

# NextSeq 1000 et 2000

## Guide des systèmes de séquençage

EXCLUSIF À ILLUMINA

Document n° 1000000109376 v04 FRA

Avril 2021

**Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser dans le cadre d'examens diagnostiques.**

Ce document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et à ses sociétés affiliées (« Illumina »); ils sont exclusivement destinés à l'usage contractuel de son client dans le cadre de l'utilisation du ou des produits décrits dans les présentes et ne peuvent servir à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin ni communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de ses droits d'auteur ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par ce document.

Les instructions contenues dans ce document doivent être suivies strictement et explicitement par un personnel qualifié et adéquatement formé de façon à assurer l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits dans les présentes. Le contenu intégral de ce document doit être lu et compris avant l'utilisation de ce ou ces produits.

SI UN UTILISATEUR NE LIT PAS COMPLÈTEMENT ET NE SUIT PAS EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES, IL RISQUE DE CAUSER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES, NOTAMMENT AUX UTILISATEURS ET À D'AUTRES PERSONNES, AINSI QUE D'AUTRES DOMMAGES MATÉRIELS, ANNULANT AUSSI TOUTE GARANTIE S'APPLIQUANT AU(X) PRODUIT(S).

ILLUMINA DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION INAPPROPRIÉE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LES PRÉSENTES (Y COMPRIS LEURS COMPOSANTES ET LE LOGICIEL).

© 2021 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# Historique des révisions

N° de document	Date	Description des modifications
1000000109376 v04	Avril 2021	<p>Ajout d'instructions pour l'importation de fichiers de référence.</p> <p>Ajout d'un flux de travail d'amplicons d'ADN de la plateforme DRAGEN.</p> <p>Ajout de fonctionnalités pour le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3.</p> <p>Ajout de renseignements pour la sélection d'un serveur mandataire.</p> <p>Mise à jour de la solution RSB avec la température d'expédition et de stockage Tween 20.</p> <p>Mise à jour du flux de travail d'ARN de la plateforme DRAGEN pour inclure l'expression génique différentielle.</p> <p>Mise à jour de la structure du dossier de sortie de séquençage.</p> <p>Mise à jour des recommandations de formatage de la feuille d'échantillons v2.</p>
1000000109376 v03	Novembre 2020	<p>Correction des numéros de référence.</p> <p>Ajout de renseignements sur l'ajout de nouveaux utilisateurs.</p>

N° de document	Date	Description des modifications
1000000109376 v02	Octobre 2020	<p>Ajout de la trousse de réactifs P3 NextSeq 1000/2000.</p> <p>Ajout du flux de travail DRAGEN Single Cell RNA.</p> <p>Ajout du flux de travail DRAGEN Enrichment.</p> <p>Ajout des options de compression des fichiers FASTQ.</p> <p>Ajout d'instructions sur l'installation de la pipeline DRAGEN et des mises à jour de la licence.</p> <p>Ajout d'instructions pour l'importation de génomes de référence personnalisés.</p> <p>Mise à jour des volumes et concentrations de chargement pour les types de librairies.</p> <p>Mise à jour des instructions de dilution de librairies.</p> <p>Ajout d'instructions pour l'élimination automatique des cartouches de réactifs.</p> <p>Mise à jour des informations sur le nombre de cycles soutenus.</p> <p>Mise à jour des options de personnalisation de l'instrument.</p> <p>Mise à jour des instructions de l'Installation de l'analyse de l'instrument.</p> <p>Mise à jour de la structure de sortie de séquençage DRAGEN.</p> <p>Ajout de renseignements sur les rapports de CQ DRAGEN.</p> <p>Ajout de renseignements sur le retrait de génomes de référence personnalisés du disque dur.</p> <p>Ajout de renseignements sur l'exécution des vérifications du système.</p> <p>Mise à jour de la configuration des feuilles d'échantillons v2.</p>

N° de document	Date	Description des modifications
1000000109376 v01	Juin 2020	<p>Mise à jour des descriptions de logiciel pour le logiciel de commande NextSeq 1000/2000.</p> <p>Clarification de la distinction entre les modes infonuagique, hybride, local et autonome par le guide.</p> <p>Mise à jour des directives de stockage et de décongélation de la cartouche.</p> <p>Mise à jour des informations sur le nombre de cycles soutenus.</p> <p>Mise à jour des instructions pour la configuration d'une analyse secondaire.</p> <p>Mise à jour des numéros du catalogue de la trousse de réactifs.</p> <p>Mise à jour du diagramme du protocole de séquençage.</p> <p>Mise à jour des instructions pour la spécification d'un lecteur réseau en tant que dossier de sortie par défaut.</p> <p>Mise à jour du tableau des bibliothèques soutenues.</p> <p>Ajout d'instructions pour l'importation d'un génome de référence personnalisé.</p> <p>Ajout d'instructions pour la configuration d'une analyse utilisant une trousse d'index personnalisée et une trousse personnalisée de préparation des bibliothèques.</p> <p>Mise à jour des exigences pour le compte utilisateur et le mot de passe.</p> <p>Ajout de détails concernant la structure du dossier de sortie de la plateforme DRAGEN.</p> <p>Clarification des instructions pour la vidange des réactifs usagés de la cartouche.</p> <p>Ajout d'informations contextuelles sur le tableau de qualité.</p> <p>Mise à jour des instructions sur l'installation des mises à jour du logiciel de commande.</p> <p>Ajout d'instructions sur la façon de remettre une analyse en liste d'attente.</p> <p>Ajout d'instructions sur la mise à jour des pipelines et de la licence de la plateforme DRAGEN.</p> <p>Ajout d'instructions pour la personnalisation de l'instrument.</p>

N° de document	Date	Description des modifications
		Mise à jour des illustrations pour refléter le nouvel étiquetage. Modification de « porte » à « visière » dans le guide. Ajout d'une description des deux ports Ethernet.
1000000109376 v00	Mars 2020	Publication originale.

# Table des matières

Présentation du système .....	1
Ressources supplémentaires .....	2
Matériel de l'instrument .....	3
Logiciel intégré .....	5
Gestion du processus .....	6
Diagramme du protocole de séquençage .....	8
Comment fonctionne le séquençage .....	8
Configuration du système .....	11
Exigences relatives au compte utilisateur .....	11
Configurer BaseSpace Sequence Hub et Assistance Proactive .....	13
Préciser l'emplacement du dossier de sortie par défaut .....	15
Importer des génomes de référence personnalisés .....	18
Import Noise Baseline Files (Importer des fichiers de référence du bruit) .....	19
Configurer le mode d'analyse .....	20
Personnalisation de l'instrument .....	21
Consommables et équipement .....	24
Consommables pour le séquençage .....	24
Consommables auxiliaires .....	28
Équipement auxiliaire .....	30
Protocole .....	32
Considérations du séquençage .....	32
Planification d'une analyse de séquençage dans BaseSpace Sequence Hub .....	34
Décongeler la cartouche ensachée et la Flow Cell .....	42
Diluer les bibliothèques .....	45
Charger les consommables dans la cartouche .....	47
Lancement d'une analyse de séquençage .....	49
Sortie de séquençage .....	58
Présentation de Real-Time Analysis .....	58
Flux de travail de Real-Time Analysis .....	60
Fichiers de sortie de séquençage .....	65
Fichiers de sortie d'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN .....	66
Structure du dossier de sortie d'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN .....	76
Maintenance .....	80
Libérer de l'espace sur le disque dur .....	80
Mises à jour logicielles .....	81
Mise à jour de licences et de flux de travail de la plateforme DRAGEN .....	82

Remplacer le filtre à air .....	84
Dépannage .....	86
Résolution des messages d'erreur .....	86
Retourner les consommables au stockage .....	87
Annuler une analyse .....	87
Remise d'une analyse en liste d'attente .....	88
Mettre l'instrument hors tension et le redémarrer .....	88
Réaliser une vérification du système .....	89
Restaurer les paramètres initiaux .....	90
Capturer une image installée .....	90
Restauration d'une image capturée .....	91
Ressources et références .....	92
Configuration des feuilles d'échantillons v2 .....	92
Séquençage de cycles obscurs .....	107
Index .....	109
<b>Assistance technique .....</b>	<b>112</b>



# Présentation du système

Le système de séquençage NextSeq<sup>MC</sup> 1000 d'Illumina<sup>MD</sup> et le système de séquençage NextSeq<sup>MC</sup> 2000 d'Illumina<sup>MD</sup> présentent une approche ciblée pour le séquençage nouvelle génération (SNG<sup>1</sup>). Ce système axé sur les applications offre la technologie de séquençage d'Illumina dans un instrument de bureau économique qui offre les fonctionnalités suivantes :

- **Accessibilité et fiabilité** – Le NextSeq 1000/2000 possède l'analyse locale de la plateforme DRAGEN et une dénaturation et une dilution intégrées. Un module d'imagerie est intégré au système et les composants fluidiques sont intégrés à l'intérieur du consommable, ce qui facilite la maintenance de l'instrument.
- **Chargement du consommable en une seule étape** – La cartouche préremplie à usage unique contient tous les réactifs nécessaires pour l'analyse. La librairie et la Flow Cell se chargent directement dans la cartouche, qui est par la suite insérée dans l'instrument. L'identification intégrée permet un suivi précis.
- **Logiciel NextSeq 1000/2000** – Une suite logicielle intégrée commande les opérations du système, traite les images et génère la définition des bases.
  - **Mode infonuagique** – Planifiez votre analyse avec l'installation de l'analyse de l'instrument de BaseSpace Sequence Hub. Le flux de travail sélectionné est lancé automatiquement dans le nuage. Les données de l'analyse et les résultats sont aussi fournis dans le nuage.
  - **Mode hybride** – Planifiez votre analyse avec l'installation de l'analyse de l'instrument de BaseSpace Sequence Hub. Le flux de travail de l'analyse sélectionné est lancé automatiquement via la plateforme DRAGEN sur instrument.
  - **Mode local** – Planifiez localement votre analyse avec une feuille d'échantillons format v2. Le flux de travail de l'analyse sélectionné est lancé automatiquement via la plateforme DRAGEN sur instrument.
  - **Mode autonome** – Planifiez votre analyse sans une feuille d'échantillons.

Cette sélection offre un aperçu du système, y compris des renseignements sur le matériel, le logiciel et les données d'analyse. Il assemble également des concepts et de la terminologie clés qui se regroupent dans la documentation. Pour des spécifications détaillées, des feuilles de données, des applications et produits reliés, consultez la page [NextSeq 1000 and NextSeq 2000 Sequencing System product](#) (Produit des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000) sur le site Web d'Illumina.

---

<sup>1</sup>Séquençage de nouvelle génération

## Ressources supplémentaires

Les [pages d'assistance des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000](#) sur le site Web d'Illumina comprennent des ressources additionnelles concernant le système. Ces ressources comprennent des logiciels, des documents de formation, les produits compatibles et les documents ci-dessous. Consultez régulièrement les pages d'assistance pour voir la plus récente version de ces documents.

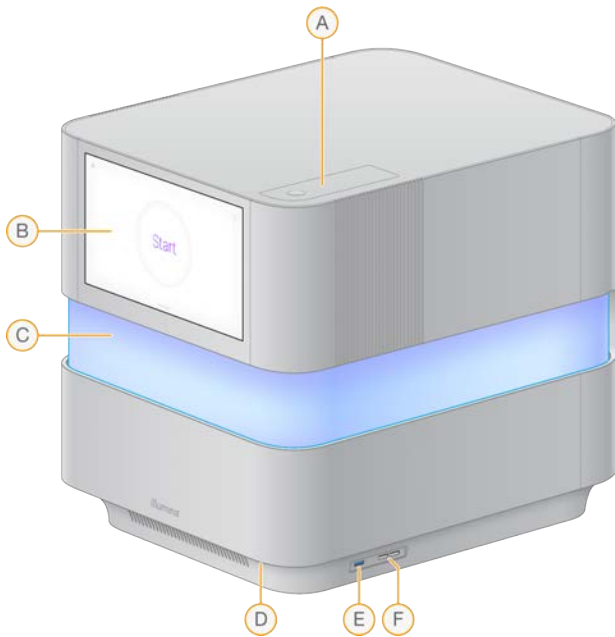
Ressource	Description
<a href="#">Custom Protocol Selector</a>	Outil générant des instructions complètes adaptées à votre méthode de préparation des bibliothèques, aux paramètres de vos analyses et à votre méthode d'analyse, et comportant des options pour préciser le niveau de détails souhaité.
<i>Guide de sécurité et de conformité des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 (document n° 1000000111928)</i>	Fournit des renseignements concernant les questions de sécurité, les déclarations de conformité et l'étiquetage de l'instrument.
<i>Guide de conformité du module de lecteur RFID (document n° 1000000002699)</i>	Fournit des renseignements sur le lecteur RFID de l'instrument, les certificats de conformité et les questions de sécurité.
<i>Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques du NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139235)</i>	Fournit des instructions pour la dénaturation et la dilution manuelles de bibliothèques préparées en vue d'une analyse de séquençage et pour la préparation du contrôle PhiX facultatif.
<i>Guide de primers personnalisés du NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139569)</i>	Fournit des renseignements sur le remplacement des primers de séquençage d'Illumina par des primers de séquençage personnalisés.
<i>Guide de préparation du site du système de séquençage NextSeq 2000 (document n° 1000000109378)</i>	Fournit les spécifications relatives à l'espace du laboratoire, les exigences électriques et les considérations relatives à l'environnement et au réseau.

Ressource	Description
<i>Aide de BaseSpace (<a href="http://help.baspace.illumina.com">help.baspace.illumina.com</a>)</i>	Fournit des renseignements concernant l'utilisation de BaseSpace <sup>MC</sup> Séquence Hub et les options d'analyse disponibles.
<i>Guide de regroupement des adaptateurs d'index (document n° 1000000041074)</i>	Fournit des lignes directrices regroupées et des stratégies d'indexage.
<i>Séquences des adaptateurs Illumina (document n° 1000000002694)</i>	Fournit les listes des séquences des adaptateurs pour les trousse de préparation de bibliothèques d'Illumina.

## Matériel de l'instrument

Les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 comportent un bouton de mise en marche, un écran, une barre d'état, un compartiment destiné aux consommables et des ports USB.

Figure 1 Composants externes du système



- A. **Compartiment du filtre à air** – Offre un accès au filtre d'air remplaçable.
- B. **Écran tactile** – Ce composant permet la configuration et le paramétrage sur instrument au moyen de l'interface du logiciel de commande.
- C. **Barre d'état** – La lumière progresse à mesure que le système avance dans le flux de travail. Le bleu et le mauve indiquent une interactivité (p. ex., vérification avant analyse) et une lumière multicolore indique des moments importants et des données (p. ex., exécution du séquençage).

Une lumière rouge indique des erreurs critiques.

- D. **Bouton de mise en marche** – Ce composant contrôle l'alimentation de l'instrument et indique si le système est en marche (le voyant est allumé), à l'arrêt (le voyant est éteint) ou à l'arrêt, mais branché à l'alimentation CA (le voyant clignote).
- E. **Port USB 3.0** – Pour connecter un disque dur portable pour le transfert de données.
- F. **Port USB 2.0** – Pour connecter une souris et un clavier.

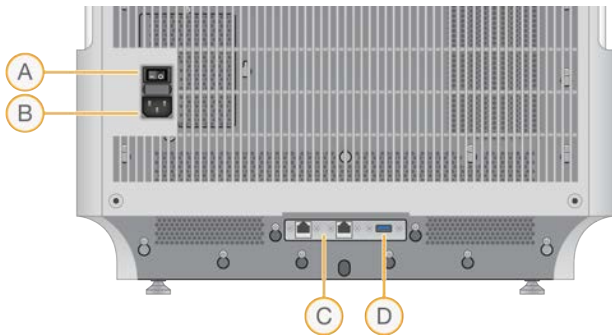
## Alimentation et connexions auxiliaires

Vous pouvez délicatement bouger l'instrument afin d'accéder au bouton d'alimentation, au port USB et aux autres connexions auxiliaires au dos de l'instrument.

À l'arrière de l'instrument se trouvent l'interrupteur et l'entrée d'alimentation, qui servent au contrôle de l'alimentation et deux ports Ethernet pour la connexion Ethernet facultative. Le port USB 3.0 offre l'option de connecter un disque dur portable pour le transfert de données (exFAT n'est pas supporté sur cette plateforme basée sur Linux).

Les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 viennent équipés de deux ports Ethernet afin d'étendre les capacités et la flexibilité du système. Par exemple, un port Ethernet peut être consacré à la communication avec un lecteur réseau interne et l'autre port peut être réservé à la communication externe comme le BaseSpace Sequence Hub ou l'assistance proactive.

Figure 2 Composants du panneau arrière

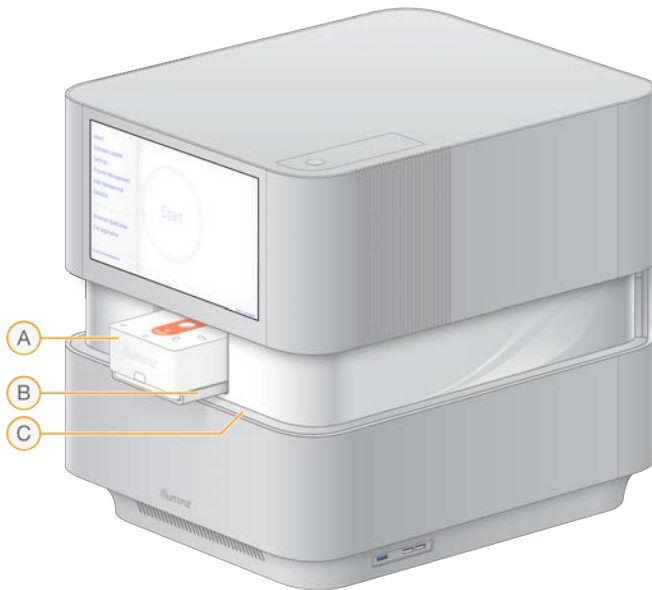


- A. **Interrupteur** – Mise en marche ou arrêt de l'instrument.
- B. **Entrée pour l'alimentation** – Connexion du cordon d'alimentation.
- C. **Ports Ethernet (2)** – Connexion facultative du câble Ethernet.
- D. **Port USB 3.0** – Pour connecter un disque dur externe pour le transfert de données.

## Compartiment des consommables

Le compartiment des consommables contient la cartouche, dont la Flow Cell et la librairie diluée, pour l'analyse de séquençage.

Figure 3 Compartiment des consommables chargés



- A. **Cartouche** – Contient la Flow Cell, la librairie et les réactifs, et recueille les réactifs usagés au cours de l'analyse.
- B. **Plateau** – Soutient la cartouche au cours du séquençage.
- C. **Visière** – S'ouvre pour donner accès au compartiment des consommables.

## Logiciel intégré

La suite logicielle du système comprend des applications intégrées qui exécutent des analyses de séquençage et autres analyses.

- **Logiciel de commande NextSeq 1000/2000** – Ce logiciel contrôle les opérations de l'instrument et fournit l'interface pour configurer le système, paramétrer les analyses de séquençage et faire le suivi des statistiques d'analyse pendant la progression du séquençage.
- **Real-Time Analysis (RTA3)** – Ce logiciel effectue l'analyse d'images et la définition des bases pendant l'analyse. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section [Sortie de séquençage](#), page 58.
- **Universal Copy Service** – Ce logiciel copie les fichiers de sortie de séquençage provenant du dossier d'analyse dans BaseSpace Sequence Hub (s'il y a lieu) et dans le dossier de sortie, où vous pouvez y accéder.

Le logiciel de commande est interactif et exécute les processus en arrière-plan. Real-Time Analysis et Universal Copy Service exécutent leurs processus en arrière-plan seulement.

## Information sur le système

Sélectionnez le menu du système de commande dans le coin supérieur gauche afin d'ouvrir la section About (À propos). La section About (À propos) comprend les coordonnées d'Illumina ainsi que l'information suivante sur le système :

- Numéro de série de l'instrument
- Nom de l'ordinateur
- Version suite du système
- Version image SE
- Nombre total d'analyses

## Notifications et alertes

L'icône de notification est située dans le coin supérieur droit. Lorsqu'un avertissement ou une erreur survient, le panneau droit glisse pour signaler des notifications. Sélectionnez l'icône à tout moment pour voir une liste de vos notifications actuelle ou un historique pour les avertissements et les erreurs.

- Les avertissements nécessitent votre attention, mais n'entraînent pas l'arrêt de l'analyse et ne nécessitent aucune intervention particulière.
- Les erreurs nécessitent une intervention avant le début ou la poursuite de l'analyse.

## Réduire la fenêtre du logiciel de commande

Réduisez la fenêtre du logiciel de commande pour accéder aux autres applications, par exemple pour naviguer jusqu'au dossier de sortie dans l'explorateur de fichiers ou pour trouver une feuille d'échantillons.

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Minimize Application** (Minimiser l'application).  
La fenêtre du logiciel de commande est réduite.
2. Pour ouvrir au maximum le système de commande, sélectionnez **NextSeq 1000/2000 Control Software** (Logiciel de commande NextSeq 1000/2000) dans la barre d'outils.

## Gestion du processus

L'écran de gestion du processus affiche des analyses temporaires qui sont stockées dans `/usr/local/illumina/runs`. Chaque analyse est identifiée par une date d'exécution, un nom et un identifiant. Les renseignements comme l'état de l'analyse, l'analyse secondaire, le dossier de sortie et le nuage sont affichés pour chaque analyse. Sélectionnez l'analyse afin de voir des renseignements supplémentaires, y compris, le flux de travail, le pourcentage Q30 moyen, le total de lecture PF ainsi

que le rendement total. Pour effacer les analyses et libérer de l'espace, consultez la section [Libérer de l'espace sur le disque dur, page 80](#). Pour remettre une analyse sur instrument en liste d'attente, consultez la section [Remise d'une analyse en liste d'attente, page 88](#).

## État de l'analyse

Cette section présente les états de l'analyse de séquençage :

- **In Progress** (En cours) – L'analyse de séquençage est en cours.
- **Complete** (Terminée) – L'analyse de séquençage est terminée.
- **Stopped** (Arrêtée) – L'analyse de séquençage est arrêtée.
- **Errored** (Erronée) – Une erreur est survenue durant l'analyse de séquençage.

## État de l'analyse secondaire

Cette section présente les états de l'analyse secondaire sur instrument de la plateforme DRAGEN : Il y aura une indication N/A (S. O.) dans le cas où l'analyse se produit dans BaseSpace Sequence Hub.

- **Not Started** (Non commencée) – L'analyse de la plateforme DRAGEN n'a pas commencé.
- **In Progress** (En cours) – L'analyse de la plateforme DRAGEN est en cours.
- **Stopped** (Arrêtée) – L'analyse de la plateforme DRAGEN est arrêtée.
- **Errored** (Erronée) – Une erreur est survenue durant l'analyse de la plateforme DRAGEN.
- **Complete** (Terminée) – L'analyse de la plateforme DRAGEN est terminée.

## États du dossier de sortie

Cette section présente les états des fichiers qui sont copiés dans le dossier de sortie :

- **In Progress** (En cours) – La copie des fichiers dans le dossier de sortie est en cours.
- **Complete** (Terminée) – La copie des fichiers dans le dossier de sortie est terminée avec succès.

## État du nuage (BaseSpace Sequence Hub)

Cette section présente les états des fichiers qui sont téléversés dans BaseSpace Sequence Hub par l'entremise du nuage :

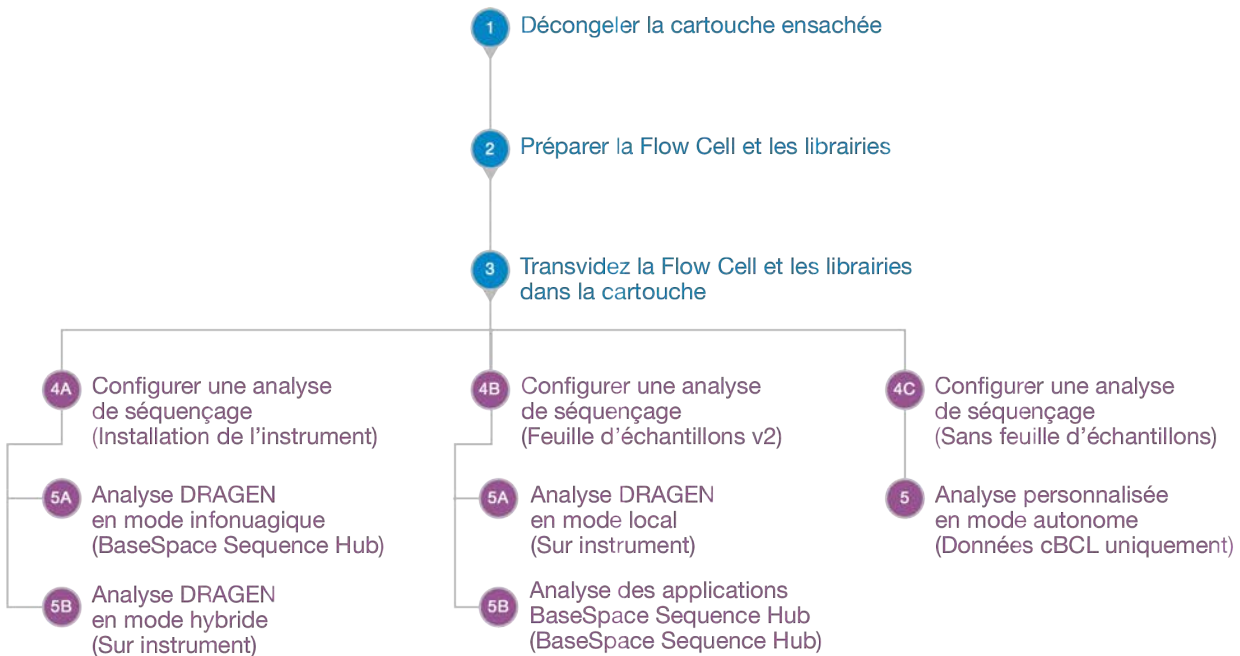
- **In Progress** (En cours) – Le logiciel de commande téléverse les fichiers dans BaseSpace Sequence Hub.
- **Complete** (Terminé) – Les fichiers ont été téléversés dans BaseSpace Sequence Hub.

