Δημιουργία ειδώλου εγκατάστασης).

Οι επιλογές του λειτουργικού συστήματος εμφανίζονται για σύντομο χρόνο πριν από την αυτόματη συνέχεια στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000.

 Στη μνήμη διατηρείται μόνο ένα είδωλο, επομένως θα διαγραφεί το προηγούμενο είδωλο που δημιουργήθηκε.

3. Περιμένετε περίπου 30 λεπτά προκειμένου το σύστημα να δημιουργήσει ένα είδωλο της τρέχουσας εγκατάστασης.
Κατά τη διάρκεια της δημιουργίας του ειδώλου μπορούν να πραγματοποιηθούν αρκετές επανεκκινήσεις. Όταν ολοκληρωθεί η δημιουργία του ειδώλου, το σύστημα θα επανεκκινηθεί και το είδωλο της τρέχουσας εγκατάστασης θα είναι αποθηκευμένο στη μνήμη.

Επαναφορά ειδώλου

Επαναφέρετε το σύστημα στο είδωλο που έχετε δημιουργήσει, για την αποκατάσταση από μια ανεπιθύμητη διαμόρφωση.

1. Επανεκκινήστε το Linux.

2. Όταν σας ζητηθεί να επιλέξετε λειτουργικό σύστημα, επιλέξτε **Restore Installed Image** (Επαναφορά ειδώλου εγκατάστασης).
Οι επιλογές του λειτουργικού συστήματος εμφανίζονται για σύντομο χρόνο πριν από την αυτόματη συνέχεια στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000.
 - i** | Οι κωδικοί πρόσβασης συνδέονται με το είδωλο του συστήματος. Μετά την επαναφορά, χρησιμοποιήστε τον κωδικό πρόσβασης του ειδώλου που επαναφέρατε για να συνδεθείτε στο σύστημα.
3. Περιμένετε περίπου 30 λεπτά για να ολοκληρωθεί η επαναφορά.
Κατά τη διάρκεια της επαναφοράς μπορούν να πραγματοποιηθούν αρκετές επανεκκινήσεις. Όταν ολοκληρωθεί, το σύστημα θα επανεκκινηθεί με το είδωλο που επανήλθε.

Πηγές και αναφορές

Ρυθμίσεις φύλλου δείγματος v2

Σε λειτουργία Local (Τοπική λειτουργία), μπορείτε να χρησιμοποιήσετε τη μορφή αρχείου v2 για το φύλλο δείγματος ώστε να διαμορφώσετε τις ρυθμίσεις της εκτέλεσης. Δημιουργήστε το φύλλο δείγματος στο Instrument Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης οργάνου) ή με επεξεργασία του *Προτύπου φύλλου δείγματος v2 των συστημάτων αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000*. Κατά την επεξεργασία του φύλλου δείγματος βεβαιωθείτε ότι οι ενότητες και τα πεδία που ακολουθούν περιλαμβάνονται με τη σειρά που παρατίθεται και πληρούν τις απαιτήσεις. Μετά την επεξεργασία, χρησιμοποιήστε μια φορητή ή μια σταθερή μονάδα δίσκου δικτύου για να μεταφέρετε το φύλλο δείγματος στα συστήματα αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000. Όταν μεταβείτε στο φύλλο δείγματος στο λογισμικό ελέγχου, το φύλλο δείγματος θα αντιγραφεί σε έναν φάκελο πριν από την εκτέλεση στο όργανο και η φορητή μονάδα δίσκου θα μπορεί πλέον να αφαιρεθεί.

Βεβαιωθείτε ότι οι ρυθμίσεις v2 του φύλλου δείγματος πληρούν τις παρακάτω απαιτήσεις:

- Οι αλληλουχίες ευρετηρίου που καθορίζονται στην ενότητα BCLConvert_Data του φύλλου δεδομένων θα πρέπει να αντιστοιχούν στο κιτ ευρετηρίου που επιλέχθηκε στο NextSeq 1000/2000.
- Εάν χρησιμοποιείται το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.2, η έκδοση του DRAGEN που καθορίζεται στο φύλλο δείγματος πρέπει να είναι εγκατεστημένη και ενεργή στο σύστημα. Για πληροφορίες σχετικά με την εγκατάσταση, ανατρέξτε στην ενότητα [Ενημερώσεις λογισμικού στη σελίδα 84](#).
- Εάν χρησιμοποιείται το λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3, η έκδοση του DRAGEN που καθορίζεται στο φύλλο δείγματος πρέπει να είναι εγκατεστημένη στο σύστημα. Το λογισμικό ελέγχου εντοπίζει αυτόματα την έκδοση του DRAGEN από το φύλλο δείγματος και σας ζητά να αλλάξετε ενεργές εκδόσεις, εάν χρειάζεται. Για πληροφορίες σχετικά με την εγκατάσταση, ανατρέξτε στην ενότητα [Ενημερώσεις λογισμικού στη σελίδα 84](#).

Εάν χρησιμοποιείτε το DRAGEN, θα χρειαστεί να διαμορφώσετε επιπρόσθετες ρυθμίσεις. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα [Ρυθμίσεις φύλλων δείγματος DRAGEN στη σελίδα 102](#)

Πραγματοποιήστε λήψη του προτύπου v2 φύλλο δείγματος από την ενότητα Product Files (Αρχεία προϊόντος) στη σελίδα υποστήριξης των συστημάτων αλληλούχισης NextSeq 1000 και NextSeq 2000. Εάν έχετε δημιουργήσει ένα φύλλο δείγματος χρησιμοποιώντας το Instrument Run Setup, η τροποποίηση του φύλλου δείγματος μετά την αρχική λήψη μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αποτυχία της ανάλυσης.

Τα ονόματα των αρχείων δεν επιτρέπεται να περιέχουν ειδικούς χαρακτήρες.