## État du dépannage d'un problème

- Si l'analyse est en cours, fermez l'écran Process Management (Gestion du processus), attendez environ cinq minutes, puis rouvrez l'écran.
- Si aucune analyse n'est en cours, mettez l'instrument hors tension et rallumez-le, puis ouvrez l'écran Process Management (Gestion du processus). Consultez la section [Mettre l'instrument hors tension et le redémarrer](#), page 88.

## Diagramme du protocole de séquençage

Le diagramme suivant illustre le protocole de séquençage lors de l'utilisation de NextSeq 1000/2000.



## Comment fonctionne le séquençage

La génération d'amplifiats, le séquençage, et l'analyse sont effectués lors du processus de séquençage sur les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000. Chacune de ces étapes est exécutée automatiquement au cours de l'analyse de séquençage. Selon la configuration du système, de plus amples analyses peuvent être effectuées hors instrument après l'analyse de séquençage.



## Génération d'amplifiats

La librairie<sup>1</sup> est automatiquement dénaturée en brins uniques, puis diluée davantage, sur l'instrument. Lors de la génération d'amplifiats, les molécules d'ADN uniques sont liées à la surface de la Flow Cell, puis subissent une amplification et forment des amplifiats<sup>2</sup>. La génération d'amplifiats prend environ 4 heures

## Séquençage

Les amplifiats sont représentés en utilisant la chimie à deux canaux, un canal vert et un canal bleu, afin d'encoder les données pour quatre nucléotides. Lorsqu'une plaque sur la Flow Cell est imagée, le système passe à la plaque suivante. Ce processus se répète pour chaque cycle de séquençage (env. 5 minutes par cycles). Après l'analyse d'images, le logiciel définit les bases<sup>3</sup>, les filtre et leur attribue un score de qualité.<sup>4</sup>

## Analyse primaire

Pendant la progression de l'analyse, le logiciel de commande transfère automatiquement les fichiers de définition des bases<sup>5</sup> (\*.cbcl) vers le dossier de sortie indiqué pour l'analyse des données. Pendant l'analyse de séquençage, le logiciel real time analysis (RTA3) effectue l'analyse d'images, la définition des bases et le démultiplexage<sup>6</sup>. L'analyse secondaire commence une fois le séquençage terminé. La méthode d'analyse secondaire des données dépend de votre application et de la configuration du système.

## Analyse secondaire

BaseSpace Sequence Hub est l'environnement infonuagique d'Illumina consacré au suivi des analyses, à l'analyse des données, à leur stockage et à leur partage. Il héberge la plateforme DRAGEN et les applications de BaseSpace Sequence Hub qui soutiennent les méthodes communes d'analyse pour le séquençage.

---

<sup>1</sup>Un échantillon d'AND ou d'ARN qui contient des adaptateurs attachés pour le séquençage. Les méthodes de préparation varient.

<sup>2</sup>Un groupe clonal de brins d'AND sur une Flow Cell qui produisent une lecture de séquençage. Chaque brin d'ADN sur une Flow cell crée un modèle amplifié jusqu'à ce que l'amplifiat contienne des centaines ou des milliers de copies. Par exemple, une Flow cell contenant 10 000 amplifiats produit 10 000 lectures uniques ou 20 000 lectures appariées.

<sup>3</sup>Établissement d'une base (A, C, G ou T) pour chaque amplifiat dans une plaque à un cycle précis.

<sup>4</sup>Calcule un ensemble d'indicateurs de qualité prévisionnels pour chaque définition des bases, puis utilise la valeur de l'indicateur pour rechercher le score de qualité.

<sup>5</sup>Contient la définition des bases et le score de qualité correspondant pour chaque amplifiat de chaque cycle de séquençage.

<sup>6</sup>Un processus d'analyse qui différencie les lectures pour chaque librairie dans un mélange.

Une fois que le séquençage initial de l'analyse est terminé, la plateforme DRAGEN effectue une seconde analyse en utilisant un des pipelines d'analyse disponibles.

Si vous utilisez le mode infonuagique ou hybride, la plateforme DRAGEN récupère la feuille d'échantillons et le génome de référence, puis analyse les fichiers d'entrée à partir de l'instrument Run Setup (Configuration de l'analyse) dans BaseSpace Sequence Hub. Pour le mode infonuagique, les données cBCL sont téléchargées automatiquement dans BaseSpace Sequence Hub, puis BaseSpace Sequence Hub lance la seconde analyse de la plateforme DRAGEN. Pour le mode hybride, la seconde analyse de la plateforme DRAGEN est effectuée sur instrument et un fichier de sortie peut être stocké dans un dossier sélectionné ou dans le nuage.

Si vous utilisez le mode local, la plateforme DRAGEN récupère la feuille d'échantillons et le génome de référence, puis analyse les fichiers d'entrée des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000. La seconde analyse de la plateforme DRAGEN est effectuée sur instrument et un fichier de sortie est stocké dans un dossier de sortie sélectionné. Si le mode Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage) est sélectionné, l'analyse peut également être lancée par l'entremise des applications de BaseSpace Sequence Hub une fois le séquençage terminé.

Si vous utilisez le mode autonome, configurez et exécutez une analyse sans feuille d'échantillons. Ce flux de travail est recommandé pour les flux de travail d'analyses personnalisées qui commencent à partir de données cBCL.

- Pour plus de renseignements sur BaseSpace Sequence Hub, consultez [l'assistance en ligne de BaseSpace Sequence Hub](#).
- Pour plus de renseignements sur la plateforme DRAGEN, consultez la page d'assistance [DRAGEN Bio-IT Platform](#) (Plateforme Bio-IT de DRAGEN).
- Pour un aperçu de toutes les applications, consultez la section [BaseSpace Apps](#) (Applications BaseSpace).

# Configuration du système

Cette section fournit des instructions relatives à la configuration de votre système, y compris les descriptions des paramètres du logiciel.

Ces instructions sont d'abord décrites dans le logiciel de commande avec quelques informations sur la configuration du réseau et du système d'exploitation.

**i** | Vous devrez déverrouiller votre trousseau de connexion pour utiliser Google Chrome sur l'instrument. Vous pouvez ignorer et annuler la demande en toute sécurité.

## Exigences relatives au compte utilisateur

Le système d'exécution Linux possède trois comptes :

- root (super administrateur)
- ilmnadmin (administrateur)
- ilmnuser (utilisateur)

Le compte administrateur a pour but d'uniquement appliquer les mises à jour du système, comme mettre à jour le logiciel de commande NextSeq 1000/2000, ou pour l'utilisation du personnel en TI pour l'installation d'un lecteur réseau partagé permanent.

Les autres fonctions, y compris le séquençage, sont exécutées à partir du compte utilisateur.

### Exigences relatives aux mots de passe

Le technicien d'assistance sur le terrain lance un changement de mot de passe pour les trois comptes après avoir complété l'installation de l'instrument. Modifiez votre mot de passe tous les 180 jours, lorsque vous êtes invité à le faire.

Tableau 1 Politiques applicables par défaut aux mots de passe

Politique	Paramètre
Historique des mots de passe en mémoire	Cinq mots de passe en mémoire
Seuil de blocage	Dix tentatives de connexion inexactes
Longueur minimale du mot de passe	Dix caractères
Divergence dans le nombre minimum de caractères	Trois de chaque : nombre, lettre majuscule, lettre minuscule et symbole
Maximum de caractères répétés	Trois caractères

Politique	Paramètre
Exigences de complexité du mot de passe	Désactivé
Stockage des mots de passe avec chiffrement réversible	Désactivé

## Ajouter un nouvel utilisateur

- Ouvrez une session dans le compte ilmnadmin.
- Sélectionnez le bouton d'alimentation, puis ouvrez le compte ilmnadmin déroulant.
- Sélectionnez **Account Settings** (Paramètres des comptes).
- Sélectionnez **Unlock** (Débloquer), puis entrez le mot de passe ilmnadmin.
- Sélectionnez **Add User** (Ajouter un utilisateur).
- Sélectionnez le type de compte « Standard », puis entrez un nouveau nom d'utilisateur.
- Sélectionnez **Set password now** (Définir le mot de passe maintenant), puis entrez un mot de passe.
- Sélectionnez **Add** (Ajouter).

Le nouvel utilisateur est ajouté à la liste des utilisateurs.

- Accordez l'accès au logiciel de commande NextSeq 1000/2000 au nouvel utilisateur comme suit.
  - Ouvrez le terminal.
  - Saisissez ce qui suit :
 

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <nouveau nom d'utilisateur>
```
  - Si vous y êtes invité, entrez le mot de passe du compte ilmnadmin.
- Effectuez les étapes suivantes pour confirmer que les permissions d'utilisateur ont bien été accordées.
  - Ouvrez une session dans le compte du nouvel utilisateur.
  - Accédez au logiciel de commande NextSeq 1000/2000.
  - À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
  - Dans le dossier de sortie par défaut, assurez-vous de pouvoir sélectionner et sauvegarder le chemin vers le dossier de sortie.  
Si vous pouvez sélectionner et sauvegarder le chemin vers le dossier de sortie sans erreurs, alors les permissions ont été accordées avec succès.

## Réinitialisation du mot de passe

Cette section décrit comment réinitialiser les mots de passe des comptes ilmnuser, ilmadmin ou root. Il est impossible de récupérer un mot de passe. Réinitialiser son mot de passe ne permet pas de contourner le verrouillage du compte après trop de tentatives de mots de passe. Vous devez attendre 10 minutes avant de pouvoir réinitialiser votre mot de passe ou essayer de vous connecter.

## Réinitialisation du mot de passe ilmnuser

Vous pouvez réinitialiser le mot de passe du compte ilmnuser si vous connaissez le mot de passe du compte ilmnadmin ou du compte root.

1. Ouvrez une session dans le compte ilmnadmin.
2. Ouvrez le terminal.
3. Entrez `sudo passwd ilmnuser`.
4. Lorsque vous y êtes invité, entrez le mot de passe du compte ilmnadmin.
5. Lorsque vous y êtes invité, entrez un nouveau mot de passe pour le compte ilmnadmin.
6. Lorsque vous y êtes invité, entrez le nouveau mot de passe du compte ilmnadmin de nouveau pour le confirmer.

## Réinitialisation du mot de passe ilmnadmin

Vous pouvez réinitialiser le mot de passe du compte ilmnadmin si vous connaissez le mot de passe du compte root.

1. Ouvrez une session dans le compte root.
2. Ouvrez le terminal.
3. Entrez `passwd ilmnadmin` pour modifier le mot de passe du compte ilmnadmin ou entrez `passwd ilmnuser` pour modifier le mot de passe du compte ilmnuser.
4. Lorsque vous y êtes invité, entrez le nouveau mot de passe.
5. Lorsque vous y êtes invité, entrez le nouveau mot de passe de nouveau pour le confirmer.

## Réinitialisation du mot de passe root

Pour réinitialiser le mot de passe du compte root, utilisez une des options suivantes :

- Si vous connaissez le mot de passe depuis la dernière capture d'image SE, restaurez à cette image sauvegardée.
- Si vous ne vous souvenez pas du mot de passe, contactez l'assistance technique d'Illumina.

# Configurer BaseSpace Sequence Hub et Assistance Proactive

Utilisez les directives suivantes pour configurer le logiciel BaseSpace Sequence Hub et Assistance Proactive sur votre système. Afin de configurer un compte BaseSpace Sequence Hub, consultez [l'assistance en ligne de BaseSpace Sequence Hub](#).

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).

2. Pour accéder aux paramètres de BaseSpace Sequence Hub et d'Assistance Proactive, sélectionnez l'une des options suivantes pour vous connecter à :

Option	Description et exigences
<b>Assistance Proactive seulement*</b>	Envoyez les données de performance de l'instrument à Illumina afin d'accélérer le dépannage. Une connexion Internet est requise.
<b>Proactive and Run Monitoring (Proactive et surveillance de l'analyse)</b>	Envoyer les fichiers InterOp et les fichiers journaux à BaseSpace Sequence Hub pour la surveillance à distance de l'analyse. C'est l'option par défaut. Requiert un compte BaseSpace Sequence Hub et une connexion Internet.
<b>Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage)</b>	Envoyer les fichiers InterOp, les fichiers journaux et les données d'analyse à BaseSpace Sequence Hub pour la surveillance et l'analyse à distance. Requiert un compte BaseSpace Sequence Hub, une connexion Internet et une feuille d'échantillons.
<b>None (Aucun)</b>	Déconnectez les analyses de vos comptes BaseSpace Sequence Hub et n'envoyez pas les données sur la performance de l'instrument pour Assistance Proactive d'Illumina.

\* Selon la version du logiciel de commande, le nom de ce paramètre affiché dans l'interface peut différer de ce qui est utilisé dans le présent guide.

Assistance Proactive est activé lorsqu'aucune autre option exceptée « None » (Aucun) n'est sélectionnée. Il s'agit d'un service gratuit qui vous permet de voir vos données relatives à la performance sur le tableau de bord client MyIllumina et permet aux équipes de service d'Illumina de régler les problèmes plus rapidement.

- i** | Proactive and Run Monitoring (Proactive et surveillance de l'analyse) est activé par défaut. Pour ne pas utiliser ce service, sélectionnez **None** (Aucun).

- Si vous avez sélectionné None (Aucun) à l'étape 2, sélectionnez **Save** (Enregistrer) pour terminer. Sinon, continuez jusqu'à l'étape 6.
- Dans la liste Hosting Location (Emplacement de l'hébergement), sélectionnez l'emplacement du serveur BaseSpace Sequence Hub où les données sont téléversées. Assurez-vous d'utiliser le Hosting Location (Emplacement de l'hébergement) de votre région ou celui le plus près.
- Si vous avez un abonnement Entreprise, saisissez le nom du domaine (URL) utilisé pour votre compte BaseSpace Sequence Hub.  
Par exemple : <https://votrelabo.basespace.illumina.com>.
- Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

## Préciser l'emplacement du dossier de sortie par défaut

Utilisez les instructions contenues dans cette section afin de sélectionner un emplacement par défaut pour le dossier de sortie. Vous pouvez changer le dossier de sortie pour chaque analyse durant la configuration de l'analyse. Le logiciel enregistre les fichiers cBCL<sup>1</sup> et les autres données de l'analyse dans le dossier de sortie.

Un fichier de sortie est requis, à moins que BaseSpace Sequence Hub ne soit configuré pour la Proactive, la surveillance d'analyse et le stockage. N'utilisez qu'un lecteur externe ou un lecteur réseau comme dossier de sortie par défaut. Utiliser un dossier de sortie sur instrument affecte négativement votre analyse de séquençage.

### Spécifier un dossier de sortie sur un lecteur externe

Utilisez les instructions suivantes pour sélectionner un lecteur portable externe comme dossier de sortie par défaut. L'utilisation d'un disque autonome formaté en NTFS ou GPT/EXTA est recommandée.

1. Branchez un lecteur portable externe en utilisant le port USB 3.0 situé sur le côté ou à l'arrière de l'instrument.  
Assurez-vous que le lecteur portable externe permet d'écrire sur le lecteur. S'il est configuré à « Read Only » (Lecture seulement), le logiciel de commande ne sera pas capable d'enregistrer des données dessus.
2. Créez un nouveau dossier sur le lecteur portable externe. Ce dossier deviendra l'emplacement par défaut du dossier de sortie.  
Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 nécessite au moins deux niveaux de dossiers imbriqués pour reconnaître un emplacement comme un lecteur portable externe.
3. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
4. Sous « Default Output Folder » (Dossier de sortie par défaut), sélectionnez le chemin de dossier existant et naviguez jusqu'au nouveau dossier sur le lecteur portable externe.
5. **[Facultatif]** Si vous avez sélectionné **Online Run Setup** (Paramètre d'exécution en ligne) sous Run Mode (Mode d'exécution), sélectionnez une option dans le menu déroulant d'emplacement d'hébergement.
6. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

### Spécifier un dossier de sortie par défaut sur le lecteur réseau

Suivez les instructions suivantes pour installer un lecteur réseau permanent et spécifiez l'emplacement du dossier de sortie par défaut. Server Message Block (SMB)/Common Internet File System (CIFS) et Système de fichiers réseau (NFS) sont les seules méthodes soutenues pour l'installation permanente d'un lecteur réseau sur le NextSeq 1000/2000.

---

<sup>1</sup>Contient la définition des bases et le score de qualité correspondant pour chaque amplifiat de chaque cycle de séquençage.

## Instructions de montage pour SMB/CIFS

1. Si le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 est ouvert, sélectionnez **Minimize Application** (Minimiser l'application).
2. Connexion à ilmnadmin.
3. Sélectionnez **Applications**.
4. Sous Favoris, sélectionnez **Terminal**.
5. Saisissez `sudo touch /root/.smbcreds`, puis appuyez sur **Enter** (Entrée).
6. Saisissez le mot de passe du compte ilmnadmin lorsque vous y êtes invité.  
Le mot de passe ilmnadmin est requis chaque fois que vous utilisez une commande `sudo`.
7. Saisissez `sudo gedit /root/.smbcreds`, puis sélectionnez **Enter** (Entrée) pour ouvrir le fichier de texte nommé `smbcreds`.
8. Lorsque le fichier de texte `.smbcreds` s'ouvrent, saisissez vos identifiants de connexion au réseau dans le format suivant.  

```

nom d'utilisateur =<nom d'utilisateur>
mot de passe =<mot de passe>
domaine =<nom_de_domaine>

```

Les chevrons ne sont pas nécessaires pour les identifiants du nom d'utilisateur, du mot de passe et du domaine. L'identifiant du domaine n'est nécessaire que si le compte à distance fait partie d'un domaine.
9. Sélectionnez **Save** (Enregistrer) et sortez du fichier.
10. Identifiez le nom du serveur et le nom partagé de votre serveur SMB/CIFS.  
Le nom du serveur et le nom partagé ne peuvent contenir d'espace, par exemple :  
Nom de serveur : 192.168.500.100 ou Myserver-myinstitute-03  
Nom partagé : /share1
11. Dans le terminal, saisissez `sudo chmod 400 /root/.smbcreds`, puis sélectionnez **Enter** (Entrée) afin de permettre un accès de lecture au fichier texte `.smbcreds`.
12. Saisissez `sudo mkdir /mnt/<nom local>`.  
<nom local> est le nom de votre nouveau répertoire dans votre lecteur et peut contenir des espaces. Il ne s'agit pas du répertoire qui apparaîtra sur l'instrument.
13. Sélectionnez **Enter** (Entrée).
14. Entrez `sudo gedit /etc/fstab`, puis sélectionnez **Enter** (Entrée).
15. Lorsque le fichier `fstab` s'ouvre, saisissez ce qui suit à la fin du fichier, puis sélectionnez **Enter** (Entrée).  