Απαιτήσεις ενότητας [Header]

Η ενότητα [Header] περιλαμβάνει γενικές πληροφορίες σχετικά με την εκτέλεση. Τα διαθέσιμα πεδία της ενότητας [Header] και οι περιγραφές τους παρουσιάζονται παρακάτω.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
FileFormatVersion	Ναι	Η έκδοση του φύλλου δείγματος. Εισαγάγετε τον αριθμό 2 για την τιμή.
RunName	Όχι	Μοναδικό όνομα εκτέλεσης της επιλογής σας. Το RunName μπορεί να περιέχει αλφαριθμητικούς χαρακτήρες, κάτω παύλες, παύλες και τελείες. Εάν το RunName περιέχει διαστήματα ή ειδικούς χαρακτήρες, η ανάλυση θα αποτύχει.
RunDescription	Όχι	Περιγραφή της εκτέλεσης.
InstrumentPlatform	Όχι	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	Όχι	NextSeq 1000/2000

Απαιτήσεις ενότητας [Reads]

Η ενότητα [Reads] περιγράφει τον αριθμό των κύκλων αλληλούχισης που χρησιμοποιούνται για την ανάγνωση 1 και 2 των γονιδιωμάτων και του ευρετηρίου. Τα διαθέσιμα πεδία της ενότητας [Reads] και οι περιγραφές τους παρουσιάζονται παρακάτω.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Read1Cycles	Ναι	Ο αριθμός των κύκλων στην πρώτη ανάγνωση. Η τιμή πρέπει να είναι ακέραιος αριθμός μεγαλύτερος από το μηδέν.
Read2Cycles	Όχι	Ο αριθμός των κύκλων στη δεύτερη ανάγνωση.
Index1Cycles	Όχι	Ο αριθμός των κύκλων στην πρώτη ανάγνωση ευρετηρίου. Υποχρεωτικό πεδίο όταν υποβάλλονται σε αλληλούχιση περισσότερα από ένα δείγματα. Ο μέγιστος αριθμός κύκλων είναι 10.
Index2Cycles	Όχι	Ο αριθμός των κύκλων στη δεύτερη ανάγνωση ευρετηρίου. Ο μέγιστος αριθμός κύκλων είναι 10.

Απαιτήσεις ενότητας [Sequencing_Settings]

Χρησιμοποιήστε την ενότητα [Sequencing_Settings] για να καθορίσετε το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που χρησιμοποιείτε.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
LibraryPrepKits	Όχι	<p>Το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που χρησιμοποιείτε. Επιτρέπεται μόνο ένα κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης. Στο λογισμικό ελέγχου NextSeq 1000/2000 έκδ. 1.3, η απαιτούμενη προσαρμοσμένη συνταγή επιλέγεται αυτόματα, εφόσον το κιτ Illumina Stranded Total RNA Prep με Ribo-Zero Plus ή το κιτ Illumina Stranded mRNA Prep έχει καθοριστεί ως το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης.</p> <p>Εισαγάγετε μία από τις ακόλουθες τιμές.</p> <ul style="list-style-type: none"> Κιτ Illumina Stranded Total RNA Prep με Ribo-Zero Plus — ILMNStrandedTotalRNA Κιτ Illumina Stranded mRNA Prep — ILMNStrandedmRNA

Απαιτήσεις ενοτήτων BCL Convert

Οι ενότητες BCL Convert (Μετατροπή BCL) παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη μετατροπή των δεδομένων σας από BCL σε FASTQ. Οι επιλογές BCL Convert περιλαμβάνουν δύο ξεχωριστές ενότητες: [BCLConvert_Settings] και [BCLConvert_Data]. Οι ενότητες BCL Convert απαιτούν πληροφορίες σχετικά με αλληλουχίες προσαρμογών ευρετηρίου. Για να προσδιορίσετε τη συμβατή αλληλουχία προσαρμογών για κάθε ανάγνωση και ευρετήριο, ανατρέξτε στις *Αλληλουχίες προσαρμογές Illumina* (αρ. εγγράφου 1000000002694).

Τα διαθέσιμα πεδία της ενότητας [BCLConvert_Settings] και οι περιγραφές τους παρουσιάζονται παρακάτω.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
SoftwareVersion	Ναι	<p>Η έκδοση του τρέχοντος εγκατεστημένου λογισμικού DRAGEN στο σύστημα. Χρησιμοποιήστε και τους τρεις ακέραιους αριθμούς που περιλαμβάνονται στο όνομα της έκδοσης. Για παράδειγμα, 3.5.7.</p>

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
BarcodeMismatchesIndex1	Όχι	Ο αριθμός των επιτρεπόμενων αναντιστοιχιών ανάμεσα στην πρώτη ανάγνωση ευρετηρίου και στην πρώτη αλληλουχία ευρετηρίου. Οι τιμές μπορούν να είναι είτε 0,1 είτε 2. Η προεπιλεγμένη τιμή είναι 1.
BarcodeMismatchesIndex2	Όχι	Ο αριθμός των επιτρεπόμενων αναντιστοιχιών ανάμεσα στη δεύτερη ανάγνωση ευρετηρίου και στη δεύτερη αλληλουχία ευρετηρίου. Οι τιμές μπορούν να είναι είτε 0,1 είτε 2. Η προεπιλεγμένη τιμή είναι 1.
FastqCompressionFormat	Όχι	Για την εξαγωγή των αρχείων FASTQ ως αρχεία *.gz file, εισαγάγετε <code>gzip</code> . Για την αποθήκευση των αρχείων FASTQ ως αρχεία *.ora και τη χρήση τους με το DRAGEN Decompression, εισαγάγετε <code>dragen</code> .
AdapterRead1	Όχι	Η αλληλουχία προς περικοπή ή απόκρυψη από το τέλος της ανάγνωσης 1. Αλληλουχία προσαρμογών ανάγνωσης 1 που περιέχει A, C, G ή T. Από προεπιλογή το AdapterRead1 περικόπτει τους κύκλους.
AdapterRead2	Όχι	Η αλληλουχία προς περικοπή ή απόκρυψη από το τέλος της ανάγνωσης 2. Αλληλουχία προσαρμογών ανάγνωσης 2 που περιέχει A, C, G ή T. Από προεπιλογή το AdapterRead2 περικόπτει τους κύκλους.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
OverrideCycles	Όχι	<p>Συμβολοσειρά που χρησιμοποιείται για τον καθορισμό των κύκλων UMI και την απόκρυψη των κύκλων μιας ανάγνωσης. Επιτρέπονται οι εξής τιμές:</p> <ul style="list-style-type: none"> N—Καθορίζει τους κύκλους που θα αγνοηθούν. Y—Καθορίζει τους κύκλους αλληλούχισης. I—Καθορίζει τους κύκλους ευρετηρίου. U—Καθορίζει τους κύκλους UMI που θα περικοπούν. <p>Κάθε στοιχείο χωρίζεται με ελληνικό ερωτηματικό. Παρακάτω παρουσιάζεται ένα παράδειγμα δεδομένων εισόδου για τη ρύθμιση OverrideCycles.</p> <p>U8Y143; I8; I8; U8Y143 N10Y66; I6; N10Y66</p>