```

/<Server name>/<Share name> /mnt/<local name> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0

```
16. Sélectionnez **Save** (Enregistrer) et sortez du fichier.



17. Dans le terminal, entrez `sudo mount -a -vvv`, puis sélectionnez **Enter** (Entrée).  
Le lecteur réseau est maintenant installé en tant que `/mnt/<nom local>`.
18. Afin de confirmer le succès du montage, saisissez `&lt;df | grep <nom local>` puis cliquez sur **Enter** (Entrée).  
Le nom du fichier partagé devrait apparaître.
19. Saisissez `sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>` pour créer un sous-dossier dans le répertoire local. `<output directory>` représente l'emplacement de votre dossier de sortie par défaut.  
Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 nécessite au moins deux niveaux de dossiers imbriqués pour reconnaître un emplacement comme un lecteur réseau monté.
20. Mettez l'instrument hors tension et redémarrez-le. Consultez la section [Mettre l'instrument hors tension et le redémarrer, page 88](#).
21. Configurez le lecteur réseau permanent monté comme le dossier de sortie par défaut. Consultez la section [Spécifiez le lecteur réseau permanent en tant que dossier de sortie par défaut., page 18](#).

## Instruction d'installation pour NFS

1. Si le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 est ouvert, sélectionnez **Minimize Application** (Minimiser l'application).
2. Connexion à `ilmnadmin`.
3. Identifiez le nom du serveur et le nom partagé de votre serveur NFS.  
Le nom du serveur ne peut contenir d'espace, par exemple :  
Nom de serveur : `192.168.500.100` ou `Myserver-myinstitute-03`
4. Sélectionnez **Applications**.
5. Sous Favoris, sélectionnez **Terminal**.
6. Saisissez `sudo mkdir /mnt/<nom local>`, puis sélectionnez **Enter** (Entrée).  
`<nom local>` est le nom de votre nouveau répertoire dans votre lecteur réseau.
7. Entrez `sudo gedit /etc/fstab`, puis sélectionnez **Enter** (Entrée).
8. Lorsque le fichier `fstab` s'ouvre, entrez ce qui suit, puis sélectionnez **Enter** (Entrée).  
Nom du serveur : `/share //mnt/<nom local> nfs x-systemd.automount,defaults`  
`0 0`
9. Sélectionnez **Save** (Enregistrer) et sortez du fichier.
10. Dans le terminal, entrez `sudo mount -a -vvv`, puis sélectionnez **Enter** (Entrée).  
Le lecteur réseau est maintenant installé dans le dossier `/mnt/directory` dans le fichier `<nom local>`.
11. Créez un nouveau `<sous-dossier>` dans le dossier `<nom local>`. Votre sous-dossier représente l'emplacement de votre dossier de sortie par défaut.

Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 nécessite au moins deux niveaux de dossiers imbriqués pour reconnaître un emplacement comme un lecteur réseau monté.

12. Mettez l'instrument hors tension et redémarrez-le. Consultez la section [Mettre l'instrument hors tension et le redémarrer, page 88](#).
13. Configurez le lecteur réseau permanent monté comme le dossier de sortie par défaut. Consultez la section [Spécifiez le lecteur réseau permanent en tant que dossier de sortie par défaut., page 18](#).

Spécifiez le lecteur réseau permanent en tant que dossier de sortie par défaut.

1. Connectez-vous à ilmnuser.
2. À partir du menu du logiciel de commande NextSeq 1000/2000, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
3. Sous le dossier de sortie par défaut, sélectionnez le lecteur réseau permanent monté à `/mnt/<local name>/<output directory>`.
4. **[Facultatif]** Si vous avez sélectionné **Online Run Setup** (Paramètre d'exécution en ligne) sous Run Mode (Mode d'exécution), sélectionnez une option dans le menu déroulant d'emplacement d'hébergement.
5. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

## Importer des génomes de référence personnalisés

Les nouveaux génomes de référence personnalisés ne peuvent être importés qu'en utilisant un compte administrateur. Pour une liste de tous les génomes de référence compatibles, visitez la page sur la compatibilité des produits de NextSeq 1000/2000.

1. Créer un génome de référence en utilisant le Générateur de références pour l'application pour les instruments Illumina sur BaseSpace Sequence Hub. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Reference Builder for Illumina Instruments App Online Help* (Aide en ligne pour l'application de générateur de références pour l'instrument d'Illumina v1.0.0).
2. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **Process Management** (Gestion du processus).
3. Assurez-vous qu'il n'y a pas d'analyse de séquençage ou d'analyses secondaires sur instrument en cours.
4. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Minimize Application** (Minimiser l'application).
5. Connexion à ilmnadmin.
6. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **DRAGEN**.
7. Dans la section Genome (Génome), sélectionnez **View Installed Genomes** (Afficher les génomes installés) pour afficher la liste de tous les génomes d'Illumina et les génomes personnalisés installés.
8. Fermez la boîte de dialogue modale.

9. Sélectionnez **Choose** (Choisir) sous Importer nouveaux génomes de références, naviguez dans le fichier du génome de référence (\*.tar.gz) sur le lecteur réseau portatif ou installé, puis sélectionnez **Open** (Ouvrir).
10. Sélectionnez **Import** (Importer).

## Import Noise Baseline Files (Importer des fichiers de référence du bruit)

Si vous utilisez le flux de travail d'enrichissement de la plateforme DRAGEN en mode somatique, vous pouvez utiliser le fichier de référence du bruit pour filtrer le séquençage ou le bruit systématique. Vous pouvez télécharger des fichiers de bruit personnalisés standard à partir du [Site d'aide d'Illumina](#) ou créer un fichier de référence du bruit personnalisé.

### Générer un fichier de référence du bruit personnalisé

Si vous utilisez le mode somatique, vous pouvez générer un fichier de référence du bruit personnalisé. Le fichier de référence du bruit est créé à partir d'échantillons normaux qui ne correspondent pas au sujet à partir duquel les échantillons ont été prélevés. Le nombre recommandé d'échantillons normaux est de 50.

Pour générer un fichier de référence du bruit personnalisé, utilisez l'une des méthodes suivantes :

- Utilisez le serveur de la plateforme DRAGEN Bio-IT. Consultez *le site d'aide* de la plateforme DRAGEN Bio-IT pour obtenir des instructions.
- Utilisez l'application Baseline Builder (Générateur de références) de la plateforme DRAGEN sur BaseSpace Sequence Hub. Utilisez le pipeline BCL Convert dans l'installation de l'analyse de l'instrument sur BaseSpace Sequence Hub pour générer des fichiers FASTQ. Une fois que l'analyse de séquençage est terminée et que 50 échantillons sont disponibles, importez les fichiers FASTQ dans l'application Baseline Builder (Générateur de références) de la plateforme DRAGEN.

### Importer des fichiers de référence en utilisant l'interface utilisateur

Une fois que vous avez importé le fichier de référence, vous pouvez installer l'analyse de séquençage en utilisant le flux de travail d'enrichissement de la plateforme DRAGEN en mode somatique.

1. Téléchargez un fichier de référence standard à partir du [Site d'aide d'Illumina](#), ou téléchargez le fichier de référence personnalisé à partir du serveur ou de l'application Baseline Builder (Générateur de références) de la plateforme DRAGEN.
2. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Minimize Application** (Minimiser l'application).
3. Connectez-vous à ilmnadmin.
4. Sélectionnez **Applications** (Applications), puis sélectionnez **Favorites** (Favoris).

5. Sélectionnez **+Other Locations** (+Autres emplacements), puis sélectionnez **Computer** (Ordinateur).
6. Cliquez deux fois sur **User** (Utilisateur), puis sur **Local** (Local).
7. Cliquez deux fois sur **Illumina**, puis sur **aux\_files**.
8. Faites glisser le fichier de référence du bruit vers **aux\_files**.

## Importer des fichiers de référence en utilisant le terminal

Une fois que vous avez importé le fichier de référence, vous pouvez installer l'analyse de séquençage en utilisant le flux de travail d'enrichissement de la plateforme DRAGEN en mode somatique.

1. Téléchargez un fichier de référence standard à partir du [Site d'aide d'Illumina](#), ou téléchargez le fichier de référence personnalisé à partir du serveur ou de l'application Baseline Builder (Générateur de références) de la plateforme DRAGEN.
2. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Minimize Application** (Minimiser l'application).
3. Connectez-vous à **ilmnadmin**.
4. Sélectionnez **Applications** (Applications).
5. Sous Favoris, sélectionnez **Terminal**.
6. Saisissez la commande qui suit.

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

## Configurer le mode d'analyse

Le mode d'analyse s'applique à toutes les analyses et détermine l'endroit où entrer les paramètres d'analyse et la façon d'analyser les données.

### Mode infonuagique ou hybride

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Sélectionnez **Online Run Setup** (Paramètre d'exécution en ligne) sous Services BaseSpace Sequence Hub & Assistance Proactive.
3. Configurez les paramètres supplémentaires de manière appropriée en sélectionnant les options suivantes :
  - a. **Proactive and Run Monitoring** (Proactive et surveillance de l'analyse) ou **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage)
  - b. Menu déroulant pour **Hosting Location** (Emplacement de l'hébergement).
  - c. **[Facultatif]** Saisissez un **nom de domaine privé**.
4. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

## Mode local ou autonome

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Sélectionnez **Local Run Setup** (Configuration d'exécution locale) sous BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support (Services BaseSpace Sequence Hub et Assistance Proactive).
3. Configurez les paramètres supplémentaires de manière appropriée en sélectionnant les options suivantes :
  - a. **Proactive Support Only** (Assistance Proactive seulement), **Proactive and Run Monitoring** (Proactive et surveillance de l'analyse), **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage) ou **None** (Aucun).
4. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).



BaseSpace Sequence Hub autorisera la remise en file d'attente uniquement si l'option **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage) est sélectionnée. Dans le cas où une feuille d'échantillons serait invalide, cette fonctionnalité vous permettra d'apporter des corrections à la feuille d'échantillons et de remettre des analyses de démultiplexage en file d'attente. Pour la fonctionnalité sur instrument de la remise en file d'attente, consultez la section [Remise d'une analyse en liste d'attente, page 88](#).

- b. Menu déroulant pour **Hosting Location** (Emplacement de l'hébergement).
- c. **[Facultatif]** Saisissez un **nom de domaine privé**.

## Considérations relatives aux feuilles d'échantillons pour les modes local et autonome

Vous devez utiliser des feuilles d'échantillons en format de fichier v2 afin d'effectuer une analyse avec la plateforme DRAGEN. La feuille d'échantillons en format de fichier v2 est également compatible avec les applications de BaseSpace Sequence Hub qui ne sont pas activées sur la plateforme DRAGEN. Pour obtenir plus d'informations sur la création de feuilles d'échantillons en format de fichier v2, consulter la section [Configuration des feuilles d'échantillons v2, page 92](#).

## Personnalisation de l'instrument

Cette section comprend des renseignements relatifs à la configuration des paramètres de personnalisation disponibles. Afin de configurer un dossier de sortie par défaut, [Préciser l'emplacement du dossier de sortie par défaut, page 15](#).

### Nommer l'instrument

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Saisissez le nom d'instrument de votre choix dans le champ Nickname (Surnom).  
Le nom choisi apparaît dans le haut de chaque écran.
3. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

## Configuration des préférences de dénaturation et de dilution

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Choisissez si vous voulez automatiquement dénaturer et diluer les librairies sur l'instrument. Le paramètre par défaut correspond à l'option sélectionnée lors de votre dernière analyse.
  - Pour dénaturer et diluer les librairies automatiquement sur l'instrument, sélectionnez la case **Denature and Dilute On Board** (Dénaturer et diluer sur l'instrument).
  - Pour dénaturer et diluer les librairies manuellement, décochez la case **Denature and Dilute On Board** (Dénaturer et diluer sur l'instrument).

Consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des librairies du NextSeq 1000 et 2000* (document n° 1000000139235) pour les instructions pour dénaturer et diluer les librairies manuellement.

## Configurer les préférences relatives à l'élimination des réactifs

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Choisissez si vous souhaitez que le système élimine automatiquement les réactifs inutilisés dans le compartiment des réactifs après chaque analyse afin de simplifier l'élimination des déchets des réactifs à la suite d'une analyse :
  - Pour une élimination automatique, cocher la case **Purge Reagent Cartridge** (Éliminer les réactifs de la cartouche).
  - Si vous souhaitez passer l'élimination automatique, décochez la case **Purge Reagent Cartridge** (Éliminer les réactifs de la cartouche). Il s'agit du paramètre par défaut.

L'élimination des réactifs inutilisés ajoute jusqu'à 2 heures au flux de travail.
3. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

## Configurer les mises à jour logicielles

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Choisissez si le système doit vérifier automatiquement la disponibilité des mises à jour logicielles :
  - Pour une vérification automatique, cochez **Autocheck for software updates** (Vérification automatique des mises à jour logicielles).
  - Pour une vérification manuelle, décochez la case **Autocheck for software updates** (Vérification automatique des mises à jour logicielles).

La vérification automatique des mises à jour logicielles nécessite une connexion Internet. Pour en savoir plus sur l'installation des mises à jour logicielles, consultez la section [Mises à jour logicielles, page 81](#).
3. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

## Modifier la luminosité LCD

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Déplacez le curseur de luminosité LCD au pourcentage souhaité.
3. Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

## Définir un serveur mandataire

La prise en charge du serveur mandataire est possible seulement avec le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3.

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Settings** (Paramètres).
2. Sélectionnez les paramètres actuels du serveur mandataire pour ouvrir l'écran Proxy Settings (Paramètres du serveur mandataire).
3. Cochez la case **Enable Proxy** (Activer le serveur mandataire), puis saisissez l'adresse du port IP du serveur.
4. **[Facultatif]** Si le serveur mandataire requiert une authentification, cochez la case **Requires Username and Password** (Requiert un nom d'utilisateur et un mot de passe), puis saisissez le nom d'utilisateur et le mot de passe.
5. Sélectionnez **Save** (Enregistrer) pour enregistrer et valider les renseignements sur le serveur mandataire.
6. Sélectionnez l'une des options suivantes :
  - Sélectionnez **Yes, I'm Finished** (Oui, j'ai terminé) pour redémarrer le système et appliquer les nouveaux paramètres du serveur mandataire.
  - Sélectionnez **No, Take Me Back** (Non, je souhaite revenir à l'écran précédent) pour revenir à l'écran des paramètres. Les nouveaux paramètres du serveur mandataire sont enregistrés, mais ils ne sont appliqués que lorsque vous redémarrez le système.

# Consommables et équipement

Cette section liste tout ce que comprend la trousse de réactifs ainsi que les conditions d'entreposage. Vous verrez également les consommables auxiliaires et les équipements que vous devez acheter en vue de compléter le protocole ainsi qu'effectuer la maintenance et les procédures de dépannage.

## Consommables pour le séquençage

Une trousse de réactifs à usage unique Illumina NextSeq 1000/2000 P2 Reagents ou une trousse de réactifs à usage unique Illumina NextSeq 1000/2000 P3 Reagents est nécessaire pour le séquençage sur NextSeq 1000/2000. La trousse de réactifs NextSeq 1000/2000 P2 Reagent est disponible en trois formats (100 cycles, 200 cycles et 300 cycles) et la trousse de réactifs NextSeq 1000/2000 P3 Reagent est disponible en quatre formats (50 cycles, 100 cycles, 200 cycles et 300 cycles).

Le système de séquençage NextSeq 1000 est uniquement compatible avec la trousse de réactifs NextSeq 1000/2000 P2 Reagents d'Illumina.

La trousse de réactifs comprend la cartouche et la Flow Cell pour le séquençage. Lorsque vous recevez la trousse de réactifs NextSeq 1000/2000 P2 Reagents ou la trousse de réactifs NextSeq 1000/2000 P3 Reagents d'Illumina :

- Rangez rapidement les composants à la température indiquée afin de garantir leur performance.
- N'ouvrez aucun des sacs en aluminium argenté avant d'en être avisé.
- Rangez les cartouches dans leur boîte afin d'éviter de déchirer ou de percer le sac en aluminium.
- Ranger les cartouches avec la flèche placée vers le haut.


 Les données de séquençage pourraient être affectées négativement si l'étiquette de la cartouche n'est pas vers le haut.

Tableau 2 Composants de la trousse

Consommable	Quantité	Température de stockage	Dimensions
Cartouche	1	-25 à -15 °C	29,2 cm × 17,8 cm × 12,7 cm (11,5 po × 7 po × 5 po)
Flow Cell	1	2 à 8 °C*	21,6 cm × 12,7 cm × 1,9 cm (8,5 po × 5 po × 0,75 po)
Solution RSB avec Tween 20	1	-25 à -15 °C	4 cm × 6,6 cm × 5 cm (1,6 po × 2,6 po × 2 po)

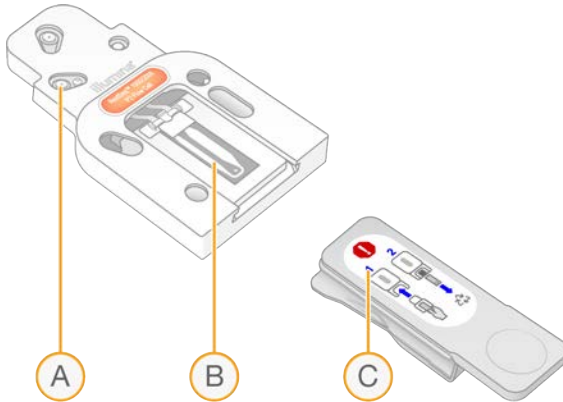
\* Livrée à la température ambiante.



Les deux consommables comportent des identifiants pour le suivi et la vérification de la compatibilité. Les cartouches et la Flow Cell utilisent RFID<sup>1</sup>.

## Flow Cell

La Flow Cell est une Flow Cell structurée, à une seule ligne. La Flow Cell de verre est enchâssée dans une cartouche en plastique. Une languette grise recouvre et sort de la Flow Cell afin d'assurer une manipulation sécuritaire.



- A. Cartouche de plastique
- B. Flow Cell
- C. Languette grise

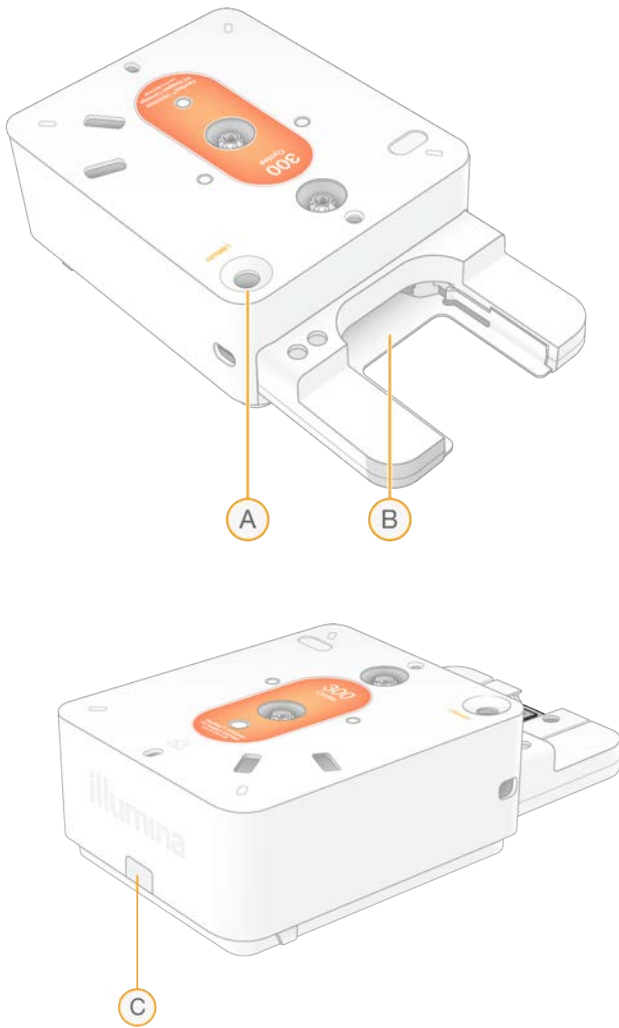
Des millions de nanopuits couvrent la surface intérieure de la Flow Cell. Les amplifiats sont générés dans les nanopuits, où la réaction de séquençage se fait ensuite. L'arrangement structuré des nanopuits augmente le nombre de lectures de sortie et la quantité de données.

---

<sup>1</sup>Identification par radiofréquence

## Cartouche

La cartouche de réactifs de séquençage est préremplie de réactifs de génération d'amplifiats, de réactifs de séquençage, de réactifs pour bases appariées et de réactifs d'indexage. Un réservoir recouvert d'un opercule en aluminium est réservé aux librairies, et une fente située à l'avant est réservée à la Flow Cell.



- A. Réservoir de librairie
- B. Fente de la Flow Cell
- C. Connecteur de vidange

La cartouche contient tous les consommables nécessaires pour une analyse : réactifs, librairie et Flow Cell. La librairie et la Flow Cell sont chargées dans la cartouche décongelée, qui est ensuite chargée sur l'instrument. Après le lancement de l'analyse, les réactifs et la librairie sont transférés automatiquement de la cartouche à la Flow Cell.

La cartouche contient les pompes, les valves et tous les fluides requis pour le système, y compris un réservoir situé en dessous pour recueillir les réactifs usagés. Puisque la cartouche est jetée après l'analyse, il n'est pas nécessaire de laver l'instrument.





## Nombre de cycles pris en charge




L'étiquette sur la cartouche indique le nombre de cycles analysés et non le nombre de cycles effectués. La Flow Cell est compatible avec tout nombre de cycles et tout type de lecture.

Toutes les cartouches de 100 cycles et de 200 cycles comprennent un surplus de 38 cycles. La cartouche de 300 cycles comprend un surplus de 27 cycles. Par exemple, la cartouche de 300 cycles comprend suffisamment de réactifs pour un nombre maximal de 327 cycles de séquençage. Pour obtenir des renseignements sur le nombre de cycles à séquencer, consultez la section [Nombre de cycles d'une lecture, page 33](#).

## Légende des symboles

Le tableau suivant explique les symboles présents sur les consommables ou leur emballage.

Symbole	Description
	Date de péremption du consommable. Pour de meilleurs résultats, utilisez le consommable avant cette date.
	Fabricant de l'instrument (Illumina).
	Le consommable est destiné à la recherche uniquement.
	Numéro de référence du consommable pour son identification <sup>1</sup> .

Symbole	Description
	Numéro du lot de fabrication du consommable <sup>1</sup> .
	Risques pour la santé.
	Températures de stockage en degrés Celsius. Entreposez le consommable en respectant la plage de températures indiquée <sup>2</sup> .

## Consommables auxiliaires

Achetez les consommables suivants en vue du séquençage et de la maintenance.

### Consommables pour le séquençage

Tableau 3 Consommables pour le séquençage

Consommable	Fournisseur	Utilisation
Gants jetables sans talc	Fournisseur de laboratoire général	Usage général.
Trousse de réactifs P2 NextSeq 1000/2000 (v3)	Illumina : n° de référence 20046811 (100 cycles) n° de référence 20046812 (200 cycles) n° de référence 20046813 (300 cycles)	Fournit la cartouche de réactifs, la Flow Cell et le mélange RSB NextSeq 1000/2000 au Tween 20 requis pour une analyse unique. Compatible avec NextSeq 1000 et NextSeq 2000.

<b>Consommable</b>	<b>Fournisseur</b>	<b>Utilisation</b>
Trousse de réactifs P3 NextSeq 2000	Illumina : n° de référence 20046810 (50 cycles) n° de référence 20040559 (100 cycles) n° de référence 20040560 (200 cycles) n° de référence 20040561 (300 cycles)	Fournit la cartouche de réactifs, la Flow Cell et le mélange RSB NextSeq 1000/2000 au Tween 20 requis pour une analyse unique. Compatible uniquement avec NextSeq 2000.
Microtubes, 1,5 ml	Fisher Scientific, n° de référence 14-222-158, ou tubes à faible adhérence équivalents	Dilution des librairies selon la concentration de chargement.
Pointes de pipette, 10 µl	Fournisseur de laboratoire général	Dilution des librairies.
Pointes de pipette, 20 µl	Fournisseur de laboratoire général	Dilution et chargement des librairies.
Pointes de pipette, 200 µl	Fournisseur de laboratoire général	Dilution des librairies.
Pointes de pipette, 1 000 µl	Fournisseur de laboratoire général	Perçage de l'opercule du réservoir de la librairie.
[Facultatif] Contrôle PhiX v3	Illumina, n° de référence FC-110-3001	Exécution d'une analyse comportant uniquement le contrôle PhiX ou ajout d'un contrôle PhiX.
[Facultatif] Essuie-tout	Fournisseur de laboratoire général	Essuyage de la cartouche après un bain d'eau.

## Consommables pour la maintenance

Tableau 4 Consommables pour la maintenance

Consommable	Fournisseur	Utilisation
Gants jetables sans talc	Fournisseur de laboratoire général	Usage général.
Filtre à air de remplacement NextSeq 1000/2000*	Illumina, n° de référence 20029759	Remplacement du filtre à air tous les six mois.

<sup>1</sup> L'instrument est livré avec un tampon déjà installé et un tampon de rechange. Si l'instrument n'est plus sous garantie, les articles de remplacement sont fournis par l'utilisateur. Conservez-les dans leur emballage jusqu'à leur utilisation.

## Équipement auxiliaire

Achetez l'équipement suivant à des fins de séquençage.

Élément	Source	Utilisation
Congélateur, de -25 à -15 °C	Fournisseur de laboratoire général	Stockage de la cartouche.
Seau d'eau glacé	Fournisseur de laboratoire général	Mettre les librairies de côté jusqu'au séquençage.
Pipette, 10 µl	Fournisseur de laboratoire général	Dilution des librairies selon la concentration de chargement.
Pipette, 20 µl	Fournisseur de laboratoire général	Dilution des librairies selon la concentration de chargement et chargement des librairies dans la cartouche.
Pipette, 200 µl	Fournisseur de laboratoire général	Dilution des librairies selon la concentration de chargement.
Réfrigérateur, de 2 °C à 8 °C	Fournisseur de laboratoire général	Stocker la Flow Cell ou décongeler la cartouche.

Élément	Source	Utilisation
<p>[Facultatif] Un des bains d'eau à température contrôlée suivants ou un équivalent pouvant être maintenu à 25 °C :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bain d'eau circulante Precision de Thermo Scientific, 35 L (contient simultanément 5 cartouches)</li> <li>• Bain d'eau circulante numérique SHEL LAB, 22 L (contient simultanément 3 cartouches)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thermo Fisher Scientific, n° de référence TSCIR 35 au catalogue</li> <li>• Shel Lab, n° de référence SWBC22 au catalogue</li> </ul>	<p>Décongélation de la cartouche.</p>

# Protocole

Cette section fournit des instructions par étapes sur la manière de préparer les consommables, diluer les bibliothèques et configurer une analyse de séquençage dans l'un des quatre modèles (les modes infonuagique, hybride et local utilisent la plateforme DRAGEN ou BaseSpace Sequence Hub alors que le mode autonome est une analyse autonome prévue pour générer uniquement des données cBCL pour des flux de travail d'analyses personnalisées).

Lorsque vous manipulez des réactifs et autres produits chimiques, portez des lunettes de protection, un sarrau de laboratoire et des gants sans talc.

Assurez-vous d'avoir à votre disposition les consommables et l'équipement requis avant de démarrer un protocole. Consultez la section [Consommables et équipement, page 24](#).

Suivez les protocoles dans l'ordre indiqué, en respectant les volumes, les températures et les durées précisés.