Τα διαθέσιμα πεδία της ενότητας [BCLConvert_Data] και οι περιγραφές τους παρουσιάζονται παρακάτω.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Sample_ID	Ναι	<p>Το αναγνωριστικό του δείγματος. Το αναγνωριστικό του δείγματος μπορεί να περιέχει έως και 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες, παύλες και κάτω παύλες. Στο αναγνωριστικό γίνεται διάκριση πεζών-κεφαλαίων γραμμάτων. Κάθε αναγνωριστικό πρέπει να χωρίζεται με παύλα ή κάτω παύλα. Για παράδειγμα, Sample1-DQB1-022515.</p>

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Index	Όχι	Η αλληλουχία ευρετηρίου που σχετίζεται με το δείγμα. Επιτρέπονται μόνο τα A, C, T, G. Υποχρεωτικό πεδίο όταν υποβάλλονται σε αλληλούχιση περισσότερα από ένα δείγματα.
Index2	Όχι	Η αλληλουχία του δεύτερου ευρετηρίου που σχετίζεται με το δείγμα. Επιτρέπονται μόνο τα A, C, T, G. Βεβαιωθείτε ότι οι αλληλουχίες προσαρμογών του δεύτερου ευρετηρίου (i5) έχουν προσανατολισμό προς τα εμπρός. Το DRAGEN συμπληρώνει αυτόματα τα ευρετήρια i5 αντίστροφα κατά τη διάρκεια της δευτερεύουσας ανάλυσης.
Lane	Όχι	Η λωρίδα της κυψελίδας ροής. Οι λωρίδες παριστάνονται με μία ακέραιη τιμή.

Ρυθμίσεις φύλλων δείγματος DRAGEN

Στην παρούσα ενότητα περιγράφονται οι απαιτήσεις των φύλλων δείγματος για κάθε διαδικασία DRAGEN. Προσθέστε τις ρυθμίσεις διαδικασιών DRAGEN ως τελευταία ενότητα στο φύλλο δείγματος. Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε μόνο μία διαδικασία DRAGEN.

Κάθε διαδικασία DRAGEN περιλαμβάνει χωριστές ενότητες για ρυθμίσεις και δεδομένα.

Απαιτήσεις διαδικασίας DRAGEN Germline

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenGermline_Settings].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
SoftwareVersion	Ναι	Η έκδοση του τρέχοντος εγκατεστημένου λογισμικού DRAGEN στο σύστημα. Χρησιμοποιήστε και τους τρεις ακέραιους αριθμούς που περιλαμβάνονται στο όνομα της έκδοσης. Για παράδειγμα, 3.5.7. Η έκδοση του λογισμικού πρέπει να ταιριάζει με την έκδοση που καθορίζεται στην ενότητα BCLConvert_Settings.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
ReferenceGenomeDir	Ναι	Το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς. Για παράδειγμα, hg19_alt_aware. Χρησιμοποιήστε το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς που βρίσκεται στο <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Για να χρησιμοποιήσετε ένα προσαρμοσμένο γονιδίωμα αναφοράς, ανατρέξτε στην <i>ηλεκτρονική βοήθεια για την εφαρμογή Reference Builder έκδ. 1.0.0 για όργανα Illumina</i> .
MapAlignOutFormat	Όχι	Η μορφή του αρχείου εξόδου. Οι επιτρεπόμενες τιμές είναι bam ή cram. Εάν δεν καθοριστεί τιμή, η προεπιλογή είναι none (καμία).
KeepFastq	Όχι	Για να αποθηκεύσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>true</code> . Για να αφαιρέσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>false</code> .

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenGermline_Data].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Sample_ID	Ναι	Το αναγνωριστικό του δείγματος. Το αναγνωριστικό του δείγματος μπορεί να περιέχει μέχρι 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες. Στο αναγνωριστικό γίνεται διάκριση πεζών-κεφαλαίων γραμμάτων. Κάθε αναγνωριστικό πρέπει να χωρίζεται με παύλα. Για παράδειγμα, Sample1-DQB1-022515. Τα αναγνωριστικά δείγματος πρέπει να ταιριάζουν με τα αναγνωριστικά που καθορίζονται στην ενότητα BCLConvert_Data.

Απαιτήσεις διαδικασίας DRAGEN RNA

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DrogenRNA_Settings].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
SoftwareVersion	Ναι	Η έκδοση του τρέχοντος εγκατεστημένου λογισμικού DRAGEN στο σύστημα. Χρησιμοποιήστε και τους τρεις ακέραιους αριθμούς που περιλαμβάνονται στο όνομα της έκδοσης. Για παράδειγμα, 3.5.7. Η έκδοση του λογισμικού πρέπει να ταιριάζει με την έκδοση που καθορίζεται στην ενότητα BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Ναι	Το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς. Για παράδειγμα, hg38_noalt_with_decoy. Χρησιμοποιήστε το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς που βρίσκεται στο <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Για να χρησιμοποιήσετε ένα προσαρμοσμένο γονιδίωμα αναφοράς, ανατρέξτε στην ηλεκτρονική βοήθεια για την εφαρμογή <i>Reference Builder</i> έκδ. 1.0.0 για όργανα Illumina.
RnaGeneAnnotationFile	Όχι	Το αρχείο που περιέχει επισημειώσεις γονιδίων RNA. Επιτρέπονται μόνο αλφαριθμητικοί χαρακτήρες. Εάν δεν παρέχεται, θα χρησιμοποιηθεί το προεπιλεγμένο αρχείο επισημείωσης που περιλαμβάνεται στο καθορισμένο γονιδίωμα αναφοράς.
MapAlignOutFormat	Όχι	Η μορφή του αρχείου εξόδου. Οι επιτρεπόμενες τιμές είναι bam ή cram. Εάν δεν καθοριστεί τιμή, η προεπιλογή είναι none (καμία).
KeepFastq	Όχι	Για να αποθηκεύσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>true</code> . Για να αφαιρέσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>false</code> .
DifferentialExpressionEnable	Όχι	Για να ενεργοποιήσετε τη διαφορική έκφραση γονιδίων εισαγάγετε <code>true</code> . Εισαγάγετε <code>false</code> για να εξαιρεθεί η διαφορική έκφραση γονιδίων από την ανάλυση.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenRna_Data].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Sample_ID	Ναι	Το αναγνωριστικό του δείγματος. Το αναγνωριστικό του δείγματος μπορεί να περιέχει μέχρι 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες. Στο αναγνωριστικό γίνεται διάκριση πεζών-κεφαλαίων γραμμάτων. Κάθε αναγνωριστικό πρέπει να χωρίζεται με παύλα. Για παράδειγμα, Sample1-DQB1-022515. Τα αναγνωριστικά δείγματος πρέπει να ταιριάζουν με τα αναγνωριστικά που καθορίζονται στην ενότητα BCLConvert_Data.
Comparison<N>	Όχι	Η τιμή του ελέγχου ή της σύγκρισης για κάθε δείγμα. Εάν δεν υπάρχει τιμή ελέγχου ή σύγκρισης για το δείγμα, στο δείγμα εκχωρείται η τιμή na. Όλα τα δείγματα που έχουν επισημανθεί ως δείγματα ελέγχου συγκρίνονται με όλα τα δείγματα που έχουν επισημανθεί ως δείγματα σύγκρισης. Η τιμή N αντικατοπτρίζει την ομάδα σύγκρισης των δειγμάτων.

Απαιτήσεις διαδικασίας DRAGEN Enrichment

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenEnrichment_Settings].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
SoftwareVersion	Ναι	Η έκδοση του τρέχοντος εγκατεστημένου λογισμικού DRAGEN στο σύστημα. Χρησιμοποιήστε και τους τρεις ακέραιους αριθμούς που περιλαμβάνονται στο όνομα της έκδοσης. Για παράδειγμα, 3.5.7. Η έκδοση του λογισμικού πρέπει να ταιριάζει με την έκδοση που καθορίζεται στην ενότητα BCLConvert_Settings.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
ReferenceGenomeDir	Ναι	Το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς. Για παράδειγμα, hg38_alt_aware. Τα γονιδιώματα αναφοράς βρίσκονται στο <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Για να χρησιμοποιήσετε ένα προσαρμοσμένο γονιδίωμα αναφοράς, ανατρέξτε στην ηλεκτρονική βοήθεια για την εφαρμογή <i>Reference Builder</i> έκδ. 1.0.0 για όργανα <i>Illumina</i> .
BedFile	Ναι	Το αρχείο bed που περιέχει τις περιοχές που θα στοχευθούν.
GermlineOrSomatic	Ναι	Για να εκτελέσετε ανάλυση βλαστικής σειράς εμπλουτισμού εισαγάγετε <code>germline</code> . Για να εκτελέσετε σωματική ανάλυση εμπλουτισμού εισαγάγετε <code>somatic</code> .
KeepFastq	Όχι	Για να αποθηκεύσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>true</code> . Για να αφαιρέσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	Όχι	Η μορφή του αρχείου εξόδου. Οι επιτρεπόμενες τιμές είναι <code>bam</code> ή <code>cram</code> . Εάν δεν καθοριστεί τιμή, η προεπιλογή είναι <code>none</code> (καμία).
AuxNoiseBaselineFile	Όχι	Το όνομα του αρχείου τιμής αναφοράς θορύβου. Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε μορφή αρχείων <code>*.txt</code> ή <code>*.gz</code> . Τα αρχεία τιμής αναφοράς θορύβου είναι διαθέσιμα μόνο όταν χρησιμοποιείται λειτουργία σωματικής ανάλυσης. Για περισσότερες πληροφορίες ανατρέξτε στην ενότητα Εισαγωγή αρχείων τιμής αναφοράς θορύβου στη σελίδα 19.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenEnrichment_Data].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Sample_ID	Ναι	Το αναγνωριστικό του δείγματος. Το αναγνωριστικό του δείγματος μπορεί να περιέχει μέχρι 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες. Στο αναγνωριστικό γίνεται διάκριση πεζών-κεφαλαίων γραμμάτων. Κάθε αναγνωριστικό πρέπει να χωρίζεται με παύλα. Για παράδειγμα, Sample1-DQB1-022515. Τα αναγνωριστικά δείγματος πρέπει να ταιριάζουν με τα αναγνωριστικά που καθορίζονται στην ενότητα BCLConvert_Data.

Απαιτήσεις διαδικασίας DRAGEN DNA Amplicon

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenAmplicon_Settings].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
SoftwareVersion	Ναι	Η έκδοση του τρέχοντος εγκατεστημένου λογισμικού DRAGEN στο σύστημα. Χρησιμοποιήστε και τους τρεις ακέραιους αριθμούς που περιλαμβάνονται στο όνομα της έκδοσης. Για παράδειγμα, 3.5.7. Η έκδοση του λογισμικού πρέπει να ταιριάζει με την έκδοση που καθορίζεται στην ενότητα BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Ναι	Το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς. Για παράδειγμα, hg38_alt_aware. Τα γονιδιώματα αναφοράς βρίσκονται στο /usr/local/illumina/genomes. Για να χρησιμοποιήσετε ένα προσαρμοσμένο γονιδίωμα αναφοράς, ανατρέξτε στην ηλεκτρονική βοήθεια για την εφαρμογή <i>Reference Builder</i> έκδ. 1.0.0 για όργανα <i>Illumina</i> .
DnaBedFile	Ναι	Το αρχείο bed που περιέχει τις περιοχές που θα στοχευθούν. Το αρχείο bed μπορεί να εισαχθεί σε μορφή *.txt ή *.gz.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
DnaGermlineOrSomatic	Ναι	Για να εκτελέσετε ανάλυση βλαστικής σειράς DNA Amplicon εισαγάγετε <code>germline</code> . Για να εκτελέσετε σωματική ανάλυση DNA Amplicon εισαγάγετε <code>somatic</code> .
KeepFastq	Όχι	Για να αποθηκεύσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>true</code> . Για να αφαιρέσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	Όχι	Η μορφή του αρχείου εξόδου. Οι επιτρεπόμενες τιμές είναι <code>bam</code> ή <code>cram</code> . Εάν δεν καθοριστεί τιμή, η προεπιλογή είναι <code>none</code> (καμία).