## Considérations du séquençage

Avant de commencer le protocole, passez en revue les informations suivantes afin de vous préparer à diluer les bibliothèques et à configurer l'analyse. Pour réussir le séquençage et l'analyse, il est indispensable d'atteindre la concentration de charge optimale. Saisir le nombre de cycles adéquats dans une lecture aide à garantir une sortie de données optimale.

### Concentrations et volume de chargement

Le volume de chargement est 20 µl. La concentration de chargement varie selon le type de bibliothèque :

Type de bibliothèque	Concentration de chargement (pM)
Bibliothèque PLUS AmpliSeq <sup>MC</sup> pour Illumina	750
DNA Prep d'Illumina	750
DNA Prep d'Illumina avec enrichissement	1 000
Trousse Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750
Trousse Illumina Stranded mRNA Prep	750
Trousse Illumina DNA PCR-Free	1 000
PhiX à 100 %	650
TruSeq DNA Nano 350	1 200



Type de librairie	Concentration de chargement (pM)
TruSeq DNA Nano 550	1 500
ARNm à brins TruSeq	1 000

Une concentration de chargement de départ de 650 pM est recommandée pour les autres types de librairies. Optimisez cette concentration au fil des analyses afin de déterminer une concentration de chargement produisant constamment des données conformes aux spécifications.

**i** | Pour optimiser la concentration de chargement, utilisez l'indicateur « % Loading Concentration » (% de la concentration de chargement) dans le fichier de sortie `PrimaryAnalysisMetrics.csv` une fois l'analyse complétée. Si % Loading Concentration est supérieur à 95 %, augmentez la concentration de chargement par incréments de 100 pM au cours des analyses suivantes.

## Nombre de cycles d'une lecture

L'exécution d'un minimum de 26 cycles et d'un maximum de 151 cycles par lecture contribue à assurer la qualité des données. Le nombre exact de cycles dépend de votre expérience. Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 nécessite au moins 1 cycle pour la lecture 1, mais affiche un avertissement lorsque le nombre de cycles dans la lecture 1 est inférieur à 26.

Le nombre total de cycles pour la lecture 1, l'index 1, l'index 2 et la lecture 2 ne peut pas être plus élevé que le nombre de cycles pris en charge par la trousse plus 38 cycles pour les trousse de 100 et 200 cycles et 27 cycles pour les trousse de 300 cycles P3. Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 affichera un avertissement lorsque l'index 1 et l'index 2 sont à moins de 6 cycles. L'avertissement ne s'affichera pas si l'index 1 ou l'index 2 est à 0 cycle.

Le nombre minimum et maximum de cycles comprend un cycle supplémentaire. Ajoutez toujours un cycle à la longueur de lecture désirée afin de corriger les effets de la mise en phase et de la mise en préphase. La longueur de lecture représente le nombre de cycles de **séquençage** pour la lecture 1 et la lecture 2, ce qui exclut les cycles supplémentaires et les cycles d'index. Pour obtenir plus d'informations, consultez la section Phasing Correction (Correction de phasage) dans [Flux de travail de Real-Time Analysis, page 60](#).

Exemple de configuration de l'analyse :

- Pour une longueur de lecture de 35 (lecture unique), saisissez **36** dans le champ de la lecture 1.
- Pour une longueur de lecture de 150 (lectures appariées), saisissez **151** dans le champ de la lecture 1 et **151** dans celui de la lecture 2.

# Planification d'une analyse de séquençage dans BaseSpace Sequence Hub

Utilisez l'Installation de l'analyse de l'instrument dans BaseSpace Sequence Hub afin de créer et configurer vos paramètres d'analyse. Si vous configurez une analyse en mode infonuagique ou hybride, soumettez la configuration d'analyse à votre liste d'analyses planifiées sur votre compte BaseSpace Sequence Hub dans l'onglet Planned Runs (Analyses planifiées). Les analyses disponibles au séquençage sur les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 sont affichées. Si vous configurez une analyse en mode local, utilisez l'Installation de l'analyse de l'instrument afin de créer et d'exporter votre feuille d'échantillons en format de fichier v2. Sinon, consultez [Configuration des feuilles d'échantillons v2, page 92](#) afin de créer des feuilles d'échantillons sans BaseSpace Sequence Hub en utilisant un modèle fourni.

L'installation de l'analyse de l'instrument de BaseSpace Sequence Hub ne prend pas en charge plus de 1 536 échantillons.

## Configurer une analyse

1. Naviguez sur BaseSpace Sequence Hub.
2. Entrez votre adresse courriel et le mot de passe de votre compte BaseSpace Sequence Hub, puis sélectionnez **Sign in** (Ouvrir une session).
3. Sélectionnez l'onglet **Runs** (Analyses), puis sélectionnez le menu déroulant **New Run** (Nouvelle analyse).
4. Sélectionnez **NextSeq 1000/2000**.
5. Dans le champ Run Name (Nom de l'analyse), entrez un nom distinct de votre choix pour l'analyse en cours.

Le nom de l'analyse peut contenir un maximum de 225 caractères alphanumériques, des espaces, des tirets et des traits de soulignement.

6. Sélectionnez un des emplacements d'analyse suivants.
  - **BaseSpace** – Analyser des données de séquençage dans le nuage.
  - **Local** – Analyser des données de séquençage sur instrument ou générer une feuille d'échantillons v2 pour le mode local ou le mode hybride.
7. Sélectionnez un type d'analyse et une version.

Pour obtenir plus d'informations sur les analyses secondaires, consultez la section [Fichiers de sortie d'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN, page 66](#) ou la documentation des applications BaseSpace Sequence Hub. Si vous avez sélectionné l'analyse DRAGEN Single Cell RNA, consultez les fichiers des produits NextSeq 1000/2000 pour des renseignements sur la compatibilité avec des trousseaux de préparation de bibliothèques ARN à cellule unique tierces.

**i** | Pour une analyse sur instrument, la version sélectionnée doit correspondre à la version de la plateforme DRAGEN installée sur l'instrument. Pour confirmer la version de la plateforme DRAGEN installée sur l'instrument, consultez la section [Mise à jour de licences et de flux de travail de la plateforme DRAGEN](#), page 82.

8. **[Facultatif]** Configurez des trousse d'index personnalisées comme suit.
 

Si vous utilisez plus d'une librairie, les librairies doivent avoir les mêmes longueurs de lectures d'index.

  - a. Sélectionnez **Add Custom Index Adapter Kit** (Ajouter une trousse d'adaptateur d'index) sous le menu déroulant Index Adapter Kit (Trousse d'adaptateur d'index).
  - b. Sélectionner un type de modèle et saisissez le nom de la trousse, les séquences des adaptateurs, les stratégies d'index et les séquences d'index.
 

Assurez-vous que les séquences des adaptateurs du second index (i5) sont orientées vers l'avant.
  - c. Sélectionnez **Create New Kit** (Créer une nouvelle trousse).
9. **[Facultatif]** Configurez des trousse de préparation de librairies comme suit.
  - a. Sélectionnez **Add Custom Library Prep Kit** (Ajouter des trousse de préparation de librairies) sous le menu déroulant Library Prep Kit (Trousse de préparation des librairies).
  - b. Saisissez le nom, les types de lectures, les cycles de lectures par défaut et les trousse d'adaptateur d'index compatibles pour votre trousse de préparation de librairies
  - c. Sélectionnez **Create New Kit** (Créer une nouvelle trousse).
10. Sélectionnez les paramètres d'instrument suivants. Selon la trousse de préparation de librairies, les options recommandées sont automatiquement sélectionnées. Certaines trousse de préparation de librairies ont un nombre de lectures d'index et des types de lectures incorporés qui ne peuvent être changés.
  - Trousse de préparation des librairies
  - Trousse d'adaptateurs d'index
  - Nombre de lectures d'index
  - Type de lecture
  - Nombre de cycles de séquençage par lecture

**i** | Si « Not Specified » (Non spécifiée) est sélectionné pour la trousse de préparation des librairies, le nombre de lectures d'index n'est pas mis à jour jusqu'à ce que les séquences d'index soient saisies dans la section des données d'échantillon.
11. Saisissez les informations d'échantillon dans la feuille de calcul des données d'échantillons par l'une des options suivantes. Afin de grouper les échantillons pour un regroupement des données durant l'analyse en aval, assignez un nom pour le groupe dans la colonne « Project » (Projet).

- Sélectionnez **Import Data** (Importer les données), puis sélectionnez votre feuille d'échantillons. Assurez-vous que votre feuille d'échantillons répond aux exigences de formatage. Consultez la section [Configuration des feuilles d'échantillons v2, page 92](#). Altérer votre feuille d'échantillons après le téléchargement initial peut causer un échec de l'analyse.
- Copiez les identifiants d'échantillons et toute plaque d'index bien positionnée ou les index i7 et i5 provenant d'un document externe. Avant de copier, saisissez le nombre de lignes d'échantillons dans le champ « Row » (Ligne), puis sélectionnez **+**. Les identifiants d'échantillons peuvent contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques, traits d'union et tiret bas.



Les plaques d'index à la disposition fixe nécessitent des entrées pour la position des puits. Les index qui n'ont pas de disposition fixe nécessitent des entrées pour les index i7 et i5. Les index i5 doivent être entrés dans une orientation vers le haut.

- Entrez manuellement les identifiants d'échantillons et les positions de puits ou index correspondants. Si « Not Specified » (Non spécifiée) est sélectionné pour la trousse de préparation des librairies, entrez les séquences de l'Index 2 (i5) en orientation vers le haut.

12. Sélectionnez **Next** (Suivant).

## Configurer une analyse secondaire

Configurez les paramètres pour le type d'analyse sélectionné pour votre analyse. Pour en savoir plus sur les flux de travail de l'analyse de la plateforme DRAGEN, consultez la section [Fichiers de sortie d'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN, page 66](#).

### Conversion de BCL DRAGEN d'Illumina

Suivez les étapes suivantes afin de configurer l'analyse de conversion de BCL de la plateforme DRAGEN d'Illumina.

1. Saisissez les paramètres facultatifs suivants :

Paramètre	Description
AdapterRead1	La séquence d'adaptateur de la Lecture 1. Si vous utilisez la trousse de préparation de librairies Illumina, laissez le champ AdapterRead1 vide.
AdapterRead2	La séquence d'adaptateur de la Lecture 2. Si vous utilisez la trousse de préparation de librairies Illumina, laissez le champ AdapterRead2 vide.
BarcodeMismatchesIndex1	Le nombre de mésappariements permis entre la première lecture d'index et la séquence d'indexage. La valeur par défaut est « 1 ». Si un code à barres est 6 pb, la valeur recommandée est « 0 ».

Paramètre	Description
BarcodeMismatchesIndex2	Le nombre de mésappariements permis entre la seconde lecture d'index et la séquence d'indexage. La valeur par défaut est « 1 ». Si un code à barres est 6 pb, la valeur recommandée est « 0 ».
OverrideCycles	La chaîne utilisée pour spécifier les cycles relatifs aux identifiants moléculaires uniques (IMU) et les cycles masqués d'une lecture. Les valeurs suivantes sont permises : <ul style="list-style-type: none"> <li>• N – Spécifie les cycles à ignorer.</li> <li>• Y – Spécifie les cycles de séquençage.</li> <li>• I – Spécifie les cycles d'index.</li> <li>• U – Spécifie les cycles IMU à retrancher.</li> </ul> Des points-virgules séparent chaque élément. Les exemples suivants montrent des entrées OverrideCycles. U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

2. Choisissez si vous souhaitez sauvegarder une copie de vos fichiers FASTQ. Les fichiers FASTQ sont générés seulement si vous choisissez de garder les fichiers FASTQ.
3. Sélectionnez un des formats de sortie suivants pour les fichiers FASTQ :
  - **gzip** : enregistre les fichiers FASTQ en format gzip.
  - **DRAGEN** : enregistre les fichiers FASTQ en format ora.
4. Complétez la configuration de l'analyse.
  - Afin d'envoyer votre configuration d'analyse à votre compte BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez **Submit Run** (Soumettre l'analyse). Les analyses soumises à BaseSpace Sequence Hub apparaissent dans la liste des analyses planifiées et sont disponibles pour les systèmes utilisant le mode infonuagique ou le mode hybride.
  - Pour sauvegarder une configuration d'analyse en tant que feuille d'échantillons en format v2, sélectionnez **Export Sample Sheet** (Exporter feuille d'échantillons) de la liste déroulante de **Submit Run** (Soumettre l'analyse). La feuille d'échantillons est nécessaire pour lancer l'analyse sur un système utilisant le mode local. Cette option est disponible seulement si le mode local est sélectionné dans l'emplacement de l'analyse.

## Enrichissement DRAGEN d'Illumina

Suivez les étapes suivantes afin de configurer l'analyse d'enrichissement de la plateforme DRAGEN d'Illumina.

1. Sélectionnez un génome de référence.

Si possible, utilisez un génome de référence avec une sensibilité ALT.

2. Sélectionnez un fichier \*.bed contenant les régions que vous souhaitez cibler ou téléchargez un nouveau fichier personnalisé.

Assurez-vous que le génome de référence du fichier BED corresponde au génome de référence sélectionné à l'étape 1. Pour un nouveau fichier BED, utilisez le format de dénomination suivant :

`name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.

- **Mode local** – Sélectionnez **Custom File (Local)** (Fichier personnalisé [local]) pour téléverser pour une seule analyse ou **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser fichier personnalisé [BaseSpace]) pour un usage répété.
  - **Mode infonuagique ou hybride** – Sélectionnez **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser fichier personnalisé [BaseSpace]). Le fichier BED personnalisé n'est disponible que dans le groupe de travail dans lequel il a été téléversé.
3. Sélectionnez soit l'appel des variants germinaux, soit l'appel des variants somatiques.
  4. **[Facultatif]** Si vous utilisez l'appel des variants somatiques, sélectionnez un fichier de référence du bruit. Pour en savoir plus, consultez la section [Import Noise Baseline Files \(Importer des fichiers de référence du bruit\)](#), page 19.
  5. Sélectionnez une carte/alignez un format de sortie.
  6. Choisissez si vous souhaitez sauvegarder une copie de vos fichiers FASTQ. Les fichiers FASTQ sont générés seulement si vous choisissez de garder les fichiers FASTQ.
  7. Sélectionnez un des formats de sortie suivants pour les fichiers FASTQ :
    - **gzip** : enregistre les fichiers FASTQ en format gzip.
    - **DRAGEN** : enregistre les fichiers FASTQ en format ora.
  8. Complétez la configuration de l'analyse.
    - Afin d'envoyer votre configuration d'analyse à votre compte BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez **Submit Run** (Soumettre l'analyse). Les analyses soumises à BaseSpace Sequence Hub apparaissent dans la liste des analyses planifiées et sont disponibles pour les systèmes utilisant le mode infonuagique ou le mode hybride.
    - Pour sauvegarder une configuration d'analyse en tant que feuille d'échantillons en format v2, sélectionnez **Export Sample Sheet** (Exporter feuille d'échantillons) de la liste déroulante de **Submit Run** (Soumettre l'analyse). La feuille d'échantillons et les fichiers prenant en charge l'analyse secondaire sont téléchargés dans un dossier \*.zip et sont nécessaires pour lancer des analyses sur des systèmes utilisant le Local mode (Mode local). Cette option est disponible seulement si le mode local est sélectionné dans l'emplacement de l'analyse.

## Germinal DRAGEN d'Illumina

Suivez les étapes suivantes afin de configurer l'analyse germinale de la plateforme DRAGEN d'Illumina.

1. Sélectionnez votre génome de référence.  
Si possible, utilisez un génome de référence avec une sensibilité ALT.
2. Sélectionnez une carte/alignez un format de sortie.
3. Choisissez si vous souhaitez sauvegarder une copie de vos fichiers FASTQ. Les fichiers FASTQ sont générés seulement si vous choisissez de garder les fichiers FASTQ.
4. Sélectionnez un des formats de sortie suivants pour les fichiers FASTQ :
  - **gzip** : enregistre les fichiers FASTQ en format gzip.
  - **DRAGEN** : enregistre les fichiers FASTQ en format ora.
5. Complétez la configuration de l'analyse.
  - Afin d'envoyer votre configuration d'analyse à votre compte BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez **Submit Run** (Soumettre l'analyse). Les analyses soumises à BaseSpace Sequence Hub apparaissent dans la liste des analyses planifiées et sont disponibles pour les systèmes utilisant le mode infonuagique ou le mode hybride.
  - Pour sauvegarder une configuration d'analyse en tant que feuille d'échantillons en format v2, sélectionnez **Export Sample Sheet** (Exporter feuille d'échantillons) de la liste déroulante de **Submit Run** (Soumettre l'analyse). La feuille d'échantillons et les fichiers prenant en charge l'analyse secondaire sont téléchargés dans un dossier \*.zip et sont nécessaires pour lancer des analyses sur des systèmes utilisant le Local mode (Mode local). Cette option est disponible seulement si le mode local est sélectionné dans l'emplacement de l'analyse.

## ARN DRAGEN d'Illumina

Suivez les étapes suivantes afin de configurer l'analyse ARN DRAGEN d'Illumina.

1. Sélectionnez votre génome de référence.  
Si possible, utilisez un génome de référence sans sensibilité ALT.
2. Sélectionnez votre carte/aligner un format de sortie.
3. Choisissez si vous souhaitez sauvegarder une copie de vos fichiers FASTQ. Les fichiers FASTQ sont générés seulement si vous choisissez de garder les fichiers FASTQ.
4. Sélectionnez un des formats de sortie suivants pour les fichiers FASTQ :
  - **gzip** : enregistre les fichiers FASTQ en format gzip.
  - **DRAGEN** : enregistre les fichiers FASTQ en format ora.
5. **[Facultatif]** Téléversez un fichier d'annotation d'ARN en format de transfert de gène (GTF).

- **Mode local** – Sélectionnez **Custom File (Local)** (Fichier personnalisé [local]) pour téléverser pour une seule analyse ou **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser fichier personnalisé [BaseSpace]) pour un usage répété.
- **Mode infonuagique ou hybride** – Sélectionnez **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser fichier personnalisé [BaseSpace]). Le fichier GTF personnalisé n'est disponible que dans le groupe de travail dans lequel il a été téléversé.

Une fois qu'un fichier GTF a été téléversé dans un groupe de travail BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez le fichier d'annotations d'ARN dans le menu déroulant.

6. Choisissez si vous souhaitez activer l'expression différentielle.
7. Si vous activez l'expression différentielle, sélectionnez une valeur témoin ou de comparaison pour chaque échantillon.

Dans chaque groupe de comparaison, les échantillons marqués comme témoins sont comparés aux échantillons marqués comme comparaison. Si l'échantillon ne contient pas de valeur témoin ou de comparaison, sélectionnez **N/A** (S. O.) comme valeur.

8. Complétez la configuration de l'analyse.
  - Afin d'envoyer votre configuration d'analyse à votre compte BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez **Submit Run** (Soumettre l'analyse). Les analyses soumises à BaseSpace Sequence Hub apparaissent dans la liste des analyses planifiées et sont disponibles pour les systèmes utilisant le mode infonuagique ou le mode hybride.
  - Pour sauvegarder une configuration d'analyse en tant que feuille d'échantillons en format v2, sélectionnez **Export Sample Sheet** (Exporter feuille d'échantillons) de la liste déroulante de **Submit Run** (Soumettre l'analyse). La feuille d'échantillons et les fichiers prenant en charge l'analyse secondaire sont téléchargés dans un dossier \*.zip si un fichier GTF facultatif a été fourni et sont nécessaires pour lancer des analyses sur des systèmes utilisant le Local mode (Mode local). Cette option est disponible seulement si le mode local est sélectionné dans l'emplacement de l'analyse.

## Single Cell RNA DRAGEN d'Illumina

Suivez les étapes suivantes afin de configurer l'analyse Single Cell RNA DRAGEN d'Illumina.

1. Sélectionnez votre génome de référence.  
Si possible, utilisez un génome de référence sans sensibilité ALT.
2. **[Facultatif]** Téléversez un fichier d'annotation d'ARN en format de transfert de gène (GTF).
  - **Mode local** – Sélectionnez **Custom File (Local)** (Fichier personnalisé [local]) pour téléverser pour une seule analyse ou **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser fichier personnalisé [BaseSpace]) pour un usage répété.
  - **Mode infonuagique ou hybride** – Sélectionnez **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser fichier personnalisé [BaseSpace]). Le fichier GTF personnalisé n'est disponible que dans le groupe de travail dans lequel il a été téléversé.



Une fois qu'un fichier GTF a été téléversé dans un groupe de travail BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez le fichier d'annotations d'ARN dans le menu déroulant.

3. Sélectionnez votre carte/aligner un format de sortie.
4. Choisissez si vous souhaitez sauvegarder une copie de vos fichiers FASTQ. Les fichiers FASTQ sont générés seulement si vous choisissez de garder les fichiers FASTQ.
5. Sélectionnez un des formats de sortie suivants pour les fichiers FASTQ :
  - **gzip** : enregistre les fichiers FASTQ en format gzip.
  - **DRAGEN** : enregistre les fichiers FASTQ en format ora.
6. Sélectionnez la configuration identique à votre type de trousse de préparation de bibliothèques. Par exemple, si vous avez sélectionné la trousse Single Cell RNA Library Kit 1 pour préparer vos bibliothèques, sélectionnez « Type 1 » pour le type de configuration.
7. Sélectionnez la lecture du code à barres.
8. **[Facultatif]** Modifiez le nombre de bases dans le code à barres et l'IMU. Les valeurs sont automatiquement générées en fonction de la trousse de préparation de bibliothèques et du type sélectionnés.
9. Sélectionnez l'orientation des brins.
10. **[Facultatif]** Sélectionnez un fichier qui contient les séquences de votre code à barres ou téléversez un nouveau fichier personnalisé.
11. Si vous utilisez un type de configuration avancé ou personnalisé, entrez les valeurs pour le nombre de cycles de remplacement, la position du code à barres et la position des IMU.
12. Complétez la configuration de l'analyse.
  - Afin d'envoyer votre configuration d'analyse à votre compte BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez **Submit Run** (Soumettre l'analyse). Les analyses soumises à BaseSpace Sequence Hub apparaissent dans la liste des analyses planifiées et sont disponibles pour les systèmes utilisant le mode infonuagique ou le mode hybride.
  - Pour sauvegarder une configuration d'analyse en tant que feuille d'échantillons en format v2, sélectionnez **Export Sample Sheet** (Exporter feuille d'échantillons) de la liste déroulante de **Submit Run** (Soumettre l'analyse). La feuille d'échantillons et les fichiers prenant en charge l'analyse secondaire sont téléchargés dans un dossier \*.zip si un fichier GTF facultatif a été fourni et sont nécessaires pour lancer des analyses sur des systèmes utilisant le Local mode (Mode local). Cette option est disponible seulement si le mode local est sélectionné dans l'emplacement de l'analyse.

## Amplicon DRAGEN d'Illumina

Suivez les étapes suivantes afin de configurer l'analyse d'amplicons DRAGEN d'Illumina.

1. Sélectionnez votre génome de référence.

2. Sélectionnez un fichier \*.bed contenant les régions que vous souhaitez cibler ou téléversez un nouveau fichier personnalisé.  
Assurez-vous que le génome de référence du fichier BED corresponde au génome de référence sélectionné à l'étape 1. Pour un nouveau fichier BED, utilisez le format de dénomination suivant : `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
  - **Mode infonuagique ou hybride** – Sélectionnez **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser fichier personnalisé [BaseSpace]). Le fichier BED personnalisé n'est disponible que dans le groupe de travail dans lequel il a été téléversé.
  - **Local mode** (Mode local) – Sélectionnez **Select Custom File (Local)** (Sélectionner un fichier personnalisé [local]) à téléverser pour une seule analyse ou **Upload Custom File (BaseSpace)** (Téléverser un fichier personnalisé [BaseSpace]) pour un usage répété.
3. Sélectionnez soit l'appel des variants germinaux, soit l'appel des variants somatiques.
4. Sélectionnez votre format de sortie (carte ou alignement).
5. **[Local]** Choisissez si vous souhaitez sauvegarder une copie de vos fichiers FASTQ. Les fichiers FASTQ sont générés seulement si vous choisissez de garder les fichiers FASTQ.
6. Choisissez si vous souhaitez sauvegarder une copie de vos fichiers FASTQ. Les fichiers FASTQ sont générés seulement si vous choisissez de garder les fichiers FASTQ.
7. Sélectionnez un des formats de sortie suivants pour les fichiers FASTQ :
  - **gzip** : enregistre les fichiers FASTQ en format gzip.
  - **DRAGEN** : enregistre les fichiers FASTQ en format ora.
8. Complétez la configuration de l'analyse.
  - Afin d'envoyer votre configuration d'analyse à votre compte BaseSpace Sequence Hub, sélectionnez **Submit Run** (Soumettre l'analyse). Les analyses soumises à BaseSpace Sequence Hub apparaissent dans la liste des analyses planifiées et sont disponibles pour les systèmes utilisant le mode infonuagique ou le mode hybride.
  - **[Local]** Pour sauvegarder une configuration d'analyse en tant que feuille d'échantillons au format de fichier v2, sélectionnez **Export Sample Sheet** (Exporter une feuille d'échantillons) de la liste déroulante **Submit Run** (Soumettre une analyse). La feuille d'échantillons et les fichiers prenant en charge l'analyse secondaire sont téléchargés dans un dossier \*.zip et sont nécessaires pour lancer des analyses sur des systèmes utilisant le Local mode (Mode local). Cette option est disponible seulement si le mode local est sélectionné dans l'emplacement de l'analyse.