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenAmplicon_Data].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Sample_ID	Ναι	Το αναγνωριστικό του δείγματος. Το αναγνωριστικό του δείγματος μπορεί να περιέχει μέχρι 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες. Στο αναγνωριστικό γίνεται διάκριση πεζών-κεφαλαίων γραμμάτων. Κάθε αναγνωριστικό πρέπει να χωρίζεται με παύλα. Για παράδειγμα, <code>Sample1-DQB1-022515</code> . Τα αναγνωριστικά δείγματος πρέπει να ταιριάζουν με τα αναγνωριστικά που καθορίζονται στην ενότητα <code>BCLConvert_Data</code> .
DnaOrRna	Ναι	Ο τύπος της ανάλυσης Amplicon που θα εκτελεστεί. Μόνο ανάλυση DNA υποστηρίζεται για το DRAGEN έκδ. 3.8. Εισαγάγετε <code>dna</code> .

Απαιτήσεις διαδικασίας DRAGEN Single Cell RNA

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenSingleCellRNA_Settings]. Για πληροφορίες σχετικά με τη συμβατότητα των κιτ άλλων κατασκευαστών ανατρέξτε στη σελίδα υποστήριξης DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility.

Κιτ Single Cell Library 1—5

Οι παρακάτω ρυθμίσεις φύλλου δείγματος ισχύουν για τα κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης με την ίδια γενετική δομή με τα κιτ DRAGEN Single Cell Library 1—5. Χρησιμοποιήστε τη σελίδα υποστήριξης DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility για να επιβεβαιώσετε τη γενετική δομή για το κιτ που διαθέτετε.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
SoftwareVersion	Ναι	Η έκδοση του τρέχοντος εγκατεστημένου λογισμικού DRAGEN στο σύστημα. Χρησιμοποιήστε και τους τρεις ακέραιους αριθμούς που περιλαμβάνονται στο όνομα της έκδοσης. Για παράδειγμα, 3.5.7. Η έκδοση του λογισμικού πρέπει να ταιριάζει με την έκδοση που καθορίζεται στην ενότητα BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Ναι	Το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς. Για παράδειγμα, hg38_alt_aware. Τα γονιδιώματα αναφοράς βρίσκονται στο /usr/local/illumina/genomes. Για να χρησιμοποιήσετε ένα προσαρμοσμένο γονιδίωμα αναφοράς, ανατρέξτε στην ηλεκτρονική βοήθεια για την εφαρμογή <i>Reference Builder</i> έκδ. 1.0.0 για όργανα <i>Illumina</i> .
RnaLibraryType	Όχι	Εισαγάγετε μία από τις ακόλουθες τιμές: <ul style="list-style-type: none"> • SF—Αλυσίδα προσανατολισμένη προς τα εμπρός. Η τιμή SF είναι η προεπιλεγμένη. • SR—Αλυσίδα προσανατολισμένη προς τα πίσω. • U—Χωρίς αλυσίδα.
RnaGeneAnnotationFile	Όχι	Το αρχείο που περιέχει επισημειώσεις γονιδίων RNA. Επιτρέπονται μόνο αλφαριθμητικοί χαρακτήρες. Εάν δεν παρέχεται, θα χρησιμοποιηθεί το προεπιλεγμένο αρχείο επισημείωσης που περιλαμβάνεται στο καθορισμένο γονιδίωμα αναφοράς.
BarcodeRead	Όχι	Η θέση μέσα στην εκτέλεση αλληλούχισης της ανάγνωσης του γραμμωτού κωδικού, η οποία περιέχει τον γραμμωτό κωδικό και το UMI. Το πεδίο μπορεί να περιέχει τις τιμές Read1 ή Read2. Η προεπιλεγμένη τιμή είναι Read1.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
BarcodePosition	Ναι	<p>Η θέση των βάσεων που αντιστοιχούν στον γραμμωτό κωδικό μέσα στην τιμή που εισήχθη για το BarcodeRead. Οι θέσεις των βάσεων είναι ευρετηριασμένες ξεκινώντας από τη θέση μηδέν. Εισαγάγετε την τιμή BarcodePosition με την ακόλουθη μορφή:</p> <pre>0_<barcode end position></pre> <p>Για παράδειγμα, εάν ένας γραμμωτός κωδικός περιέχει 16 βάσεις, η τιμή είναι 0_15.</p>
UmiPosition	Ναι	<p>Η θέση των βάσεων που αντιστοιχούν στο UMI μέσα στην τιμή που εισήχθη για το BarcodeRead. Εισαγάγετε την τιμή UmiPosition με την ακόλουθη μορφή:</p> <pre><UMI start position>_<UMI end position></pre> <p>Για παράδειγμα, εάν το UMI περιέχει 10 βάσεις και ο γραμμωτός κωδικός περιέχει 16, η τιμή είναι 16_25.</p>
BarcodeSequenceWhitelist	Όχι	<p>Το όνομα του αρχείου που περιέχει τις αλληλουχίες γραμμωτών κωδικών που θα περιληφθούν. Το όνομα του αρχείου μπορεί να περιέχει μόνο αλφαριθμητικούς χαρακτήρες, παύλες, κάτω παύλες και τελείες.</p>
KeepFastq	Όχι	<p>Για να αποθηκεύσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>true</code>. Για να αφαιρέσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>false</code>.</p>
MapAlignOutFormat	Όχι	<p>Η μορφή του αρχείου εξόδου. Οι επιτρεπόμενες τιμές είναι <code>bam</code> ή <code>cram</code>. Εάν δεν καθοριστεί τιμή, η προεπιλογή είναι <code>none</code> (καμία).</p>

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenSingleCellRNA_Data].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Sample_ID	Ναι	Το αναγνωριστικό του δείγματος. Το αναγνωριστικό του δείγματος μπορεί να περιέχει μέχρι 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες. Στο αναγνωριστικό γίνεται διάκριση πεζών-κεφαλαίων γραμμάτων. Κάθε αναγνωριστικό πρέπει να χωρίζεται με παύλα. Για παράδειγμα, Sample1-DQB1-022515. Τα αναγνωριστικά δείγματος πρέπει να ταιριάζουν με τα αναγνωριστικά που καθορίζονται στην ενότητα BCLConvert_Data.

Κιτ Single Cell Library 6

Οι παρακάτω ρυθμίσεις φύλλου δείγματος ισχύουν για τα κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης με την ίδια γενετική δομή με τα κιτ DRAGEN Single Cell Library 6. Χρησιμοποιήστε τη σελίδα υποστήριξης DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility για να επιβεβαιώσετε τη γενετική δομή για το κιτ που διαθέτετε.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
SoftwareVersion	Ναι	Η έκδοση του τρέχοντος εγκατεστημένου λογισμικού DRAGEN στο σύστημα. Χρησιμοποιήστε και τους τρεις ακέραιους αριθμούς που περιλαμβάνονται στο όνομα της έκδοσης. Για παράδειγμα, 3.5.7. Η έκδοση του λογισμικού πρέπει να ταιριάζει με την έκδοση που καθορίζεται στην ενότητα BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Ναι	Το όνομα του γονιδιώματος αναφοράς. Για παράδειγμα, hg38_alt_aware. Τα γονιδιώματα αναφοράς βρίσκονται στο <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Για να χρησιμοποιήσετε ένα προσαρμοσμένο γονιδίωμα αναφοράς, ανατρέξτε στην ηλεκτρονική βοήθεια για την εφαρμογή <i>Reference Builder</i> έκδ. 1.0.0 για όργανα <i>Illumina</i> .
RnaLibraryType	Όχι	Εισαγάγετε μία από τις ακόλουθες τιμές: <ul style="list-style-type: none"> SE—Αλυσίδα προσανατολισμένη προς τα εμπρός. SR—Αλυσίδα προσανατολισμένη προς τα πίσω. U—Χωρίς αλυσίδα.
RnaGeneAnnotationFile	Όχι	Το αρχείο που περιέχει επισημειώσεις γονιδίων RNA. Επιτρέπονται μόνο αλφαριθμητικοί χαρακτήρες. Εάν δεν παρέχεται, θα χρησιμοποιηθεί το προεπιλεγμένο αρχείο επισημείωσης που περιλαμβάνεται στο καθορισμένο γονιδίωμα αναφοράς.
BarcodeRead	Όχι	Η θέση μέσα στην εκτέλεση αλληλούχισης της ανάγνωσης του γραμμωτού κωδικού, η οποία περιέχει τον γραμμωτό κωδικό και το UMI. Το πεδίο μπορεί να περιέχει τις τιμές Read1 ή Read2. Η προεπιλεγμένη τιμή είναι Read1.

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
BarcodePosition	Ναι	<p>Η θέση των βάσεων που αντιστοιχούν στους γραμμωτούς κωδικούς μέσα στην τιμή που εισήχθη για το BarcodeRead. Οι θέσεις των βάσεων είναι ευρετηριασμένες ξεκινώντας από τη θέση μηδέν. Εισαγάγετε την τιμή BarcodePosition με την ακόλουθη μορφή:</p> <pre>0_<first barcode end position>+<second barcode start position>_<second barcode end position>+<third barcode start position>_<third barcode end position></pre> <p>Για παράδειγμα, η ακόλουθη δομή θα είχε ως αποτέλεσμα την τιμή 0_8+21_29+43_51:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Εννιά βάσεις στον πρώτο γραμμωτό κωδικό (0_8). • 12 βάσεις ανάμεσα στον πρώτο και στον δεύτερο γραμμωτό κωδικό. • Εννιά βάσεις στον δεύτερο γραμμωτό κωδικό (21_29). • 13 βάσεις ανάμεσα στον δεύτερο και στον τρίτο γραμμωτό κωδικό. • 9 βάσεις στον τρίτο γραμμωτό κωδικό (43_51).
UmiPosition	Ναι	<p>Η θέση των βάσεων που αντιστοιχούν στο UMI μέσα στο καθορισμένο BarCodeRead. Εισαγάγετε τη συμβολοσειρά με την ακόλουθη μορφή:</p> <pre><UMI start position>_<UMI end position></pre> <p>Για παράδειγμα, εάν το UMI περιέχει οχτώ βάσεις και ο αριθμός των βάσεων πριν από το UMI ανέρχεται σε 51, η τιμή είναι 52_59.</p>
BarcodeSequenceWhitelist	Όχι	<p>Το όνομα του αρχείου που περιέχει την αλληλουχία γραμμωτού κωδικού που θα περιληφθεί στη λίστα επιτρεπόμενων. Το όνομα του αρχείου μπορεί να περιέχει μόνο αλφαριθμητικούς χαρακτήρες, παύλες, κάτω παύλες και τελείες.</p>

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
KeepFastq	Όχι	Για να αποθηκεύσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>true</code> . Για να αφαιρέσετε αρχεία εξόδου FASTQ εισαγάγετε <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	Όχι	Η μορφή του αρχείου εξόδου. Οι επιτρεπόμενες τιμές είναι <code>bam</code> ή <code>cram</code> . Εάν δεν καθοριστεί τιμή, η προεπιλογή είναι <code>none</code> (καμία).

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαθέσιμα πεδία και περιγραφές [DragenSingleCellRNA_Data].