## Décongeler la cartouche ensachée et la Flow Cell

Cette étape décongèle la cartouche *dans son sac fermé* et prépare la Flow Cell. Décongelez la cartouche ensachée en utilisant une de ces trois méthodes : un bain d'eau à température contrôlée,

le réfrigérateur ou l'air à température ambiante. Utilisez la cartouche immédiatement après l'avoir décongelée et ce, sans la recongeler. Si vous êtes incapable d'utiliser la cartouche immédiatement, consultez la section [Retourner les consommables au stockage, page 87](#).

Figure 4 Cartouche ensachée



### Décongélation de la cartouche dans un bain d'eau à température contrôlée

1. Mettez une nouvelle paire de gants sans talc et retirez la cartouche du stockage.
2. Retirez la cartouche de la boîte, mais **n'ouvrez pas son emballage argenté en aluminium**.

**!** La décongélation d'un sac déchiré ou percé dans un bain d'eau peut mener à l'échec du séquençage. Préférez la décongélation à la température ambiante ou dans un réfrigérateur.

3. Décongelez la cartouche ensachée dans un bain d'eau à une température de 25 °C pendant 6 heures :

- Maintenez une profondeur d'eau d'au moins 9,5 ou 10 cm et ce, peu importe le nombre de cartouches que vous décongelez.
- Placez un bain d'eau à une température contrôlée de 25 °C.
- Placez l'étiquette du sac vers le haut et placez le sac dans le bain d'eau sans le submerger.

**!** N'essayez pas de submerger la cartouche en y mettant du poids. Les données de séquençage pourraient être affectées négativement si l'étiquette du sac n'est pas vers le haut ou si la cartouche est inversée durant la décongélation.


- La durée du bain d'eau ne doit pas dépasser 8 heures.
- Ne décongelez pas simultanément plus de cartouches que le bain peut en supporter. Consultez la section [Équipement auxiliaire, page 30](#) pour les bains d'eau compatibles.

- N'empilez pas les cartouches.


4. Retirez les cartouches du bain d'eau et séchez-les avec un essuie-tout.

### Décongélation de la cartouche au réfrigérateur

1. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
2. Un jour avant l'analyse prévue, retirez la cartouche de son lieu de stockage maintenu entre -25 °C et -15 °C.
3. Retirez la cartouche de la boîte mais ***n'ouvrez pas son emballage argenté en aluminium.***
4. Positionnez la cartouche à température ambiante en orientant l'étiquette face vers le haut pour permettre une libre circulation de l'air sur tous les côtés et le dessus.

 Les données de séquençage pourraient être affectées négativement si l'étiquette du sac n'est pas vers le haut.


5. Décongelez à température ambiante pendant 6 heures
6. Positionnez la cartouche dans un réfrigérateur à une température entre 2 et 8 °C en orientant l'étiquette face vers le haut pour permettre une libre circulation de l'air sur tous les côtés.

 Les données de séquençage pourraient être affectées négativement si l'étiquette du sac n'est pas vers le haut.

7. Décongelez au réfrigérateur durant 12 heures. Ne dépassez pas 72 heures.

### Décongélation de la cartouche à température ambiante

1. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
2. Retirez la cartouche de son lieu de stockage maintenu entre -25 °C et -15 °C.
3. Retirez la cartouche de la boîte mais ***n'ouvrez pas son emballage argenté en aluminium.***
4. Positionnez la cartouche en orientant l'étiquette face vers le haut pour permettre une libre circulation de l'air sur tous les côtés et le dessus.

 Les données de séquençage pourraient être affectées négativement si l'étiquette du sac n'est pas vers le haut.

5. Décongelez à température ambiante pendant 9 heures. Ne dépassez pas 16 heures.

### Préparation de la Flow Cell et de la cartouche

1. Préparez la Flow Cell comme suit :
  - a. Sortez une nouvelle Flow Cell du lieu de stockage réfrigéré à une température maintenue entre 2 °C et 8 °C.

- b. Laissez l'emballage non ouvert à température ambiante pendant une période de 10 à 15 minutes pour prévenir la condensation lorsque la Flow Cell est retirée de son emballage. La préparation immédiate de la Flow Cell permet de s'assurer qu'elle atteigne la température ambiante au bon moment.
2. Si vous utilisez la méthode de décongélation au réfrigérateur :
  - a. Retirez la cartouche décongelée du stockage à une température comprise entre 2 à 8 °C.
  - b. Mettez la cartouche non ouverte de côté à la température ambiante pour au moins 15 minutes avant le séquençage. Ne dépassez pas 1 heure.

## Diluer les librairies

Si vous utilisez une dénaturation et une dilution intégrées, cette étape dilue les librairies à la concentration applicable pour le chargement. Un ajout facultatif de 2 % de substance de contrôle PhiX<sup>1</sup> fournit des indicateurs supplémentaires, une plus grande diversité des bases ou un contrôle positif. Le pourcentage du contrôle PhiX ajouté devrait augmenter pour les librairies dotées d'une diversité de base plus faible.

Si vous dénaturez et diluez les librairies manuellement, consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des librairies du NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139235)*. Cette étape s'applique uniquement à la dénaturation et la dilution intégrées.

### Diluer la librairie à 2 nM

1. [Facultatif] Retirez le contrôle PhiX 10 nM du lieu de stockage maintenu entre -25 °C et -15 °C. Le contrôle PhiX est nécessaire seulement pour l'ajout facultatif d'une substance de contrôle ou pour une analyse incluant uniquement le contrôle PhiX.
2. [Facultatif] Le contrôle PhiX est décongelé à la température ambiante pendant 5 minutes, puis est ensuite quantifié en utilisant une méthode fluorescente, comme le Qubit, pour confirmer sa concentration en contrôle PhiX.  
Si la quantification est impossible, procédez avec une concentration de 10 nM.
3. Agitez brièvement la librairie ou le contrôle PhiX, puis centrifugez à 280 × g pendant une minute.
4. En utilisant la solution RSB au Tween 20 comme diluant, préparez au moins 24 µl 2 nM de librairie dans un microtube à faible adhérence.  
Pour les instructions relatives à l'ajout du contrôle PhiX, consultez la section [Ajouter un contrôle PhiX \(facultatif\)](#), page 47.
5. Agitez brièvement, puis centrifugez à 280 × g pendant 1 minute.

---

<sup>1</sup>PhiX est une petite librairie d'Illumina simple d'utilisation dotée d'une représentation équilibrée des nucléotides.

## Diluer la librairie 2 nM à la concentration de chargement

1. Combinez les volumes suivants dans un microtube à faible adhérence pour préparer 24 µl de librairie diluée à la bonne concentration de chargement :

Type de librairie*	Concentration de chargement (pM)	Volume de la librairie 2 nM (µl)	Volume de la solution RSB avec Tween 20 (µl)
Librairie PLUS Ampliseq pour Illumina	750	9	15
DNA Prep d'Illumina	750	9	15
DNA Prep d'Illumina avec enrichissement	1 000	12	12
Trousse Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15
Trousse Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Trousse Illumina DNA PCR-Free	1 000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1 200	14,4	9,6
TruSeq DNA Nano 550	1 500	18	6
ARNm à brins TruSeq	1 000	12	12
PhiX à 100 %	650	7,8	16,2

\* Pour les librairies absentes de la liste, commencez avec une concentration de chargement de 650 pM et optimisez la concentration au fil des analyses.

Ce tableau fournit des exemples de concentrations de chargement. NextSeq 1000/2000 est compatible avec toutes les trousse de préparation de librairies d'Illumina, mais la concentration optimale de chargement peut varier.

2. Agitez brièvement, puis centrifugez à 280 × g pendant 1 minute.
3. Déposez la librairie diluée sur de la glace jusqu'à ce qu'elle soit prête en vue du séquençage. Séquencez les librairies diluées à la concentration de chargement le jour même de leur dilution.
4. Procédez comme suit :
  - Si vous ajoutez du contrôle PhiX, consultez la section [Ajouter un contrôle PhiX \(facultatif\)](#), page 47.
  - Si vous n'ajoutez pas de contrôle PhiX ou si vous exécutez une analyse comportant uniquement le contrôle PhiX, consultez la section [Charger les consommables dans la cartouche](#), page 47.

## Ajouter un contrôle PhiX (facultatif)

1. Combinez les volumes suivants dans un microtube à faible adhérence pour préparer 20 µl de contrôle PhiX 1 nM :

- Contrôle PhiX 10 nM (2 µl)
- Solution RSB avec Tween 20 (18 µl)

2. Agitez brièvement, puis centrifugez à 280 × g pendant 1 minute.

3. Ajoutez 1 µl de contrôle PhiX 1 nM à une librairie 24 µl diluée à la concentration de chargement finale.

Ces volumes permettent d'obtenir une substance de contrôle PhiX à environ 2 %. Le pourcentage réel varie en fonction de la qualité de la librairie et de sa quantité.

4. Déposez la librairie avec la substance de contrôle PhiX sur de la glace jusqu'à ce qu'elle soit prête en vue du séquençage.

Séquencez les librairies avec la substance de contrôle PhiX le jour même de leur dilution.

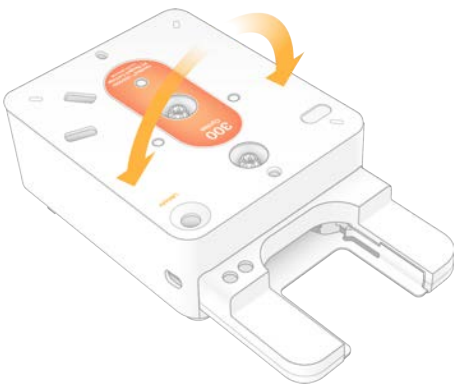
## Charger les consommables dans la cartouche

Cette étape prépare la cartouche pour le séquençage en mélangeant les réactifs déjà remplis et la dilution de chargement des librairies et de la Flow Cell.

### Préparer la cartouche

1. Ouvrez le sachet de la cartouche, en le déchirant ou en le coupant avec des ciseaux à partir des encoches supérieures de chaque côté.
2. Retirez la cartouche du sac. Jetez le sac et l'absorbant d'humidité.
3. Retournez la cartouche 10 fois pour mélanger les réactifs.

Les composants internes peuvent cliqueter durant le retournement, ce qui est normal.

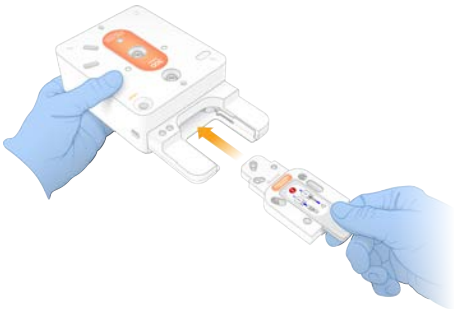


## Charger la Flow Cell

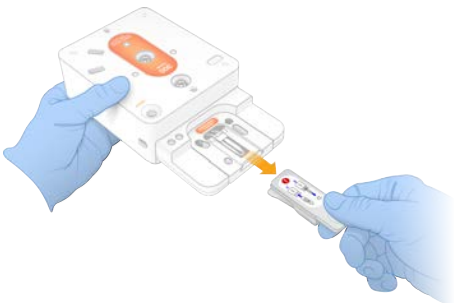
1. Ouvrez l'emballage en aluminium en le déchirant ou en le coupant avec des ciseaux à partir des incisions supérieures de chaque côté.  
Si vous ne pouvez utiliser la Flow Cell immédiatement, consultez la section [Retourner les consommables au stockage, page 87](#).
2. Sortez la Flow Cell de l'emballage.  
Mettez l'emballage en aluminium et l'absorbant d'humidité de côté au cas où vous auriez besoin de retourner la Flow Cell au stockage. L'absorbant d'humidité est contenu dans une poche au fond de l'emballage en aluminium. Jetez-les lorsque le séquençage aura commencé.



3. Tenez la Flow Cell par l'onglet gris en vous assurant que l'étiquette sur l'onglet est orientée vers le haut.
4. Appuyez pour insérer la Flow Cell dans la fente à l'avant de la cartouche.  
Un déclic indique que la Flow Cell est en place. Une languette grise dépasse de la cartouche lorsque celle-ci est chargée correctement.



5. Tirer et enlever la languette grise afin d'exposer la Flow Cell. Mettez la languette au recyclage.





## Charger les bibliothèques

1. Utilisez une pointe de pipette P1000 neuve pour percer l'opercule du réservoir de la bibliothèque et poussez-le jusqu'aux rebords pour agrandir le trou.
2. Jetez la pointe de pipette pour éviter la contamination.
3. Ajoutez 20 µl de bibliothèque diluée au *fond* du réservoir en descendant lentement le bout de la pipette au fond du réservoir avant la distribution. Évitez de toucher l'opercule.





## Lancement d'une analyse de séquençage

Cette étape lance une analyse de séquençage exécutée dans l'un de nos quatre modes :

- **Mode infonuagique** – L'analyse est sélectionnée à partir d'une liste d'analyses planifiées dans le logiciel de commande NextSeq 1000/2000. Durant le séquençage, les données cBCL sont téléversées dans BaseSpace Sequence Hub. Après le séquençage, la plateforme DRAGEN est lancée automatiquement dans BaseSpace Sequence Hub.
- **Mode hybride** – L'analyse est sélectionnée à partir d'une liste d'analyses planifiées dans le logiciel de commande NextSeq 1000/2000. Après le séquençage, l'analyse sur instrument est lancée automatiquement. Les données cBCL et le fichier de sortie de l'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN sont stockés dans le dossier de sortie sélectionné.
- **Mode local** – Une feuille d'échantillons en format de fichier v2 est manuellement importée dans le logiciel de commande NextSeq 1000/2000. Après le séquençage, l'analyse sur instrument est lancée automatiquement. Les données cBCL et le fichier de sortie de l'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN sont stockés dans le dossier de sortie sélectionné. Si le mode Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage) est sélectionné, l'analyse peut également être lancée par l'entremise des applications de BaseSpace Sequence Hub une fois le séquençage terminé.


- **Mode autonome** – Configure une analyse, suivant les instructions dans le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 afin de générer des données cBCL.

 | L'ouverture de la visière au cours de la vérification avant analyse ou au cours de l'analyse peut entraîner l'échec de cette dernière.

 | Gardez vos mains éloignées de l'instrument durant l'ouverture et la fermeture de la visière afin d'éviter toute blessure.

## Lancement d'une analyse infonuagique ou hybride


1. Configurez le mode d'analyse, comme décrit dans la section [Configurer le mode d'analyse, page 20](#).
2. Sélectionnez **Start** (Démarrer).
3. Saisissez vos identifiants de connexion à BaseSpace Sequence Hub, puis sélectionnez **Sign In** (Ouverture de session).
4. Si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, suivi de l'analyse et stockage), sélectionnez le groupe de travail contenant votre analyse créée dans Instrument Run Setup (Configuration de l'analyse de l'instrument) dans BaseSpace Sequence Hub.

 | La sélection d'un groupe de travail est nécessaire afin d'éviter des erreurs. Assurez-vous d'avoir sélectionné un groupe de travail avant de poursuivre.

5. Sélectionnez **Next** (Suivant).
6. Sélectionnez votre analyse.
7. Confirmez que l'analyse, la longueur de l'analyse et la version de l'analyse secondaire correspondent à la bonne analyse.  
L'analyse présente un nuage pour indiquer que l'analyse a été exécutée dans BaseSpace Sequence Hub.
8. Sélectionnez **Review** (Révision).
9. **[Facultatif]** Entrez les emplacements des primers de lecture personnalisés et des primers d'index personnalisés.  
Pour de l'information sur la préparation et l'ajout de primers personnalisés, consultez le Guide des primers personnalisés du *NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139569)*. Il est recommandé de consulter la page des produits compatibles pour votre trousse de préparation de bibliothèques compatibles afin de vérifier si des primers personnalisés Illumina sont requis.
10. **[Facultatif]** Sélectionnez une formule personnalisée. Pour en savoir plus, consultez la section [Séquençage de cycles obscurs, page 107](#).  
Si vous utilisez le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3 et la trousse Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus d'Illumina ou la trousse Stranded mRNA Prep d'Illumina, la formule personnalisée est automatiquement sélectionnée.

11. **[Facultatif]** Pour dénaturer et diluer les bibliothèques manuellement, décochez la case **Denature and Dilute On Board** (Dénaturer et diluer sur l'instrument). Consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques du NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139235)*.  
La sélection par défaut est configurée à partir des paramètres du logiciel de commande du NextSeq 1000/2000.
12. **[Facultatif]** Pour modifier le dossier de sortie, sélectionnez le champ Output Folder (Dossier de sortie) et entrez-y le nouvel emplacement.  
Le champ Output Folder (Dossier de sortie) est rempli automatiquement selon vos paramètres par défaut et est nécessaire, sauf si vous avez sélectionné **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage).  
Si vous sélectionnez Run Monitoring and Storage (Surveillance de l'analyse et stockage), la mention de l'option de sauvegarder sur BaseSpace Sequence Hub affiche Enabled (Activé).  
Si vous avez sélectionné Proactive and Run Monitoring (Proactive et surveillance de l'analyse), la mention de l'option de sauvegarder sur BaseSpace Sequence Hub affiche Disabled (Désactivé).
13. Vérifiez les informations de votre analyse, puis sélectionnez **Prep** (Préparation).

## Lancement d'une analyse locale

1. Configurez le mode d'analyse, comme décrit dans la section [Configurer le mode d'analyse, page 20](#).
  2. Sélectionnez **Start** (Démarrer).
  3. Si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage) ou Proactive and Run Monitoring (Proactive et surveillance de l'analyse), saisissez vos identifiants d'ouverture de session BaseSpace Sequence Hub, puis sélectionnez **Sign In** (Ouverture de session).
  4. Si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage), sélectionnez le groupe de travail BaseSpace Sequence Hub où sauvegarder votre analyse, puis sélectionnez **Next** (Suivant).
-  La sélection d'un groupe de travail est nécessaire afin d'éviter des erreurs. Assurez-vous d'avoir sélectionné un groupe de travail avant de poursuivre.
5. Sélectionnez **Choose...** (Choisir...) sous Start With Sample Sheet (Commencer avec une feuille d'échantillons), et naviguez dans le formatage de la feuille d'échantillons en format v2 sur l'instrument de NextSeq 1000/2000, un réseau portatif ou un lecteur réseau monté. Les noms de fichier de feuilles d'échantillons ne peuvent contenir de caractères spéciaux.  
Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3 détecte automatiquement la version de la plateforme DRAGEN à partir de la feuille d'échantillons et vous invite à changer de version, le cas échéant. La version de la plateforme DRAGEN doit être installée sur le système. Pour en savoir plus sur l'installation, consultez la section [Mises à jour logicielles, page 81](#).

- **Installation de l'analyse de l'instrument utilisé** – Sélectionnez le fichier .zip contenant la feuille d'échantillons en format v2 et les fichiers complémentaires, le cas échéant. Autrement, sélectionnez la feuille d'échantillons en format v2.
- **Installation de l'analyse de l'instrument non utilisé** – Assurez-vous que le fichier complémentaire de l'analyse secondaire est situé dans le même répertoire que la feuille d'échantillons v2.

**i** | La feuille d'échantillons doit être en format v2. Afin de créer une feuille d'échantillons en format v2, téléchargez la feuille d'échantillons générée à partir de l'Installation de l'analyse de l'instrument dans BaseSpace Sequence Hub ou utilisez un modèle de feuille d'échantillons en format v2 fourni à la page d'assistance du NextSeq 1000/2000. Pour obtenir plus de renseignements sur la mise en forme et les exigences de feuilles d'échantillons en format v2, consultez la section [Configuration des feuilles d'échantillons v2, page 92](#). Assurez-vous que tout fichier référencé dans la feuille d'échantillons est situé dans le même dossier que la feuille d'échantillons.

6. Sélectionnez **Review** (Révision).
7. **[Facultatif]** Entrez les emplacements des primers de lecture personnalisés et des primers d'index personnalisés.  
Pour de l'information sur la préparation et l'ajout de primers personnalisés, consultez le Guide des primers personnalisés du *NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139569)*. Il est recommandé de consulter la page des produits compatibles pour votre trousse de préparation de bibliothèques compatibles afin de vérifier si des primers personnalisés Illumina sont requis.
8. **[Facultatif]** Sélectionnez une formule personnalisée. Pour en savoir plus, consultez la section [Séquençage de cycles obscurs, page 107](#).  
Si vous utilisez le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3 et le Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus d'Illumina ou la trousse Stranded mRNA Prep d'Illumina, la formule personnalisée est automatiquement sélectionnée.
9. **[Optional]** Pour dénaturer et diluer les bibliothèques manuellement, décochez la case **Denature and Dilute On Board** (Dénaturer et diluer sur l'instrument). Consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques du NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139235)*.  
La sélection par défaut est configurée à partir des paramètres du logiciel de commande du NextSeq 1000/2000.
10. **[Facultatif]** Pour modifier le dossier de sortie, sélectionnez le champ Output Folder (Dossier de sortie) et entrez-y le nouvel emplacement.  
Le champ Output Folder (Dossier de sortie) est rempli automatiquement selon vos paramètres par défaut et est nécessaire, sauf si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage).  
Si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage), la mention de l'option de sauvegarder sur BaseSpace Sequence Hub sera activée.

Si vous avez sélectionné Proactive and Run Monitoring (Proactive et surveillance de l'analyse), la mention de l'option de sauvegarder sur BaseSpace Sequence Hub affiche Disabled (Désactivé).

11. Vérifiez les informations de votre analyse, puis sélectionnez **Prep** (Préparation).

## Lancement d'une analyse autonome

1. Configurez le mode d'analyse, comme décrit dans la section [Configurer le mode d'analyse, page 20](#).
2. Sélectionnez **Start** (Démarrer).
3. Si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage) ou Proactive and Run Monitoring (Proactive et surveillance de l'analyse), saisissez vos identifiants d'ouverture de session BaseSpace Sequence Hub, puis sélectionnez **Sign In** (Ouverture de session).
4. Si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage), sélectionnez le groupe de travail BaseSpace Sequence Hub où sauvegarder votre analyse, puis sélectionnez **Next** (Suivant).
5. Sélectionnez **Set Up New Run** (Configurer une nouvelle analyse).
6. Dans le champ Run Name (Nom de l'analyse), entrez un nom distinct de votre choix pour l'analyse en cours.  
Le nom de l'analyse peut contenir des caractères alphanumériques, des tirets et des traits de soulignement.
7. Dans le champ Read Type (Type de lecture), choisissez le nombre de lectures de séquençage à exécuter :
  - **Single Read** (Lecture unique) – Exécution d'une seule lecture; cette option est la plus simple et la plus rapide.
  - **Paired End** (Lecture appariée) – Exécution de deux lectures, le consensus desquelles génère des données de meilleure qualité et un alignement plus précis.
8. Saisissez le nombre de cycles à exécuter pour chaque lecture :  
Il n'y a pas de nombre maximum de cycles d'index, mais la somme des lectures d'index et des cycles d'index ne doit pas dépasser le nombre indiqué sur l'étiquette de la cartouche plus 27.

**Read 1** (Lecture 1) – Saisissez **1–151** cycles.

**Index 1** (Index 1) – Saisissez le nombre de cycles pour le primer d'index 1 (i7). Pour une analyse incluant uniquement le contrôle PhiX, saisissez **0** dans les deux champs destinés aux index.

**Index 2** – Saisissez le nombre de cycles pour le primer d'index 2 (i5).

**Read 2** (Lecture 2) – Saisissez jusqu'à **151** cycles. Cette valeur est généralement la même que la valeur de la lecture 1.

9. Si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage), sélectionnez **Choose...** (Choisir...) pour importer une feuille d'échantillons.

Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3 détecte automatiquement la version de la plateforme DRAGEN à partir de la feuille d'échantillons et vous invite à changer de version, le cas échéant. La version de la plateforme DRAGEN doit être installée sur le système. Pour en savoir plus sur l'installation, consultez la section [Mises à jour logicielles, page 81](#).

**i** | La feuille d'échantillons doit être en format v2. Afin de créer une feuille d'échantillons en format v2, téléchargez la feuille d'échantillons générée à partir de l'Installation de l'analyse de l'instrument dans BaseSpace Sequence Hub ou utilisez un modèle de feuille d'échantillons en format v2 fourni à la page d'assistance du NextSeq 1000/2000. Pour obtenir plus de renseignements sur la mise en forme et les exigences de feuilles d'échantillons en format v2, consultez la section [Configuration des feuilles d'échantillons v2, page 92](#). Assurez-vous que tout fichier référencé dans la feuille d'échantillons est situé dans le même dossier que la feuille d'échantillons.

10. **[Facultatif]** Entrez les emplacements des primers de lecture personnalisés et des primers d'index personnalisés.  
Pour de l'information sur la préparation et l'ajout de primers personnalisés, consultez le Guide des primers personnalisés du *NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139569)*. Il est recommandé de consulter la page des produits compatibles pour votre trousse de préparation de bibliothèques compatibles afin de vérifier si des primers personnalisés Illumina sont requis.
11. **[Facultatif]** Sélectionnez une formule personnalisée. Pour en savoir plus, consultez la section [Séquençage de cycles obscurs, page 107](#).
12. **[Optional]** Pour dénaturer et diluer les bibliothèques manuellement, décochez la case **Denature and Dilute On Board** (Dénaturer et diluer sur l'instrument). Consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques du NextSeq 1000 et 2000 (document n° 1000000139235)*.  
La sélection par défaut est configurée à partir des paramètres du logiciel de commande du NextSeq 1000/2000.
13. **[Facultatif]** Pour modifier le dossier de sortie, sélectionnez le champ Output Folder (Dossier de sortie) et entrez-y le nouvel emplacement.  
Le champ Output Folder (Dossier de sortie) est rempli automatiquement selon vos paramètres par défaut et est nécessaire, sauf si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage).
14. Sélectionnez **Prep** (Préparation).

## Chargement des consommables dans l'instrument

1. Assurez-vous que la cartouche ait été décongelée et inversée 10 fois afin de mélanger avant de charger la Flow Cell (tableau gris retiré) et la bibliothèque diluée.
2. Sélectionnez **Load** (Charger).  
Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 ouvre la visière et éjecte le plateau.

- Placez la cartouche sur le plateau avec l'étiquette face vers le haut et la Flow Cell à l'intérieur de l'instrument. Poussez la cartouche jusqu'à ce qu'elle se verrouille en place.