Πεδίο	Υποχρεωτικό	Περιγραφή
Sample_ID	Ναι	Το αναγνωριστικό του δείγματος. Το αναγνωριστικό του δείγματος μπορεί να περιέχει μέχρι 20 αλφαριθμητικούς χαρακτήρες. Στο αναγνωριστικό γίνεται διάκριση πεζών-κεφαλαίων γραμμάτων. Κάθε αναγνωριστικό πρέπει να χωρίζεται με παύλα. Για παράδειγμα, <code>Sample1-DQB1-022515</code> . Τα αναγνωριστικά δείγματος πρέπει να ταιριάζουν με τα αναγνωριστικά που καθορίζονται στην ενότητα <code>BCLConvert_Data</code> .

Αλληλούχιση νυχτερινού κύκλου

Στην παρούσα ενότητα περιγράφεται ο τρόπος χρήσης της αλληλούχισης νυχτερινού κύκλου στη συνταγή.

Η αλληλούχιση νυχτερινού κύκλου χρησιμοποιείται για την ολοκλήρωση μόνο των βημάτων χημικής ανάλυσης ενός κύκλου αλληλούχισης. Ελέγξτε τη σελίδα των συμβατών προϊόντων για το κιτ προετοιμασίας βιβλιοθήκης που διαθέτετε στην [τοποθεσία υποστήριξης της Illumina](#) για να δείτε εάν απαιτείται αλληλούχιση νυχτερινού κύκλου.

Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα για την αλληλούχιση νυχτερινού κύκλου.

Επεξεργασία του αρχείου συνταγής

1. Πραγματοποιήστε λήψη του αρχείου XML της συνταγής από την [τοποθεσία υποστήριξης της Illumina](#).
2. Επεξεργασία του αρχείου XML της συνταγής
 - a. Εντοπίστε το κατάλληλο τμήμα πρωτοκόλλου με βάση την ανάγνωση και τη διαμόρφωση αλληλούχισης ευρετηρίου. Υπάρχουν έξι διαφορετικά πιθανά πρωτόκολλα ανά προσαρμοσμένη συνταγή που μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία.

Για παράδειγμα, το πρωτόκολλο για μια μεμονωμένη Ανάγνωση 1 χωρίς διαμόρφωση αλληλούχισης ευρετηρίου θα είναι `<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >`.

- b. Πριν από το `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` και το `<ReadRef ReadName="Read 2"/>` εισαγάγετε το ακόλουθο βήμα νυχτερινού κύκλου σε μια νέα γραμμή.
`<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />`.
- c. Εισαγάγετε το βήμα νυχτερινού κύκλου σε μια νέα γραμμή για κάθε νυχτερινό κύκλο που απαιτείται.

3. Αποθηκεύστε το αρχείο XML της συνταγής.

Το παρακάτω είναι ένα παράδειγμα συνταγής με νυχτερινό κύκλο:

```
<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" />
  ...
```

Σύνδεση της συνταγής στην εκτέλεση

- 1 Στο στοιχείο Run Setup (Ρύθμιση εκτέλεσης) στο λογισμικό ελέγχου, επιλέξτε **Choose** (Επιλογή) στην ενότητα Custom Recipe (Προσαρμοσμένη συνταγή).
- 2 Μεταβείτε στο ενημερωμένο αρχείο XML της συνταγής.
- 3 Επιλέξτε **Open** (Άνοιγμα).
4. Επιστρέψτε στην ενότητα [Εναρξη εκτέλεσης αλληλούχισης στη σελίδα 51](#).

Ευρετήριο

%

%PF 66

B

BaseSpace Sequence Hub

ρυθμίσεις 14

τεκμηρίωση 14

bcl2fastq2 61

C

CE 61

Compute Engine 61

P

phasing και prephasing 64

PhiX

ευθυγράμμιση 61

PhiX Control έκδ. 3 29

R

RunInfo.xml 68

U

Universal Copy Service 84

Universal Copy Service, Local Run Manager,

οικογένεια λογισμικού, ανάλυση

εικόνας, αντιστοίχιση βάσης, ανάλυση

μέθοδοι 5

W

white papers 67

Windows

σύνδεση 93

A

αλγόριθμος Phred 67

αλληλούχιση δύο καναλιών 65

αλληλούχιση ενός άκρου 55

αλληλούχιση συζευγμένων άκρων 55

αναλώσιμα

σάρωση 57

ανεμιστήρες 88

ανταλλακτικά 88

αντιδραστήρια NextSeq 1000/2000 29

απεικόνιση 61-62

αποδιάταξη, βιβλιοθήκες

αποδιάταξη, ενίσχυση, βιβλιοθήκες

αραιώσης 9

αποτυχίες καταχώρισης 64

απώλεια συνδέσεων 93

αρίθμηση επιφάνειας 63

αρίθμηση πλακιδίου 63

αριθμοί καταλόγου 29

αρχεία CBCL 67

αρχεία InterOp 61, 68

αρχεία αντιστοίχισης βάσης 61, 68

αρχεία αντιστοίχισης βάσης, ανάλυση

μέθοδοι 9

αρχεία καταγραφής 62

αρχεία καταγραφής σφαλμάτων 62

αρχεία φίλτρου 61, 68

αρχική ρύθμιση 88

αυτόματες ενημερώσεις 84

B

βαθμολογίες ποιότητας 67

βοήθεια, τεχνική 120

Δ

δεδομένα απόδοσης 14

δεδομένα απόδοσης οργάνου 14

δημιουργία προτύπου 64

διαγραφή εκτελέσεων, σκληρός δίσκος,
χώρος δίσκου, αρχεία BCL, κατάσταση
εκτέλεσης 6
διαδρομές UNC 55
διακόπτης 93

E

εγκατάσταση λογισμικού 84
εικόνες 61
εκτελέσεις
μετρήσεις 61
έλεγχοι συστήματος 90
εντάσεις συστάδων 64
επανεκκίνηση 90
εργοστασιακές προεπιλογές, αρχική ρύθμιση,
υποβάθμιση λογισμικού, λογισμικό
υποβάθμιση, επανεκκίνηση 95
εταιρική συνδρομή 14
ευθυγράμμιση προδιαγραφών 93