- Sélectionnez **Close** (Fermer) pour que la cartouche se positionne à l'intérieur de l'instrument et que la visière se ferme.  
Le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 affiche les informations des consommables numérisés au bout d'environ 3 minutes.
- [Facultatif] Sélectionnez **Eject Cartridge** (Éjecter la cartouche) afin de retirer la cartouche.  
La visière ouvre après 1 minute et éjecte la cartouche.
- Sélectionnez **Sequence** (Séquencer).

## Vérifications avant analyse

Les vérifications avant analyse comprennent la vérification de l'instrument et suivie de la fluidique. La vérification de la fluidique perce les opercules, ce qui fera entendre 3 ou 4 bruits d'éclatement en provenance de l'instrument. C'est normal. Le réactif est ensuite passé à la Flow Cell.

**!** Les consommables ne peuvent être réutilisés une fois que la vérification de la fluidique est lancée.

- Les vérifications avant analyse prennent environ 15 minutes.  
L'analyse débute automatiquement après la réussite de la vérification.
- Si une erreur se produit au cours de la vérification du système, sélectionnez **Retry** (Réessayer) pour recommencer.  
Lorsqu'une vérification est en cours, le cercle de la vérification s'anime.
- Pour résoudre des problèmes récurrents, consultez la section [Résolution des messages d'erreur](#), page 86.

## Surveiller la progression de l'analyse

1. Surveillez la progression de l'analyse et les indicateurs au fur et à mesure qu'ils apparaissent à l'écran de séquençage.
  - **Estimated run completion** (Moment estimé de la fin de l'analyse) – Date et heure estimées de la fin de l'analyse. L'indicateur de la mesure estimée de l'exécution de l'analyse nécessite 10 analyses antérieures afin de calculer l'heure de fin précise.
  - **Average %Q30** (% Q30 moyen) – Le pourcentage moyen de définition des bases ayant un score de qualité  $\geq 30$ .
  - **Projected Yield** (Rendement attendu) – Le nombre attendu de définitions des bases pour l'analyse.
  - **Total Reads PF** (Total de lectures PF) – Le nombre d'amplifiats passant le filtre appariés (le cas échéant) (en millions).
  - **Real Time Demux** (Durée réelle de démultiplexage) – État de démultiplexage lorsque lancé au début de la lecture 2 à la suite de l'exécution des cycles de la lecture 1, de l'index 1 et de l'index 2. L'état affichera Complete (Terminé) même si les cycles de l'index ne sont pas effectués. Non applicable aux analyses en mode infonuagique.
  - **Real Time Alignment** (Durée réelle d'alignement) – État de l'alignement de la lecture 1 lorsque lancé au début de la lecture 2 à la suite de l'exécution des cycles de la lecture 1, de l'index 1 et de l'index 2. Non applicable aux analyses en mode infonuagique.

Le score Q30 et les indicateurs de rendement apparaissent après le cycle 26 (env. 6 heures après le début de l'analyse).
2. Pour surveiller les processus d'analyse, cliquez sur le menu du logiciel de commande, puis sur **Process Management** (Gestion du processus).
3. Pour annuler une analyse, sélectionner **End Run** (Terminer l'analyse). Pour obtenir plus d'informations sur l'annulation d'une analyse, consulter la section [Annuler une analyse, page 87](#).
4. Déchargez les consommables de l'instrument. Retirez la cartouche de l'instrument dans un délai de trois jours.

## Décharger les consommables

1. Lorsque le séquençage est terminé, sélectionnez **Eject Cartridge** (Éjecter la cartouche). Le logiciel éjecte la cartouche utilisée de l'instrument.
2. Retirez la cartouche du plateau.
3. Sortez la Flow Cell de la cartouche.
4. Mettez au rebut la Flow Cell, qui contient des composants électroniques, conformément aux normes applicables dans votre région.



5. [Facultatif] Retirez le connecteur de vidange sous le logo Illumina sur le côté de la cartouche dans un endroit approprié (p. ex., un lavabo ou un réceptacle pour déchets liquides dangereux) avec le connecteur à l'horizontale et vers le bas, loin de votre visage. Évacuez les réactifs usagés conformément aux normes applicables dans votre région. Le temps d'évacuation dépend de la taille de la cartouche et si l'élimination automatique des réactifs est activée.

**!** | **Ce groupe de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire, adapté à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur.** Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

6. Mettez au rebut la cartouche de réactifs.  
Les fluides ayant été retirés avec la cartouche, le nettoyage après analyse n'est pas nécessaire.
7. Sélectionnez **Close Door** (Fermer la porte) pour recharger le plateau et retourner à l'écran d'accueil.  
Le logiciel recharge automatiquement le plateau, et les capteurs confirment le retrait de la cartouche.

## Nettoyage du plateau de cartouches

Le nettoyage du plateau de cartouches est nécessaire seulement si les réactifs ont fui sur le plateau de cartouches.

1. Retirez la cartouche de l'instrument.
2. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc et tout autre équipement de protection.
3. Vaporisez une solution d'eau de Javel à 10 % sur un chiffon.
4. Essuyez le plateau de cartouches à l'aide du chiffon, puis retirez immédiatement la solution d'eau de javel avec une lingette très résistante.  
L'eau de Javel risque de déteindre le plateau de cartouches si elle n'est pas nettoyée immédiatement.
5. Pulvérisez une solution d'éthanol à 70 % sur le plateau de cartouches et nettoyez immédiatement à l'aide d'une lingette très résistante.
6. Remettez le plateau de cartouches en position de chargement.

# Sortie de séquençage

Cette section décrit le logiciel d'analyse en temps réel qui effectue les appels de bases, assigne les scores de qualité et les données de sortie. Apprenez-en davantage sur les différents types de fichiers de sortie et où les localiser après une analyse.

## Présentation de Real-Time Analysis

Les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 exploitent RTA3, une version du logiciel Real-Time Analysis, à partir de son propre moteur de calcul (CE ou Compute Engine). RTA3 extrait les intensités des images reçues de la caméra, effectue les définitions des bases, associe un score de qualité à chaque définition des bases, effectue l'alignement à PhiX et élabore les rapports dans les fichiers InterOp à des fins de consultation dans le logiciel de contrôle de l'instrument.

Pour optimiser le délai de traitement, RTA3 conserve les données en mémoire. Si RTA3 est arrêté, le traitement ne reprend pas et les données de l'analyse en cours de traitement dans la mémoire sont perdues.

### Entrées dans RTA3

RTA3 nécessite les images des plaques contenues dans la mémoire locale du système aux fins du traitement. RTA3 reçoit l'information sur l'analyse et des commandes du logiciel de commande.

### Sorties RTA3

Les images de chaque canal de couleur passent de la mémoire à RTA3 sous forme de plaques. À l'aide de ces images, RTA3 produit un ensemble de fichiers de filtrage et de fichiers de définition des bases dont la qualité est notée. Toutes les autres données de sortie sont des données complémentaires des principaux fichiers de sortie.

Type de fichiers	Description
Fichiers de définition des bases	Chaque plaque analysée est incluse dans un fichier de définition des bases concaténé (*.cbcl). Les plaques de la même ligne et de la même surface sont rassemblées dans un fichier *.cbcl pour chacune des lignes et des surfaces.
Fichiers de filtrage	Chaque plaque produit un fichier de filtrage (*.filter) qui précise si un amplifiat a franchi les filtres.

Type de fichiers	Description
Fichiers d'emplacement des amplifiats	Les fichiers d'emplacement des amplifiats (*.locs) contiennent les coordonnées X et Y de chaque amplifiat dans une plaque. Un fichier d'emplacement des amplifiats est généré pour chaque analyse.

Les fichiers de sortie sont utilisés pour une analyse en aval dans la plateforme DRAGEN et BaseSpace Sequence Hub.

## Gestion des erreurs

RTA3 crée des fichiers journaux et les enregistre dans le dossier Logs (journaux). Les erreurs sont enregistrées dans un format de fichier texte (\*.log).

Les fichiers journaux suivants sont transférés vers leur emplacement final de sortie à la fin du traitement :

`info_00000.log` résume les activités d'analyse importantes.

`error_00000.log` répertorie les erreurs survenues au cours d'une analyse.

`warning_00000.log` répertorie les avertissements reçus au cours d'une analyse.

## Plaques de la Flow Cell

Les plaques sont de petites zones d'imagerie sur la Flow Cell. La caméra capte une image par plaque.

La Flow Cell P2 de NextSeq 1000/2000 contient 132 plaques. La Flow Cell P3 de NextSeq 1000/2000 contient 264 plaques.

Tableau 5 Plaques de la Flow Cell

Composant de la Flow Cell	Flow Cell P2 pour système NextSeq 1000/2000	Flow Cell P3 pour système NextSeq 1000/2000	Description
Lignes	1	2	Les lignes sont des canaux optiquement distincts, mais pas fluidiquement séparés.
Surfaces	2	2	Les Flow Cell P2 et P3 sont imagées sur deux surfaces : les surfaces inférieure et supérieure. La surface supérieure de la plaque est imagée en premier.

Composant de la Flow Cell	Flow Cell P2 pour système NextSeq 1000/2000	Flow Cell P3 pour système NextSeq 1000/2000	Description
Témoins par ligne	6	6	Un témoin est une colonne sur une ligne de Flow Cell
Plaques par témoin	11	11	Une plaque est une partie d'un témoin qui montre une zone imagée sur la Flow Cell.
Nombre total de plaques générées	132	264	Lignes × surfaces × témoins × plaques par témoins = nombre total de plaques.

### Numérotation des plaques

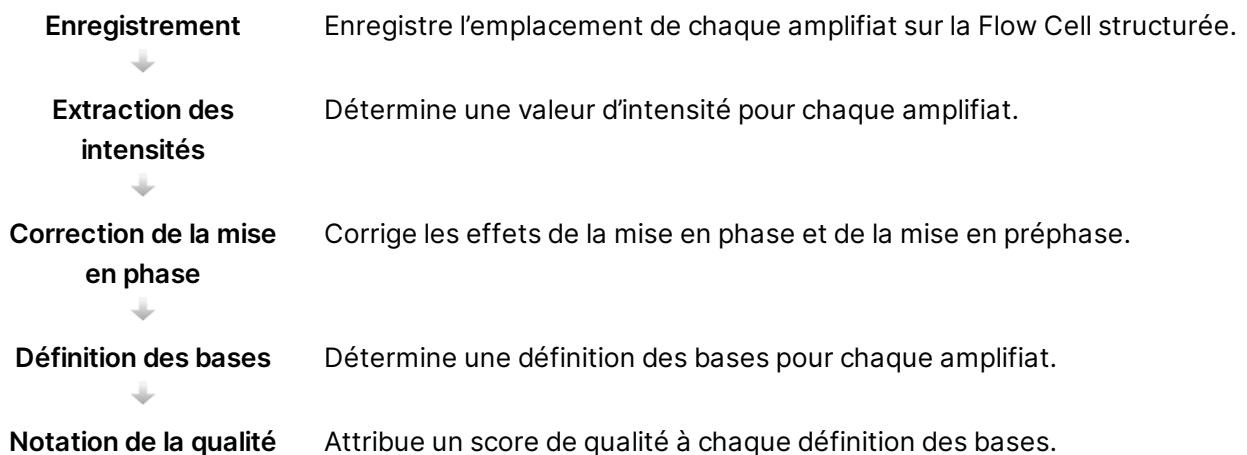
Le nom de la plaque est un nombre à quatre chiffres qui représente la position de la plaque sur la Flow Cell. Par exemple, le numéro de plaque « 1205 » indique la surface du haut, le témoin 2 et la plaque 05.

Le premier chiffre représente la surface : 1 pour le haut et 2 pour le bas.

Le deuxième chiffre représente le témoin : 1, 2, 3, 4, 5 ou 6.

Les deux derniers chiffres représentent le numéro de plaque. Pour les numéros de témoin allant de 1 à 4, la numérotation des plaques commence à 01 à l'extrémité de sortie de la Flow Cell et va jusqu'à 11 à l'extrémité d'entrée. Pour les numéros de témoin allant de 5 à 6, la numérotation des plaques commence à 01 à l'extrémité d'entrée de la Flow Cell et va jusqu'à 11 à l'extrémité de sortie.

## Flux de travail de Real-Time Analysis



## Enregistrement

La fonction d'enregistrement aligne une image au réseau carré tourné de nanopuits sur la Flow Cell structurée. En raison de l'arrangement ordonné des nanopuits, les coordonnées X et Y sont prédéterminées pour chaque amplifiat dans une plaque. Les positions des amplifiats de chaque analyse s'inscrivent dans un même fichier d'emplacement des amplifiats (s.locs).

S'il y a échec d'enregistrement de l'image d'un cycle, quelle qu'elle soit, aucune définition des bases ne sera générée pour cette plaque dans ce cycle. Utilisez le logiciel Sequencing Analysis Viewer pour trouver les images n'ayant pas été enregistrées.

## Extraction des intensités

Après l'enregistrement, la fonction d'extraction des intensités calcule une valeur d'intensité pour chaque nanopuits dans une image donnée. Si l'enregistrement échoue, l'intensité de la plaque ne peut pas être extraite.

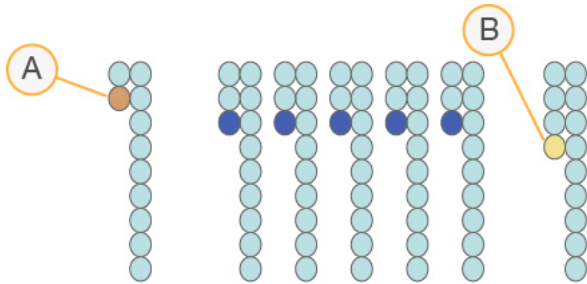
## Correction de la mise en phase

Lors de la réaction de séquençage, chaque brin d'ADN dans un amplifiat s'étend d'une base par cycle. La mise en phase et la mise en préphase ont lieu lorsqu'un brin est déphasé par rapport au cycle d'incorporation en cours.

La mise en phase se produit lorsqu'un brin a un retard d'une base.

La mise en préphase se produit lorsqu'un brin a une avance d'une base.

Figure 5 Mise en phase et en préphase



- A. Lecture avec une base présentant une mise en phase
- B. Lecture avec une base présentant une mise en préphase

RTA3 corrige les effets de la mise en phase et de la mise en préphase, ce qui maximise la qualité des données à chaque cycle tout au long de l'analyse.

## Définition des bases

La définition des bases détermine une base (A, C, G ou T) pour chaque amplifiat d'une plaque donnée d'un cycle spécifique. Les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000 utilisent un séquençage à deux canaux, qui ne nécessite que deux images pour encoder les données de quatre bases d'ADN, une provenant du canal vert et une autre du canal bleu.

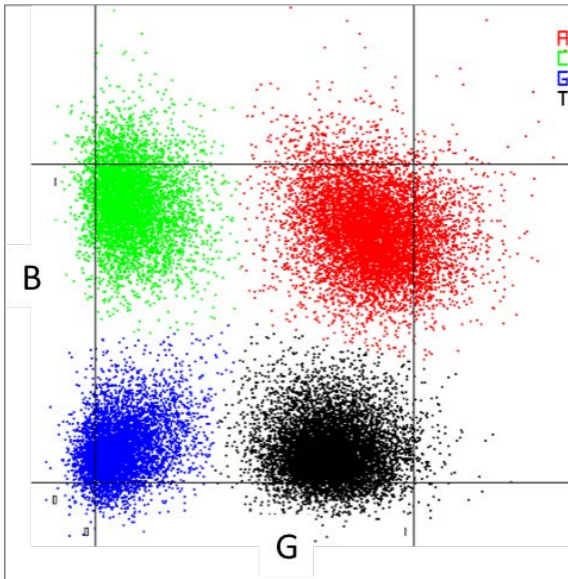
L'absence de définition est indiquée par la lettre N. Il n'y a aucune définition lorsqu'un amplifiat ne passe pas le filtre, que l'enregistrement échoue ou que l'amplifiat se trouve hors de l'image.

Les intensités de chaque amplifiat sont extraites de l'image verte et de l'image bleue, puis sont comparées l'une à l'autre, ce qui donne quatre populations distinctes. Chaque population correspond à une base. Le processus de définition des bases détermine à quelle population appartient chaque amplifiat.

Tableau 6 Définition des bases dans le séquençage à deux canaux

Base	Canal vert	Canal bleu	Résultat
A	1 (présent)	1 (présent)	Amplifiats montrant une intensité tant dans le canal vert que dans le canal bleu.
C	0 (absent)	1 (présent)	Amplifiats montrant une intensité seulement dans le canal bleu.
G	0 (absent)	0 (absent)	Amplifiats ne montrant d'intensité dans aucun emplacement d'amplifiat connu.
T	1 (présent)	0 (absent)	Amplifiats montrant une intensité seulement dans le canal vert.

Figure 6 Visualisation de l'intensité des amplifiats



**i** | La couleur de chaque amplifiat est en corrélation avec les diagrammes de %Base dans le logiciel SAV et les données d'analyse de BaseSpace Sequence Hub par cycle et ne sont pas faits pour être corrélés avec les canaux bleu et vert.

### Amplifiats passant le filtre

Au cours de l'analyse, RTA3 filtre les données brutes pour supprimer les lectures non conformes au seuil de qualité des données. Les amplifiats qui se chevauchent et ceux de mauvaise qualité sont supprimés.

Dans le cas d'une analyse sur deux canaux, RTA3 utilise un système basé sur une population pour déterminer la pureté (mesure de la pureté de l'intensité) d'une définition des bases. Les amplifiats franchissent le filtre (PF) lorsqu'une définition des bases ou moins, au cours des 25 premiers cycles, a une pureté inférieure à un seuil déterminé. Lorsque compris, l'alignement PhiX est réalisé au cycle 26 dans un sous-ensemble de plaques pour les amplifiats ayant passé le filtre. Les amplifiats qui ne passent pas le filtre ne servent pas à la définition des bases et ne sont pas alignés.

### Scores de qualité

Un score de qualité, ou Q-score, est une prévision de la probabilité d'une définition des bases erronée. Un score de qualité plus élevé suppose qu'une définition des bases est de plus haute qualité et plus susceptible d'être correcte. Une fois le score de qualité établi, les résultats sont enregistrés dans des fichiers de définition des bases (\*.cbcl).

Le score de qualité communique de manière concise les probabilités de petites erreurs. Les scores de qualités sont représentés sous la forme  $Q(X)$ , où X est le score. Le tableau suivant montre la relation entre le score de qualité et la probabilité d'une erreur.

Score de qualité Q(X)	probabilité d'une erreur
Q40	0,0001 (1 sur 10 000)
Q30	0,001 (1 sur 1 000)
Q20	0,01 (1 sur 100)
Q10	0,1 (1 sur 10)

## Scores de qualité et rapports

La notation de la qualité calcule un ensemble d'indicateurs prévisionnels pour chaque définition des bases, puis utilise ces valeurs pour rechercher un score de qualité dans un tableau de qualité. Les tableaux de qualité servent à fournir des indicateurs de qualité extrêmement précis pour des analyses générées par une configuration spécifique de plateforme de séquençage et de version de chimie.



La notation de la qualité s'appuie sur une version modifiée de l'algorithme Phred.

Afin de générer le tableau de qualité pour les systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000, trois groupes de définitions des bases ont été déterminés, selon la génération d'amplifiats de ces fonctions prédictives spécifiques. À la suite du regroupement de ces définitions de bases, le taux d'erreur moyen est calculé empiriquement pour chacun des trois groupes et les scores Q correspondants sont enregistrés dans le tableau de qualité avec les fonctions prédictives corrélant avec ce groupe. En tant que tels, seuls trois scores de qualité sont possibles avec RTA3 et ces scores de qualité représentent le taux d'erreurs moyen du groupe (*Simplification du score de la qualité avec RTA3, page 65*). Pour résumer, ces résultats sont simplifiés, mais très justes en tant que score de qualité. Les trois groupes dans le tableau de qualité correspondent à des définitions de bases allant de la qualité marginale (< Q15), moyenne (env. Q20) et élevée (> Q30) et sont assignés à des scores précis de 12, 23 et 37 respectivement. De plus, un score nul de 2 est assigné à tous les « no-call » (non défini). Ce modèle de rapport sur les scores de qualité réduit les besoins d'espace de stockage et de bande passante sans nuire à la précision ni à la performance.



Figure 7 Simplification du score de la qualité avec RTA3



## Fichiers de sortie de séquençage

Type de fichiers	Description, emplacement et nom des fichiers
Fichiers de définitions des bases concaténées	<p>Chaque amplifiat analysé est compris dans un fichier de définition des bases concaténées; ces fichiers sont rassemblés dans un fichier pour chaque cycle, chaque ligne et chaque surface. Le fichier rassemblé contient la définition des bases concaténées ainsi que le score de qualité codé associé à chaque amplifiat. Les fichiers de définition des bases concaténées sont utilisés par BaseSpace Sequence Hub ou bcl2fastq2.</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1</p> <p>L[ligne]_[surface].cbcl, par exemple L001_1.cbcl</p>
Fichiers d'emplacement des amplifiats	<p>Pour chaque Flow Cell, un fichier d'emplacement des amplifiats binaire comprend les coordonnées XY des amplifiats sur la plaque. Une disposition hexagonale qui concorde avec l'emplacement des nanopuits de la Flow Cell prédéfinit les coordonnées.</p> <p>Données/Intensités</p> <p>s_[ligne].locs</p>
Fichiers de filtrage	<p>Les fichiers de filtrage spécifient si les amplifiats ont franchi les filtres. Les fichiers de filtrage sont générés au cycle 26 et portent sur 25 cycles de données. Un fichier de filtrage est généré pour chaque plaque.</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001</p> <p>s_[ligne]_[plaque].filter</p>

Type de fichiers	Description, emplacement et nom des fichiers
Fichiers InterOp	Les fichiers binaires de rapport peuvent être consultés sur instrument avec le logiciel de commande de l'instrument ou hors instrument sur SAV ou BaseSpace Sequence Hub. Les fichiers InterOp sont mis à jour tout au long de l'analyse. Dossier <code>InterOp</code>
Fichier de renseignements sur l'analyse	Indique le nom de l'analyse, le nombre de cycles à chaque lecture, si la lecture est une lecture d'index et le nombre de témoins et de plaques sur la Flow Cell. Le fichier de renseignements sur l'analyse est créé au début de l'analyse. [Dossier <code>racine</code> ], <code>RunInfo.xml</code>

## Fichiers de sortie d'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN

La plateforme DRAGEN Bio-IT analyse vos résultats de séquençage sur instrument plus en profondeur en utilisant un des pipelines d'analyse suivants.

- Conversion de BCL
- Variants germinaux
- ARN
- Enrichissement
- ARN à cellule unique
- Amplicon d'ADN

Cette section fournit des informations sur chaque pipeline de la plateforme DRAGEN, y compris des informations sur le fichier de sortie. En plus de générer un fichier spécifique pour chaque pipeline, la plateforme DRAGEN fournit des indicateurs provenant de l'analyse dans un fichier `<nom_échantillon>.metrics.json` (`<noms_échantillon >.indicateurs.json`) et les rapports décrits dans [Pipeline de conversion BCL de la plateforme DRAGEN, page 72](#). Pour en savoir plus sur la plateforme DRAGEN, consultez le site d'aide [DRAGEN Bio-IT Platform](#) (Plateforme Bio-IT de DRAGEN).

Tous les pipelines de la plateforme DRAGEN prennent en charge la décompression des fichiers BCL d'entrée et la compression des fichiers BAM/CRAM de sortie.

Considérations pour les fichiers de sortie :

- Pour les pipelines de variants germinaux, d'enrichissement ou d'amplicons d'ADN exécutant des analyses sur instrument, les fichiers BAM ne seront pas téléversés dans BaseSpace Sequence Hub si vous avez sélectionné Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, surveillance de l'analyse et stockage).

## Pipeline d'enrichissement de la plateforme DRAGEN

Le pipeline d'enrichissement de la plateforme DRAGEN offre les fonctionnalités suivantes. Si vous utilisez DRAGEN 3.7 ou une version ultérieure, les modes germinale et somatique (tumeur seulement) sont offerts.

- Démultiplexage d'échantillons
- Carte et alignement, y compris le tri et le marquage des répétitions
- Appel des variants petits
- Définition de variants structurels

Afin d'exécuter une définition de variant, un fichier \*.bed doit être compris dans la feuille d'échantillons ou être spécifié dans l'installation de l'analyse de l'instrument sur BaseSpace Sequence Hub. La définition de variants structurels est uniquement générée pour les lectures appariées et le mode germinale.

Si vous utilisez la version 3.8 de l'enrichissement de la plateforme DRAGEN, vous pouvez importer un fichier de référence du bruit pour améliorer les performances en mode somatique. Consultez la section [Import Noise Baseline Files \(Importer des fichiers de référence du bruit\)](#), page 19.

Le pipeline génère les fichiers de sortie suivants.

Composant	Type	Nom du fichier de sortie
Mappage/alignement	BAM ou CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.bam, ou</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.cram</li> </ul>
Appel des variants petits	VCF et gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>
Définition de variants structurels	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.sv.vcf.gz</li> </ul>

\* Les fichiers gVCF de sortie sont disponibles seulement pour le mode germinale.

## Exigences relatives au pipeline de variants germinaux de la plateforme DRAGEN

Le pipeline de variants germinaux de DRAGEN offre les fonctionnalités suivantes :

- Démultiplexage d'échantillons
- Carte et alignement, y compris le tri et le marquage des répétitions
- Appel des variants petits
- Définition de variants structurels pour les lectures appariées
- Définition de variants du nombre de copies pour les génomes humains

- Expansions répétées pour les génomes humains
- Régions d'homozygoté pour les génomes humains
- [DRAGEN v3.8 ou ultérieure] Détection CYP2D6

La définition de variants structurels est uniquement générée pour les lectures appariées.

Le pipeline génère les fichiers de sortie suivants.

Composant	Type	Nom du fichier de sortie
Mappage/alignement	BAM ou CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.bam, ou</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.cram</li> </ul>
Appel des variants petits	VCF et gVCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>
Fonction de définition de variants structurels	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.sv.vcf.gz</li> </ul>
Variants du nombre de copies	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.cnv.vcf.gz</li> </ul>
Expansion de répétition	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.répétions.vcf.gz</li> </ul>
Régions d'homozygoté	CSV et BED	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.roh_indicateurs.csv</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.roh.bed</li> </ul>
Détection CYP2D6	TSV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.cyp2d6.tsv</li> </ul>

## Pipeline d'amplicons d'ADN de la plateforme DRAGEN

Le pipeline de la plateforme DRAGEN offre les fonctionnalités suivantes :

- Démultiplexage d'échantillons
- Carte et alignement, y compris le tri et le marquage des répétitions
- Appel des petits variants en mode germinale ou somatique

Afin d'effectuer un appel des variants, un fichier \*.bed doit être compris dans la feuille d'échantillons ou être spécifié dans l'installation de l'analyse de l'instrument sur BaseSpace Sequence Hub.

Le pipeline génère les fichiers de sortie suivants.

Composant	Type	Nom du fichier de sortie
Mappage/alignement	BAM ou CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.bam, ou</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.cram</li> </ul>
Appel des variants petits	VCF et gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>

\* Les fichiers gVCF de sortie sont disponibles seulement en mode germinale.

## Pipeline d'ARN de la plateforme DRAGEN

Le pipeline d'ARN de la plateforme DRAGEN offre les fonctionnalités suivantes :

- Démultiplexage d'échantillons
- Carte et alignement, y compris le tri et le marquage des répétitions
- Détection des fusions géniques
- Quantification du transcript
- **[DRAGEN v3.8 ou ultérieure]** Expression génique différentielle

Afin de générer un document de sortie, spécifiez un fichier GTF dans la feuille d'échantillons ou assurez-vous que le fichier `genes.gtf.gz` par défaut existe avec le génome de référence.

Le pipeline génère les fichiers de sortie suivants.

Composant	Type	Nom du fichier de sortie	Description
Mappage/alignement	BAM ou CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.bam, ou</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.cram</li> </ul>	Les résultats d'alignement satisfaisant les spécifications SAM.
Détection des fusions géniques	Texte brut	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.fusion_candidates.preliminary</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.fusion_candidates.final</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les candidats à la fusion avant que les filtres soient appliqués.</li> <li>• Les candidats à la fusion après que les filtres soient appliqués.</li> </ul>
Quantification du transcript	Texte brut	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nom_échantillon.quant.genes.sf</li> <li>• nom_échantillon.quant.sf</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les résultats de la quantification de la transcription au niveau du gène.</li> <li>• Tous les résultats de la quantification de la transcription.</li> </ul>

Composant	Type	Nom du fichier de sortie	Description
Expression différentielle	PNG	Consultez le tableau suivant des fichiers de sortie concernant l'expression différentielle.	Pour générer un fichier de sortie, une comparaison doit être définie sur la feuille d'échantillons.

Les fichiers suivants sont générés lorsque l'expression différentielle est activée.

Nom du fichier	Description
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	Contient des indicateurs de l'analyse de l'expression différentielle.
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	Décrit le nombre de lectures associées à chaque gène pour chaque échantillon dans les groupes témoin et de comparaison.
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	Une heat map de l'expression différentielle des gènes pour les échantillons des groupes témoin et de comparaison. La heat map ne montre que les gènes différentiellement exprimés avec une valeur P ajustée ( $< 0,05$ ). S'il y a plus de 30 gènes différentiellement exprimés, seuls les 30 premiers sont utilisés. Si DESeq1 ne parvient pas à converger ou s'il n'y a pas de gène différentiellement exprimé, aucun fichier n'est généré.

Nom du fichier	Description
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	Contient la variation des rapports de l'expression génique en tant que fonction de l'intensité moyenne du signal. Pour montrer les différences entre les mesures prises dans deux échantillons, le graphique transforme les données en échelles M (rapport logarithmique) et A (moyenne), puis trace les valeurs. Le graphique MA montre les variations log <sub>2</sub> attribuables à une variable donnée par rapport à la moyenne des comptes normalisés pour tous les échantillons. Si la valeur P ajustée est inférieure à 0,1, les points sont rouges. Les points qui sortent du champ sont représentés par des triangles ouverts. Les triangles pointant vers le haut représentent une variation logarithmique positive. Les triangles pointant vers le bas représentent une variation logarithmique négative.
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	Le graphique affiche les deux premières composantes principales qui expliquent le plus de variance.
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	Contient les résultats DESeq2, qui indiquent l'expression moyenne, le log <sub>2</sub> (variations), l'erreur type du log <sub>2</sub> , la valeur P, la valeur P ajustée et le statut d'expression de chaque gène.
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	Contient les comptes log-transformés régularisés calculés par DESeq2.

## Pipeline Single Cell RNA de la plateforme DRAGEN

La plateforme DRAGEN offre les fonctionnalités suivantes :

- Démultiplexage d'échantillons
- Carte et alignement, y compris le tri et le marquage des répétitions
- Classification des cellules et des gènes

Afin de générer un document de sortie, spécifiez un fichier GTF dans la feuille d'échantillons ou assurez-vous que le fichier `genes.gtf.gz` par défaut existe avec le génome de référence.

Le pipeline génère les fichiers de sortie suivants.

Composant	Type	Nom du fichier de sortie
Mappage/alignement	BAM ou CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.bam, ou</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.cram</li> </ul>
Classification des cellules/gènes	TSV, CSV et MTX	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.scRNA.barcodeSummary.tsv</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.scRNA.genes.tsv</li> <li>• &lt;nom_échantillon&gt;.scRNA.matrix.mtx</li> </ul>
Rapports d'analyse	HTML	<nom_échantillon>.dragen.scrna-report.*.html

### Pipeline de conversion BCL de la plateforme DRAGEN

Le pipeline de conversion BCL de la plateforme DRAGEN utilise des données BCL générées à partir de votre analyse de séquençage et des informations de la feuille d'échantillons pour extraire un fichier FASTQ pour chaque échantillon. Le nom du fichier FASTQ est <nom\_échantillon>.fastq.gz.

Le pipeline génère les rapports suivants.

Composant	Type	Nom du fichier de sortie
Démultiplexage	CSV	• Demultiplex_Stats.csv
Indicateurs d'adaptateurs	CSV	• Adapter_Metrics.csv
Commutation d'index	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv
Principaux codes à barres inconnus	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv

### Rapport sur les statistiques de démultiplexage

Le rapport sur les statistiques de démultiplexage contient des informations sur le nombre de lectures passant le filtre qui sont assignées à chaque échantillon de la feuille d'échantillons. Toutes les lectures qui ne sont pas clairement associées à un échantillon sont classées comme « undetermined » (indéterminé). Le rapport comprend également des informations sur le score de qualité de bases dans les lectures passant le filtre assignées à chaque échantillon.

L'information suivante est incluse.

Indicateur	Description
Ligne	La ligne de la Flow Cell dans laquelle l'échantillon a été séquençé.



Indicateur	Description
SampleID	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. Si une lecture ne correspond pas avec un échantillon, le champ inscrira « <code>undetermined</code> » (indéterminé).
Index	La concaténation de la lecture d'index 1 et la lecture d'index 2 de la feuille d'échantillons séparées par un trait d'union. Si une lecture ne correspond pas avec un échantillon, le champ inscrira « <code>undetermined</code> » (indéterminé).
Nbre de lectures	Le nombre de lectures PF démultiplexées pour l'échantillon dans la ligne spécifiée.
Nbre de lectures d'index parfaites	Nombre de lectures avec une correspondance parfaite à l'index combiné de séquençage spécifié dans la feuille d'échantillons.
Nombre de lectures d'index avec un seul mésappariement	Nombre de lectures avec un mésappariement à l'index combiné de séquençage spécifié dans la feuille d'échantillon.
Nbre de bases $\geq$ Q30 (PF)	Nombre de bases, y compris les adaptateurs, correspondant aux lectures atteignant un seuil de qualité Q30.
Score de qualité moyen (PF)	Le score de qualité moyen pour les lectures correspondant à l'échantillon dans la ligne spécifiée. Cette valeur comprend les bases des adaptateurs.

## Rapports d'indicateurs d'adaptateurs

Le fichier d'adaptateurs d'indicateurs contient le nombre d'adaptateurs et les bases d'échantillons associés à chaque lecture.

L'information suivante est incluse.

Indicateur	Description
Ligne	La ligne de la Flow Cell dans laquelle l'échantillon a été séquençé.
Sample_ID	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. Si une lecture ne correspond pas avec un échantillon, le champ inscrira « <code>undetermined</code> » (indéterminé).
index	La séquence d'index2 provenant de la feuille d'échantillons. Ce champ est vide si l'index n'était pas spécifié dans la feuille d'échantillons ou si la valeur de l'identifiant de l'indicateur est <code>undetermined</code> (indéterminé).

Indicateur	Description
index2	La séquence d'index2 provenant de la feuille d'échantillons. Ce champ est vide si l'index2 n'était pas spécifié dans la feuille d'échantillons ou si la valeur de l'identifiant de l'indicateur est <code>undetermined</code> (indéterminé).
R1_AdapterBases	Nombre de bases correspondant à AdapterRead1 dans la feuille d'échantillons.
R1_SampleBases	Nombre de lectures retranchées ou de bases masquées de la Lecture 1 pour la ligne et l'échantillon correspondants.
R2_AdapterBases	Nombre de bases correspondant à AdapterRead2 dans la feuille d'échantillons.
R2_SampleBases	Nombre de lectures retranchées ou de bases masquées de la Lecture 2 pour la ligne et l'échantillon correspondants.
Nbre de lectures	Le nombre de lectures pour l'échantillon dans la ligne spécifiée.

## Rapport sur le nombre de commutations d'index

Le rapport sur le nombre de commutations d'index contient le nombre de lectures pour chaque lecture pour chaque index prévu ou commuté pour une analyse à double index. Le rapport ne contient que les index doubles uniques par ligne dans lesquels aucune collision de codes à barres n'a été détectée dans les index. Pour générer des indicateurs de commutations d'index pour une ligne, chaque paire d'entrées dans chaque index doit avoir une distance de Hamming d'au moins  $2N + 1$ , où N représente la tolérance de mésappariement des codes à barres précisée pour l'index.

L'information suivante est incluse.

Pour les analyses sans index, les analyses à un seul index ou les lignes qui ne contiennent pas d'index doubles uniques, le fichier ne contient que l'en-tête.

Indicateur	Description
Ligne	La ligne de la Flow Cell dans laquelle l'échantillon a été séquencé.
Nbre de lectures	Le nombre de lectures pour l'échantillon dans la ligne spécifiée.
SampleID	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. Si une lecture ne correspond pas avec un échantillon, le champ inscrira « <code>undetermined</code> » (indéterminé).

Indicateur	Description
index	La séquence d'index2 provenant de la feuille d'échantillons. Ce champ sera vide si une lecture est à paire de bases unique ou si la valeur de l'identifiant de l'échantillon est <code>undetermined</code> (indéterminé).
index2	La séquence d'index2 provenant de la feuille d'échantillons. Ce champ sera vide si une lecture est à paire de bases unique ou si la valeur de l'identifiant de l'échantillon est <code>undetermined</code> (indéterminé).

## Rapport sur les principaux codes à barres inconnus

Le rapport sur les principaux codes à barres inconnus contient les 100 index ou paires d'index par ligne qui ne sont pas identifiés dans la feuille d'échantillons selon le nombre de mésappariements permis. S'il y a des valeurs multiples d'index placés comme le 100e dénombrement le plus élevé, toutes les valeurs d'index avec le même dénombrement seront présentées comme la 100e entrée.

L'information suivante est incluse :

Indicateur	Description
Ligne	La ligne de la Flow Cell dans laquelle l'échantillon a été séquencé.
index	La séquence pour chaque index inconnu dans la lecture d'index 1. Ce champ est vide si aucun index inconnu n'est trouvé.
index2	La séquence pour chaque index inconnu dans la lecture d'index 2. Le champ est vide si l'analyse est à lecture unique ou si aucun index inconnu n'est trouvé.
Nbre de lectures	Le nombre de lectures pour l'échantillon dans la ligne spécifiée.

## Rapports de CQ DRAGEN d'Illumina

DRAGEN FastQC génère les représentations graphiques de CQ par défaut pour tous les pipelines. L'ensemble des résultats de CQ sont stockés dans le dossier `AggregatedFastqcMetrics` et les résultats par échantillon sont stockés dans le dossier `<nom_d'échantillon>`.

Aucun rapport CQ n'est généré si le nombre d'échantillons est supérieur à 512.

Les représentations graphiques de CQ suivantes sont fournies.

Représentation graphique de CQ	Description
<code>adapter_content</code>	Pourcentage des séquences pour chaque paire de bases.


Représentation graphique de CQ	Description
positional_mean_quality	Score de qualité de base moyen de l'échelle Phred pour chaque position de lecture.
gc_content	Pourcentage de la teneur en GC pour chaque lecture de séquençage.
positional_quality.read_1	Valeur de qualité moyenne de l'échelle Phred des bases avec un nucléotide particulier et à un emplacement donné dans Read 1 (Lecture 1).
gc_quality	
positional_quality.read_2	Valeur de qualité moyenne de l'échelle Phred des bases avec un nucléotide particulier et à un emplacement donné dans Read 2 (Lecture 2).
n_content	
read_length	La longueur de séquence pour chaque lecture.
positional_base_content.read_1	Le nombre de bases pour chaque nucléotide particulier à des emplacements donnés dans Read 1 (Lecture 1).
read_quality	Score de qualité moyen de l'échelle Phred pour chaque lecture de séquençage.
positional_base_content.read_2	Le nombre de bases pour chaque nucléotide particulier à des emplacements donnés dans Read 2 (Lecture 2).

## Structure du dossier de sortie d'analyse secondaire de la plateforme DRAGEN


Par défaut, la plateforme DRAGEN génère des fichiers de sortie dans le dossier de sortie sélectionné dans le tableau des paramètres. Pour chaque flux de travail, la plateforme DRAGEN génère un rapport sommaire dans le fichier `report.html`.


### **Data** (Données)

 `report.html`

 `report_files`

### **AggregateFastQCPlots**

 `*.png`

 `*stderr_.txt`

 `*stdout_.txt`

- 📄 dragen\_prev\_48\_hrs.log
- 📄 dlm\_prev\_48\_hrs.log
- 📄 SampleSheet.csv
- 📄 Fichiers de résultats d'analyse (p. ex., fichiers BED, GTF)
- 📁 **sample\_name**
  - 📁 **enrich\_caller , germline\_seq, dna\_amplicon\_seq, rna\_seq, or scrna\_seq**
    - 📁 **sample\_name**
      - 📄 \*.png
      - 📄 dragen\_\*.log
      - 📄 nom\_échantillon.\*.metrics.csv
      - 📄 [ADN] nom\_échantillon.\*.vcf.gz
      - 📄 [ADN] nom\_échantillon.\*.gvcf.gz Pas disponible pour le pipeline Amplicon (somatique) de la plateforme DRAGEN Bio-IT.
      - 📄 nom\_échantillon.\*.bam ou nom\_échantillon.\*.cram
      - 📄 Logs
      - 📄 [ARN] nom\_échantillon.fusion\_candidats.filtre\_info
      - 📄 [ARN] nom\_échantillon.fusion\_candidats.final
      - 📄 [ARN] nom\_échantillon.quant.genes.sf
      - 📄 [ARN] nom\_échantillon.quant.sf
      - 📄 nom\_échantillon.metrics.json
      - 📄 [scRNA] sample\_dragen-scrna-report.\*.html
      - 📄 [scRNA] sample\_name.scrna.barcodeSummary.tsv
      - 📄 [Germinal] sample\_name.roh\_metrics.csv
      - 📄 [Germinal] sample\_name.roh.bed
      - 📄 [Germinal] sample\_name.cyp2d6.tsv
      - 📄 sample\_name.fastqc\_metrics.csv
      - 📄 sample\_name.trimmer\_metrics.csv
    - 📁 [ARN] **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

#### Journaux

- \*.txt
- \*.csv

**fastq** Disponible seulement si KeepFastq est réglé à True (Vrai).

- \*.fastq.gz

**ora\_fastq** Disponible seulement si FastqCompressionFormat est réglé à 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


#### Rapports

- Demultiplex\_Stats.csv
- RunInfo.xml
- Trim\_Metrics.csv
- fastq\_list.csv
- SampleSheet.csv
- Index\_Hopping\_Counts.csv


 Top\_Unknown\_Barcodes.csv

 **Read1InstrumentAnalyticsMetrics** Pour les lectures appariées seulement.


 **0001**


 dataset.json

 **0002**

 dataset.json


 Adapter\_Metrics.csv

 Demultiplex\_Stats.csv

 Index\_Hopping\_Counts.csv

 **Read1Metrics** Pour les lectures appariées seulement.

 Adapter\_Metrics.csv


 Index\_Hopping\_Counts.csv

# Maintenance

La section décrit les procédures nécessaires pour maintenir un système en bon état. Apprenez comment installer les mises à jour du système, changer le filtre à air et effectuer d'autres procédures de maintenance. Maintenir le logiciel de contrôle à jour garantit que votre système dispose des dernières corrections de bogues et fonctionnalités pour des performances optimales.

## Libérer de l'espace sur le disque dur

Une analyse de séquençage nécessite un espace d'environ 200 Go sur le disque dur local. Une notification d'avertissement s'affichera lorsque l'espace restant sera faible. Suivez les étapes ci-dessous pour libérer de l'espace en supprimant les analyses terminées et les génomes de référence installés à partir d'un dossier d'analyse temporaire.

 Ne supprimez que les analyses utilisant le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 plutôt que celles effectuées manuellement par l'entremise du système d'exploitation. Effacer les analyses manuellement peut affecter négativement le logiciel de commande.

1. Dans le menu du logiciel de commande, cliquez sur **Disk Management** (Gestion du disque).  
La liste des analyses et des génomes de référence sauvegardés sur le disque dur local apparaît à l'écran Disk Management (Gestion du disque).
2. Pour supprimer une analyse, cliquez sur **Delete Run** (Supprimer l'analyse).  
Lorsque vous supprimez une analyse, le dossier d'analyse local s'efface aussi. Le dossier de sortie, qui est une copie du dossier d'analyse, est conservé.
3. Dans la boîte de dialogue, sélectionnez **Yes, Delete Run** (Oui, supprimer l'analyse) pour confirmer la suppression de l'analyse.
4. Répétez les étapes 2 et 3 pour chaque analyse à supprimer.
5. Pour supprimer un génome, cliquez sur **Delete Genome** (Supprimer un génome).
6. Dans la boîte de dialogue, sélectionnez **Yes, Delete Genome** (Oui, supprimer le génome).
7. Répétez les étapes 5 et 6 pour chaque génome à supprimer.
8. Lorsque vous avez terminé, fermez la fenêtre Disk Management (Gestion du disque) pour retourner à l'écran d'accueil.



## Mises à jour logicielles

La mise à jour du logiciel vous assure que le système comporte les fonctionnalités et les corrections les plus récentes. Les mises à jour sont regroupées dans la suite logicielle du système, qui comprend les logiciels suivants :

- Logiciel de commande NextSeq 1000/2000
- Formules du système NextSeq 1000/2000
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

**i** | Les modules de la plateforme DRAGEN ne sont pas compris dans la suite du système. Vous devez les installer séparément, au besoin. Accédez aux modules de la plateforme DRAGEN dans les pages d'assistance.

Le système est configuré de façon à ce que les mises à jour logicielles soient téléchargées automatiquement ou manuellement :

- **Mises à jour automatiques** – Les mises à jour sont automatiquement téléchargées de BaseSpace Sequence Hub pour que vous puissiez les installer. Cette option nécessite une connexion Internet, mais pas un compte BaseSpace Sequence Hub.
- **Mises à jour manuelles** – Les mises à jour sont téléchargées manuellement sur le Web, enregistrées localement ou sur un lecteur portatif, et installées à l'emplacement de l'enregistrement. Cette option ne nécessite pas de connexion Internet pour l'instrument.

### Installer automatiquement une mise à jour logicielle

1. Assurez-vous qu'aucune analyse de séquençage ou analyse secondaire sur instrument n'est en cours.
2. Connexion à ilmnadmin.
3. Sélectionnez **Software Update** (Mise à jour logicielle) dans le menu.  
Les systèmes configurés pour les mises à jour automatiques affichent une alerte lorsqu'une mise à jour logicielle est disponible.
4. Pour vérifier les mises à jour, sélectionnez **Check Online for Software Update** (Vérifier pour des mises à jour du logiciel en ligne).
5. Sélectionnez **Update Now** (Mettre à jour maintenant) pour télécharger la nouvelle version du logiciel.  
Lorsque le téléchargement est terminé, le logiciel de commande se ferme et l'assistant d'installation s'affiche.  
Le logiciel de commande redémarre automatiquement. Toutes les mises à jour du micrologiciel surviennent automatiquement après le redémarrage.

**i** | Il est impossible d'annuler une mise à jour après le début de son installation. Vous pouvez annuler une mise à jour seulement pendant le téléchargement.

## Installer manuellement une mise à jour logicielle

1. Connexion à ilmnadmin.
2. Assurez-vous qu'aucune analyse de séquençage ou analyse secondaire sur instrument n'est en cours.
3. Lorsqu'une mise à jour logicielle est disponible, téléchargez le programme d'installation de la suite logicielle (\*.tar.gz) à partir de la [page d'assistance des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000](#). Enregistrez le programme d'installation sur un lecteur local ou portatif.
4. Si vous enregistrez le programme d'installation sur une clé, insérez-la dans un port USB 3.0, que l'on retrouve sur le côté et à l'arrière de l'instrument.
5. Dans le logiciel de commande, sélectionnez **Software Update** (Mise à jour logicielle) dans le menu.
6. Sélectionnez **Choose...** (Choisir...) pour naviguer jusqu'au programme d'installation.
7. Sélectionnez **Update Now** (Mettre à jour maintenant) pour démarrer l'installation.  
Durant l'installation, le logiciel de commande affichera un indicateur pour signaler qu'il est occupé. Le logiciel de commande redémarre automatiquement. Toutes les mises à jour du micrologiciel surviennent automatiquement après le redémarrage.

**i** | Il est impossible d'annuler une mise à jour après le début de son installation. Vous pouvez annuler une mise à jour seulement pendant le téléchargement.

## Mise à jour de licences et de flux de travail de la plateforme DRAGEN

Seuls les administrateurs de système peuvent installer les flux de travail de la plateforme DRAGEN et renouveler la licence de la plateforme DRAGEN.

### Renouveler la licence de la plateforme DRAGEN en ligne

Si NextSeq 1000/2000 est connecté à Internet, mettez à jour votre licence de la plateforme DRAGEN Bio-IT comme suit.

1. Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina afin d'obtenir une nouvelle clé de licence.
2. Attendez 24 heures pour que la licence se mette à jour automatiquement ou mettez à jour la licence immédiatement comme suit.
  - a. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **DRAGEN**.
  - b. Sélectionnez **Check Online** (Vérifier en ligne) afin de vérifier si une nouvelle clé de licence pour DRAGEN est disponible.

- c. Si une clé est disponible, sélectionnez **Update** (Mettre à jour).

## Renouveler la licence de la plateforme DRAGEN hors ligne

Si NextSeq 1000/2000 n'est pas connecté à Internet, mettez à jour votre licence de la plateforme DRAGEN Bio-IT comme suit.

1. Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina afin d'obtenir une nouvelle clé de licence. Enregistrez le fichier `license.zip` sur un lecteur local ou portatif.
2. Si vous enregistrez le fichier \*.zip sur un lecteur portatif, insérez-le dans un port USB 3.0, que l'on retrouve sur le côté et à l'arrière de l'instrument. Si nécessaire, déplacez doucement l'instrument pour accéder à l'arrière.
3. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **DRAGEN**.
4. Cliquez sur **Choose** (Choisir) afin de naviguer dans le fichier \*.zip, puis cliquez sur **Open** (Ouvrir).

## Installer les flux de travail de la plateforme DRAGEN en ligne

Si NextSeq 1000/2000 est connecté à Internet, vous pouvez installer les flux de travail de la plateforme DRAGEN directement dans le logiciel de commande NextSeq 1000/2000. L'installation des flux de travail de la plateforme DRAGEN est possible seulement avec le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3.

1. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **Process Management** (Gestion du processus).
2. Assurez-vous qu'aucune analyse de séquençage ou analyse secondaire sur instrument n'est en cours.
3. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **DRAGEN**.  
Sous la rubrique Version, la section Flux de travail disponibles répertorie les flux de travail actuellement installés sur le système.
4. Pour installer les flux de travail de la plateforme DRAGEN dans le logiciel de commande NextSeq 1000/2000, sélectionnez **Check Online** (Vérifier en ligne).  
Toutes les versions et tous les flux de travail de la plateforme DRAGEN ne sont pas compatibles avec l'installation en ligne. Utilisez l'installation hors ligne pour des flux de travail supplémentaires.
5. Cochez la case des flux de travail que vous souhaitez installer. Assurez-vous d'installer d'abord la dernière version de BCL Convert, si cela n'a pas déjà été fait.  
Vous pouvez consulter des informations sur la dernière version d'un flux de travail dans les notes de mise à jour.
6. Sélectionnez **Install** (Installer) pour démarrer l'installation.
7. Saisissez l'admin pour le mot de passe du système puis sélectionnez **Authenticate** (Authentifier).

## Installer les flux de travail de la plateforme DRAGEN hors ligne

1. Lorsqu'une mise à jour de flux de travail est disponible, téléchargez le programme d'installation (\*.tar.gz) à partir de la [page d'assistance de la plateforme DRAGEN](#). Enregistrez le programme d'installation sur un lecteur local ou portatif.
2. Si vous enregistrez le programme d'installation sur une clé, insérez-la dans un port USB 3.0, que l'on retrouve sur le côté et à l'arrière de l'instrument. Si nécessaire, déplacez doucement l'instrument pour accéder à l'arrière.
3. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **Process Management** (Gestion du processus).
4. Assurez-vous qu'aucune analyse de séquençage ou analyse secondaire sur instrument n'est en cours.
5. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **DRAGEN**.
6. Sous Version, sélectionnez **Browse for New Version** (Chercher pour une nouvelle version) afin de naviguer vers le programme d'installation.
7. Sélectionnez **Install** (Installer) pour démarrer l'installation.
8. Saisissez l'admin pour le mot de passe du système puis sélectionnez **Authenticate** (Authentifier).

## Remplacer le filtre à air

Suivez les directives ci-dessous pour remplacer le filtre à air périmé tous les six mois.

Le filtre à air est une cartouche rectangulaire à usage unique qui recouvre le ventilateur situé sur le côté droit de l'instrument. Cela garantit un refroidissement adéquat et évite que des débris entrent dans le système. L'instrument est livré avec un filtre à air déjà installé et un filtre à air de rechange. Des pièces de rechange sont comprises avec une personne-ressource valide pour l'instrument ou ils peuvent être achetés séparément d'Illumina.

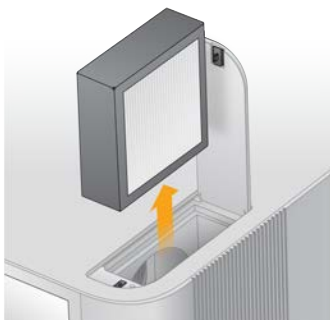
1. Au-dessus de l'instrument, appuyez sur le côté droit du panneau supérieur pour le dégager, comme le montre l'image suivante.



2. Ouvrez le panneau.



3. Appuyez pour libérer la cartouche du filtre à air, retirez-la du centre du panneau et jetez-la.



4. Insérez un nouveau filtre à air dans le réceptacle en appuyant pour vous assurer qu'il reste en place.
5. Fermez le panneau du dessus et appuyez pour le mettre à sa place.



6. Remettez l'instrument dans sa position initiale.

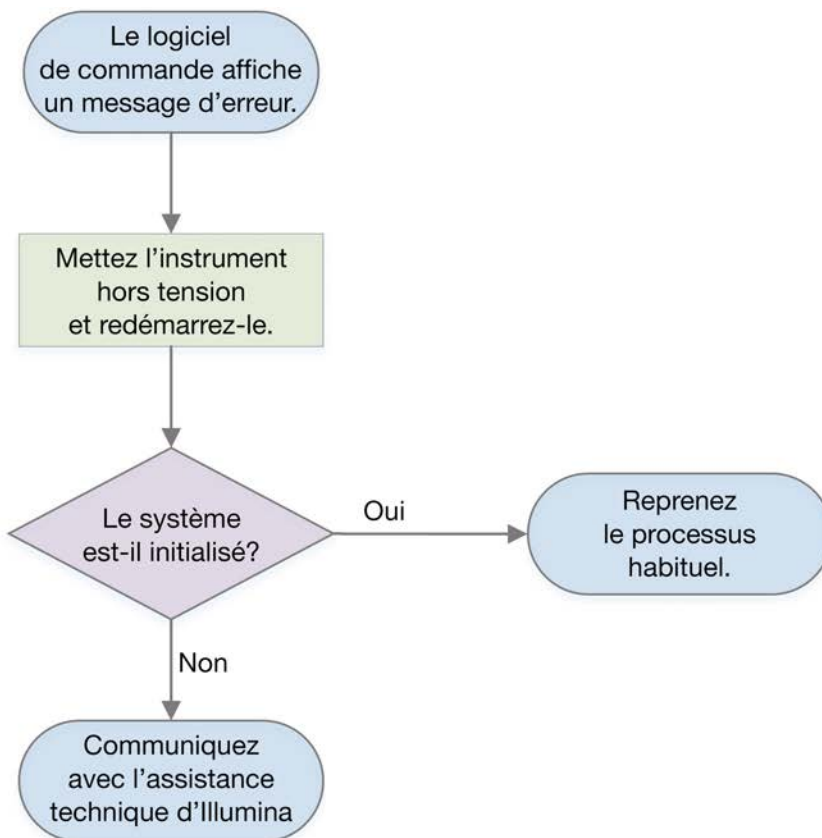