Z

ζώνες 62-63

H

ημερομηνίες λήξης 88

Θ

θέσεις συστάδων 61, 68
θέση διακομιστή 14
θέση φιλοξενίας 14
θύρες
κλείσιμο 57
θύρες USB, ποντίκι, πληκτρολόγιο, θύρα
Ethernet, καλώδιο Ethernet, διακόπτης,
εναλλασσόμενο ρεύμα
είσοδος, καλώδιο ρεύματος, μετακίνηση 4

I

ιδιωτικός τομέας 14

K

κάμερες 62
καμία αντιστοίχιση 64-65
κασέτα
προσανατολισμός φόρτωσης 57
κιτ 29
αριθμοί καταλόγου, μαντηλάκια
καθαρισμού, δίσκος στάλαξης
επενδύσεις, επενδύσεις, φίλτρα αέρα
ανταλλακτικά, μαντηλάκια
αλκοόλης, PhiX, εγγύηση, κιτ
δοκιμής 30
κόκκινο κανάλι 65
κουμπί τροφοδοσίας 93
κουμπί τροφοδοσίας, οθόνη, ράβδος
κατάστασης, φωτεινή ράβδος,
διαμέρισμα αναλωσίμων 3
κύκλοι ανάγνωσης, μήκη ανάγνωσης,
αριθμοί κύκλων, επιπλέον κύκλοι,
ευρετήριο
κύκλοι, ρύθμιση εκτέλεσης
παραδείγματα 34

Λ

λειτουργικό σύστημα 93
λογισμικό
εγκατάσταση 84
συναγερμοί ενημερώσεων 24
λωρίδες 62

M

μετατροπή FASTQ 61
μέτρηση εκτέλεσης, τμήματα συνταγής,
διεύθυνση IP, όνομα υπολογιστή,
αριθμός σειράς, ονομασία
όνομα υπολογιστή 6

μη αυτόματες ενημερώσεις λογισμικού 84
μικρογραφίες 68
μονάδα δίσκου D, σκληρός δίσκος, μέγεθος εκτέλεσης, φάκελος εκτέλεσης, φάκελος εξόδου, Διαχείριση διαδικασίας, χώρος δίσκου, διαγραφή εκτελέσεων 83

N

νανοβοθρία 64
νουκλεοτίδια 65

O

ονομασία
όνομα οργάνου 22

Π

παρακολούθηση αναλωσίμων, αναλώσιμα παρακολούθηση, οικογένεια λογισμικού, ανάλυση που βασίζεται στο νέφος, τοπική ανάλυση, BaseSpace Sequence Hub 1

παράμετροι εκτέλεσης
επεξεργασία, επεξεργασία παραμέτρων εκτέλεσης 55

πίνακες ποιότητας 67

πλακίδια 61

ποιότητα δεδομένων 66

πράσινο κανάλι 65

πρόγραμμα εγκατάστασης οικογένειας λογισμικού συστήματος 84

Πρόγραμμα προβολής ανάλυσης αλληλούχησης 61, 64

προδιαγραφές καταψύκτη 31

προδιαγραφές ψυγείου 31

προειδοποιήσεις 93

προειδοποιήσεις, σφάλματα, εικονίδια 6

προεπιλεγμένος φάκελος εξόδου 55

προετοιμασία 93

αποτυχία 93

Προληπτική υποστήριξη Illumina 15

P

ρυθμίσεις ήχου 22

ρυθμιστικό διάλυμα επαναιώρησης 29

Σ

σελίδες υποστήριξης 84

συναγερμοί 84

σύνδεση στο διαδίκτυο 14

συνταγές 84

σφάλματα 93

μηνύματα 90

πιθανότητα 67

T

τεκμηρίωση 120

τερματισμός λειτουργίας 93

τεχνική βοήθεια 120

τιμές έντασης 64

τμήμα υποστήριξης πελατών 120

τομείς 14

Υ

υποκατάστατο RSB 29

Φ

φάκελος εξόδου 55

φίλτρα αέρα

θέση 88

φιλτράρισμα συστάδων 66

φίλτρο αγνότητας 66

φίλτρο διέλευσης (PF) 66

X

χαρτογραφημένες μονάδες δίσκου 55

Ψ

ψευδώνυμο 22

Τεχνική βοήθεια

Για τεχνική βοήθεια, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.

Ιστότοπος: www.illumina.com
Email: techsupport@illumina.com

Τηλεφωνικοί αριθμοί τεχνικής εξυπηρέτησης της Illumina

Περιοχή	Χωρίς χρέωση	Διεθνώς
Αυστραλία	+61 1800 775 688	
Αυστρία	+43 800 006249	+43 1 9286540
Βέλγιο	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Βιετνάμ	+84 1206 5263	
Γαλλία	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Γερμανία	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Δανία	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Ελβετία	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Ηνωμένες Πολιτείες	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Ηνωμένο Βασίλειο	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Ιαπωνία	+81 0800 111 5011	
Ινδία	+91 8006500375	
Ινδονησία		0078036510048
Ιρλανδία	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Ισπανία	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Ιταλία	+39 800 985513	+39 236003759
Καναδάς	+1 800 809 4566	
Κάτω Χώρες	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Κίνα		+86 400 066 5835
Μαλαισία	+60 1800 80 6789	
Νέα Ζηλανδία	+64 800 451 650	
Νορβηγία	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93

Περιοχή	Χωρίς χρέωση	Διεθνώς
Νότια Κορέα	+82 80 234 5300	
Σιγκαπούρη	1 800 5792 745	
Σουηδία	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Ταϊβάν, Κίνα	+886 8 06651752	
Ταϊλάνδη	+66 1800 011 304	
Φιλιππίνες	+63 180016510798	
Φινλανδία	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Χονγκ Κονγκ, Κίνα	+852 800 960 230	

Φύλλα δεδομένων ασφάλειας (SDS)—Διαθέσιμα στον ιστότοπο της Illumina στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

Τεκμηρίωση προϊόντος—Διαθέσιμη για λήψη σε μορφή PDF από τον ιστότοπο support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 Η.Π.Α.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (εκτός Βορείου Αμερικής)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Χρήση μόνο για έρευνα. Όχι για χρήση σε διαγνωστικές διαδικασίες.

© 2021 Illumina, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

illumina®