# Dépannage

Cette section fournit des instructions par étapes pour annuler une analyse, mettre l'instrument hors tension et le redémarrer ainsi que d'autres procédures de dépannage.

## Résolution des messages d'erreur


Cette annexe présente des directives détaillées pour les différentes étapes de dépannage. L'organigramme suivant donne un aperçu des messages d'erreur qui s'affichent au cours de l'initialisation, de la configuration de l'analyse, ou du séquençage, et qui ne sont pas résolus par une nouvelle tentative.

De nombreuses erreurs peuvent être résolues en éteignant puis en rallumant l'instrument : éteignez l'instrument, puis rallumez-le. Consultez la section [Mettre l'instrument hors tension et le redémarrer](#), page 88 pour en savoir plus sur le cycle d'alimentation.



## Retourner les consommables au stockage

Utilisez les instructions suivantes afin de stocker une cartouche décongelée et une Flow Cell dans le cas où une erreur d'instrument survient durant la vérification avant analyse de l'instrument avant la vérification de la fluidique.

1. Séparez la Flow Cell de la cartouche.
2. Retirez et jetez la librairie diluée du réservoir (jusqu'à environ 18 µl).
-  Préparez une dilution fraîche de la même librairie pour la prochaine analyse afin d'éviter une contamination croisée entre échantillons avec des résidus de librairie dans le réservoir.
3. Positionnez la cartouche dans un stockage à une température entre 2 et 8 °C en orientant l'étiquette face vers le haut pour permettre une libre circulation de l'air sur tous les côtés. Ne dépassez pas 72 heures. Si la cartouche a été décongelée dans le réfrigérateur durant 12 heures toute la nuit, ne dépassez pas 60 heures.
4. Retournez la Flow Cell dans son emballage en aluminium original avec l'absorbant d'humidité.
5. Fermez l'emballage et placez-le dans un stockage à une température entre 2 et 8 °C. Ne dépassez pas 72 heures.

## Annuler une analyse

- 1 Sélectionnez **End Run** (Terminer l'analyse).
- 2 Pour une élimination automatique de la cartouche de réactifs, cocher la case **Purge Reagent Cartridge** (Éliminer les réactifs de la cartouche).  
La sélection par défaut est configurée à partir des paramètres du logiciel de commande du NextSeq 1000/2000.
- 3 Sélectionnez **Yes, end the sequencing run** (Oui, terminer l'analyse de séquençage).  
L'annulation d'une analyse est définitive. Après la vérification de l'instrument dans le cadre des vérifications avant analyse, le logiciel ne peut pas reprendre l'analyse et les consommables ne peuvent pas être réutilisés.
- 4 Sélectionnez **Eject Cartridge** (Éjecter la cartouche) pour ouvrir la visière et éjecter le plateau.
- 5 Retirez la cartouche du plateau.
- 6 Stockez ou éliminez la cartouche en fonction du moment où l'annulation a eu lieu :

Situation	Instance
Vous avez annulé l'analyse avant ou pendant la vérification avant analyse de l'instrument et vous voulez réutiliser les consommables.	Consultez la section <a href="#">Retourner les consommables au stockage, page 87</a>
Toutes les autres situations.	Consultez la section <a href="#">Décharger les consommables, page 56</a>

- 7 Sélectionnez **Close Door** (Fermer la porte) pour recharger le plateau et retourner à l'écran d'accueil. Les capteurs confirment le retrait de la cartouche.

## Remise d'une analyse en liste d'attente

Si une erreur survient pour l'état de l'analyse secondaire dans la gestion du processus, vous pouvez remettre l'analyse en liste d'attente afin d'effectuer une nouvelle fois une analyse de la plateforme DRAGEN sur instrument sur les fichiers cBCL générés. Le dossier de l'analyse originale doit demeurer présent sur l'instrument pour la fonctionnalité de remise en liste d'attente. Utiliser cette fonctionnalité de remise en liste d'attente ne remet pas en liste d'attente les analyses dans BaseSpace Sequence Hub. Afin de remettre en liste d'attente dans BaseSpace Sequence Hub, consultez Fix Sample Sheet (Corriger la feuille d'échantillons) dans le Centre d'aide de BaseSpace Sequence Hub.

1. Mettez à jour votre feuille d'échantillons v2, puis sauvegardez la feuille d'échantillons sur un lecteur réseau portatif ou installé.
2. Si vous enregistrez la feuille d'échantillons sur une clé, insérez-la dans un port USB 3.0, que l'on retrouve sur le côté et à l'arrière de l'instrument. Si nécessaire, déplacez doucement l'instrument pour accéder à l'arrière.
3. Sélectionnez le menu du logiciel de commande, puis sélectionnez **Process Management** (Gestion du processus).
4. Assurez-vous qu'il n'y a pas d'analyse de séquençage ou d'analyses secondaires sur instrument en cours.
5. Cliquez sur **Requeue** (Remise en liste d'attente) à côté de l'analyse complétée que vous souhaitez remettre en liste d'attente.
6. Cliquez sur **Choose** (Choisir) afin de naviguer dans la feuille d'échantillons mise à jour, puis cliquez sur **Open** (Ouvrir).
7. Cliquez sur **Start Requeue** (Démarrer l'analyse remise en attente).

## Mettre l'instrument hors tension et le redémarrer

La mise hors tension et le redémarrage de l'instrument permettent d'éteindre et de redémarrer le système de façon sécuritaire afin de rétablir une connexion, d'aligner une spécification ou de résoudre un échec lors de l'initialisation. Les messages du logiciel indiquent si un redémarrage peut être utile lorsqu'il y a une erreur ou un avertissement.

1. À partir du menu du logiciel de commande, sélectionnez **Shut Down Instrument** (Arrêter l'instrument).
2. Si le système ne s'arrête pas, maintenez enfoncé le bouton situé sur le côté droit de l'instrument jusqu'à ce que le voyant s'éteigne.
3. Lorsque le bouton de mise en marche clignote, appuyez sur l'interrupteur situé sur le panneau arrière pour arrêter l'instrument (position **O**).



Le bouton de mise en marche peut clignoter encore même si l'appareil est éteint.

Figure 8 Emplacement de l'interrupteur



4. Attendez 30 secondes.
5. Appuyez sur l'interrupteur pour mettre l'instrument en marche (position I).
6. Lorsque le bouton de mise en marche clignote, attendez 30 secondes, puis appuyez dessus.

Figure 9 Emplacement du bouton de mise en marche



7. Attendez environ 5 minutes pour que le système d'exploitation se charge. Lorsque le système d'exploitation est lancé, connectez-vous au système.

Le logiciel de commande démarre et initialise le système. Attendez environ 5 minutes pour l'initialisation du système. L'écran d'accueil apparaît lorsque l'initialisation est terminée.

## Réaliser une vérification du système

Une vérification du système n'est pas nécessaire lors du fonctionnement normal ou de l'entretien de l'instrument. Toutefois, un représentant de l'assistance technique d'Illumina peut vous demander de réaliser une vérification automatique du système à des fins de dépannage.

Quatre vérifications du sous-système durent environ 58 minutes pour résoudre les problèmes survenus lors de la vérification avant analyse et d'autres erreurs. Les essais confirment le bon alignement et le bon fonctionnement des composants.

Les résultats du test sont ajoutés au dossier `system-check` situé dans `/usr/local/illumina/system-check`.

Veillez à décharger la cartouche avant d'exécuter les vérifications du système.

## Vérification du système

1. Dans le menu du logiciel de commande, sélectionnez **System Checks** (Vérifications du système).
2. Sélectionnez la case de chacune des vérifications du système suivantes que vous souhaitez effectuer.
  - **Network Connectivity** (Connectivité du réseau) : vérifie le statut et la performance et votre connexion réseau.
  - **Enclosure** (Boîtier) : vérifie la performance du système thermique et le dispositif de levage de la visière.
  - **Motion** : vérifie les limites de course et les performances de la platine Z et de la platine XY.
  - **Optics** (Composants optiques) : vérifie la performance du module d'imagerie.
3. Sélectionnez **Start** (Démarrer).

## Restaurer les paramètres initiaux

En restaurant les paramètres initiaux du système, vous retournerez à une version antérieure des logiciels ou ferez disparaître toute configuration indésirable. Cette fonction ne devrait être utilisée que par un représentant d'Illumina.

## Capturer une image installée

Capturez une image du système en vue de sauvegarder une installation de logiciel fonctionnelle. Cette image du système peut être restaurée plus tard. Il est recommandé que vous capturiez l'image du système immédiatement après avoir complété l'installation initiale et avoir changé votre mot de passe auprès des représentants d'Illumina.

1. Redémarrez Linux.
2. Lorsque l'on vous demande de choisir un système d'exploitation, sélectionnez **Capture Installed Image** (Installer l'image capturée).

Les options du système d'exploitation apparaissent brièvement avant la poursuite automatique de la restauration par le logiciel de commande NextSeq 1000/2000.



Puisqu'une seule image peut être conservée en mémoire, cette action remplacera l'image capturée précédemment.

3. Attendez une trentaine de minutes pour que le système capture l'image actuellement installée. La capture peut comprendre plusieurs redémarrages. Lorsque la capture est complétée, le système redémarre avec l'image actuellement installée stockée en mémoire.

## Restauration d'une image capturée

Restaurez le système à une image préalablement capturée afin de récupérer une configuration indésirable.

1. Redémarrez Linux.
2. Lorsque l'on vous demande de choisir un système d'exploitation, sélectionnez **Restore Installed Image** (Restaurer l'image installée).

Les options du système d'exploitation apparaissent brièvement avant la poursuite automatique de la restauration par le logiciel de commande NextSeq 1000/2000.

**i** | Les mots de passe sont liés à l'image du système. Après la restauration, utilisez les mots de passe de l'image restaurée afin de vous connecter au système.

3. Attendez une trentaine de minutes jusqu'à ce que la restauration soit complétée.  
La restauration peut comprendre plusieurs redémarrages. Lorsque la capture est complétée, le système redémarre avec l'image restaurée.

# Ressources et références

## Configuration des feuilles d'échantillons v2

Si vous suivez le mode local, vous pouvez utiliser le fichier en format v2 de feuille d'échantillons afin de configurer vos paramètres d'analyse. Créez une feuille d'échantillons dans l'Installation de l'analyse de l'instrument ou en modifiant *le modèle de feuille d'échantillons v2 des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000*. Lorsque vous modifiez la feuille d'échantillons, assurez-vous que les sections et les champs suivants sont compris dans la commande listée et respectent les exigences. Après la modification, utilisez un lecteur réseau monté ou portatif afin de transférer la feuille d'échantillons aux systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000. Lorsque vous naviguez vers la feuille d'échantillons à partir du logiciel de commande, elle est copiée dans un dossier avant analyse sur l'instrument afin que le lecteur réseau portatif puisse être retiré.

Assurez-vous que les paramètres de votre feuille d'échantillons v2 répondent aux exigences suivantes :

- Les séquences d'indexage spécifiées dans la section BCLConvert\_Data (Conversion BCL de données) de la feuille d'échantillons correspondent à la trousse d'indexage sélectionnée dans NextSeq 1000/2000.
- Si vous utilisez le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.2, la version de la plateforme DRAGEN indiquée sur la feuille d'échantillons doit être installée et activée sur le système. Pour en savoir plus sur l'installation, consultez la section [Mises à jour logicielles, page 81](#).
- Si vous utilisez le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3, la version de la plateforme DRAGEN indiquée sur la feuille d'échantillons doit être installée sur le système. Le logiciel de commande détecte automatiquement la version de la plateforme DRAGEN à partir de la feuille d'échantillons et vous invite à changer de version, le cas échéant. Pour en savoir plus sur l'installation, consultez la section [Mises à jour logicielles, page 81](#).

Il vous faudra configurer des paramètres supplémentaires si vous utilisez DRAGEN. Pour obtenir plus d'informations, consultez la section [Configuration des feuilles d'échantillons de la plateforme DRAGEN, page 96](#).

Téléchargez le modèle de feuille d'échantillons v2 à partir de Product Files (Fichiers du produit) à partir de la page d'assistance des systèmes de séquençage NextSeq 1000 et NextSeq 2000. Si vous avez créé une feuille d'échantillons à l'aide de l'Installation de l'analyse de l'instrument, altérer la feuille d'échantillons après le téléchargement initial peut causer un échec de l'analyse.

Les noms de fichier ne peuvent contenir de caractères spéciaux.

## Exigences d'[En-tête]

La section [En-tête] comprend l'information générale sur votre analyse. Les champs suivants sont les champs [En-tête] disponibles et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
FileFormatVersion	Oui	La version de la feuille d'échantillons. Saisissez 2 pour la valeur.
RunName	Non	Nom d'analyse unique de votre choix. Le RunName peut contenir des caractères alphanumériques, des traits de soulignement, des tirets et des points. L'analyse échouera si le RunName comprend des espaces ou des caractères spéciaux.
RunDescription	Non	Description de l'analyse.
InstrumentPlatform	Non	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	Non	NextSeq 1000/2000

## Exigences de [Lectures]

La section [Lectures] décrit le nombre de cycles de séquençage utilisés pour la lecture génomique et des index 1 et 2. Les champs suivants sont les champs [Lectures] disponibles et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Read1Cycles	Oui	Nombre de cycles de la première lecture. La valeur doit être un nombre entier supérieur à zéro.
Read2Cycles	Non	Nombre de cycles de la seconde lecture.
Index1Cycles	Non	Nombre de cycles de la première lecture d'index. Nécessaire lorsque l'on exécute le séquençage de plus d'un échantillon. Le maximum est de 10 cycles.
Index2Cycles	Non	Nombre de cycles dans la seconde lecture d'index. Le maximum est de 10 cycles.

## [Sequencing\_Settings] Exigences

Utilisez la section [Sequencing\_Settings] pour indiquer la trousse de préparation des librairies dont vous vous servez.

Champ	Obligatoire	Description
LibraryPrepKits	Non	<p>Votre trousse de préparation des librairies. Une seule trousse de préparation des librairies est autorisée.</p> <p>Dans le logiciel de commande NextSeq 1000/2000 v1.3, la formule personnalisée requise est automatiquement sélectionnée si le Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus d'Illumina ou la trousse Stranded mRNA Prep d'Illumina est indiqué(e) dans la trousse de préparation des librairies.</p> <p>Saisissez l'une des valeurs suivantes.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Trousse Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus d'Illumina – <code>ILMNStrandedTotalRNA</code></li> <li>• Trousse Stranded mRNA Prep d'Illumina — <code>ILMNStrandedmRNA</code></li> </ul>

## Exigences pour la conversion de BCL

Les sections de la conversion de BCL fournissent des informations sur la conversion de vos données de BCL à FASTQ. L'option de conversion de BCL comprend 2 sections séparées : [BCLConvert\_Settings] (BCLConversion\_paramètres) et [BCLConvert\_Data] (BCLConversion\_données). Les sections de conversion BCL nécessitent des informations relatives aux séquences des adaptateurs d'index. Afin de relever la séquence d'adaptateur compatible pour chaque lecture et index, consultez *Séquences des adaptateurs Illumina (document n° 1000000002694)*.

Les champs suivants sont les champs disponibles [BCLConvert\_Settings] (BCLConversion\_paramètres) et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
SoftwareVersion	Oui	La version du logiciel de la plateforme DRAGEN actuellement installée sur le système. Utilisez les trois nombres entiers compris dans le nom de la version. Par exemple, 3.5.7.

Champ	Obligatoire	Description
BarcodeMismatchesIndex1	Non	Le nombre de mésappariements permis entre la première lecture d'index et la séquence d'indexage. Les valeurs peuvent être 0, 1 ou 2. La valeur par défaut est 1.
BarcodeMismatchesIndex2	Non	Le nombre de mésappariements permis entre la seconde lecture d'index et la séquence d'indexage. Les valeurs peuvent être 0, 1 ou 2. La valeur par défaut est 1.
FastqCompressionFormat	Non	Pour générer des fichiers FASTQ en un fichier *.gz, entrez <code>gzip</code> . Pour sauvegarder les fichiers FASTQ en un fichier *.ora et l'utiliser avec DRAGEN Decompression, entrez <code>dragen</code> .
AdapterRead1	Non	La séquence à retrancher ou à masquer de la fin de la lecture 1. La séquence d'adaptateur de la Lecture 1 contenant A, C, G ou T. Retraitement de cycles d'AdapterRead1 par défaut.
AdapterRead2	Non	La séquence à retrancher ou à masquer de la fin de la lecture 2. La séquence d'adaptateur de la Lecture 2 contenant A, C, G ou T. Retraitement de cycles d'AdapterRead2 par défaut.
OverrideCycles	Non	La chaîne utilisée pour spécifier les cycles relatifs aux identifiants moléculaires uniques (IMU) et les cycles masqués d'une lecture. Les valeurs suivantes sont permises : <ul style="list-style-type: none"> <li>• N – Spécifie les cycles à ignorer.</li> <li>• Y – Spécifie les cycles de séquençage.</li> <li>• I – Spécifie les cycles d'index.</li> <li>• U – Spécifie les cycles IMU à retrancher.</li> </ul> Des points-virgules séparent chaque élément. Les exemples suivants montrent des entrées OverrideCycles. U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

Les champs suivants sont les champs disponibles [BCLConvert\_Data] (BCLConversion\_paramètres) et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Sample_ID	Oui	L'identifiant de l'échantillon. L'identifiant d'échantillon peut contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques, des tirets et traits de soulignement. L'identifiant est sensible à la case. Séparez chaque identifiant par un tiret ou un trait de soulignement. Par exemple, Sample1-DQB1-022515.
Index	Non	La séquence d'indexage associée à l'échantillon. Seules A, C, T et G sont permises. Nécessaire lorsque l'on exécute le séquençage de plus d'un échantillon.
Index2	Non	La seconde séquence d'indexage associée à l'échantillon. Seules A, C, T et G sont permises. Assurez-vous que les séquences des adaptateurs du second index (i5) sont orientées vers l'avant. La plateforme DRAGEN reverse automatiquement les compléments des index i5 durant l'analyse secondaire.
Ligne	Non	La ligne de la Flow Cell. Les lignes sont représentées par une valeur en nombre entier.

## Configuration des feuilles d'échantillons de la plateforme DRAGEN

Cette section décrit les exigences des feuilles d'échantillons pour chaque pipeline de la plateforme DRAGEN. Ajoutez vos paramètres de pipeline de la plateforme DRAGEN en tant que dernière section de votre feuille d'échantillons. Vous ne pouvez utiliser qu'un seul pipeline de la plateforme DRAGEN.

Chaque pipeline de la plateforme DRAGEN comprend des sections séparées pour les paramètres et les données.



## Exigences relatives au pipeline germline de la plateforme DRAGEN

Les champs suivants sont les champs [DragenGermline\_Settings] disponibles et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
SoftwareVersion	Oui	La version du logiciel de la plateforme DRAGEN actuellement installée sur le système. Utilisez les trois nombres entiers compris dans le nom de la version. Par exemple, 3.5.7. La version du logiciel doit correspondre à la version spécifiée dans la section BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Oui	Le nom du génome de référence. Par exemple, hg19_alt_aware. Utilisez le nom du génome de référence situé dans <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Afin d'utiliser un génome de référence personnalisé, consultez <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> .
MapAlignOutFormat	Non	Le formatage du fichier de sortie. Les valeurs permises sont « bam » ou « cram ». Si aucune valeur n'est spécifiée, la valeur par défaut est « None » (Aucune).
KeepFastq	Non	Pour enregistrer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>true</code> (vrai). Pour retirer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>false</code> (faux).

Ce qui suit sont les champs disponibles [DragenGermline\_Data] et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Sample_ID	Oui	L'identifiant de l'échantillon. L'identifiant de l'échantillon peut contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques. L'identifiant est sensible à la case. Séparez chaque identifiant par un tiret. Par exemple, Sample1-DQB1-022515. Les identifiants d'échantillons doivent correspondre avec les identifiants spécifiés dans la section BCLConvert_Data.

## Exigences relatives au pipeline d'ARN de la plateforme DRAGEN

Ce qui suit sont les champs disponibles [DrogenRNA\_Settings] et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
SoftwareVersion	Oui	La version du logiciel de la plateforme DRAGEN actuellement installée sur le système. Utilisez les trois nombres entiers compris dans le nom de la version. Par exemple, 3.5.7. La version du logiciel doit correspondre à la version spécifiée dans la section BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Oui	Le nom du génome de référence. Par exemple, hg38_noalt_with_decoy. Utilisez le nom du génome de référence situé dans <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Afin d'utiliser un génome de référence personnalisé, consultez <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> .
RnaGeneAnnotationFile	Non	Ce fichier contient les annotations des gènes d'ARN. Seuls les caractères alphanumériques sont permis. Si l'annotation n'est pas fournie, l'annotation du fichier par défaut compris dans le génome de référence est utilisée.
MapAlignOutFormat	Non	Le formatage du fichier de sortie. Les valeurs permises sont « bam » ou « cram ». Si aucune valeur n'est spécifiée, la valeur par défaut est « None » (Aucune).
KeepFastq	Non	Pour enregistrer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>true</code> (vrai). Pour retirer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>false</code> (faux).
DifferentialExpressionEnable	Non	Pour activer l'expression génique différentielle, saisissez <code>True</code> (Vrai). Saisissez <code>False</code> (Faux) pour exclure l'expression génique différentielle de l'analyse.

Les champs suivants sont les champs [DragenRna\_Data] disponibles et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Sample_ID	Oui	L'identifiant de l'échantillon. L'identifiant de l'échantillon peut contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques. L'identifiant est sensible à la case. Séparez chaque identifiant par un tiret. Par exemple, Sample1-DQB1-022515. Les identifiants d'échantillons doivent correspondre avec les identifiants spécifiés dans la section BCLConvert_Data.
Comparison<N>	Non	La valeur témoin ou de comparaison pour chaque échantillon. Si l'échantillon ne contient pas de valeur témoin ou de comparaison, celui-ci est marqué N/A (S. O.). Les échantillons marqués d'un témoin sont comparés aux échantillons marqués d'une comparaison. La valeur N correspond au groupe de comparaison des échantillons.

### Exigences relatives au pipeline d'enrichissement de la plateforme DRAGEN

Les champs suivants sont les champs disponibles [DragenEnrichment\_Settings] et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
SoftwareVersion	Oui	La version du logiciel de la plateforme DRAGEN actuellement installée sur le système. Utilisez les trois nombres entiers compris dans le nom de la version. Par exemple, 3.5.7. La version du logiciel doit correspondre à la version spécifiée dans la section BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Oui	Le nom du génome de référence. Par exemple, hg38_alt_aware. Les génomes de référence sont situés dans <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Afin d'utiliser un génome de référence personnalisé, consultez <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> .
BedFile	Oui	Le fichier BED contenant les régions à cibler.

Champ	Obligatoire	Description
GermlineOrSomatic	Oui	Pour effectuer une analyse germinale d'enrichissement, entrez <code>germline</code> . Pour effectuer une analyse somatique d'enrichissement, entrez <code>somatic</code> .
KeepFastq	Non	Pour enregistrer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>true</code> (vrai). Pour retirer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>false</code> (faux).
MapAlignOutFormat	Non	Le formatage du fichier de sortie. Les valeurs permises sont « bam » ou « cram ». Si aucune valeur n'est spécifiée, la valeur par défaut est « None » (Aucune).
AuxNoiseBaselineFile	Non	Le nom du fichier de référence du bruit. Vous pouvez utiliser le format de fichier <code>*.txt</code> ou <code>*.gz</code> . Les fichiers de référence du bruit sont disponibles seulement si vous utilisez le mode somatique. Pour en savoir plus, consultez la section <a href="#">Import Noise Baseline Files (Importer des fichiers de référence du bruit)</a> , page 19.

Les champs suivants sont les champs disponibles [DragenEnrichment\_Data] et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Sample_ID	Oui	L'identifiant de l'échantillon. L'identifiant de l'échantillon peut contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques. L'identifiant est sensible à la case. Séparez chaque identifiant par un tiret. Par exemple, Sample1-DQB1-022515. Les identifiants d'échantillon doivent correspondre à l'identifiant spécifié dans la section BCLConvert_Data section.

## Exigences relatives au pipeline d'amplicons d'ADN de la plateforme DRAGEN

Les champs suivants sont les champs disponibles [DragenAmplicon\_Settings] et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
SoftwareVersion	Oui	La version du logiciel de la plateforme DRAGEN actuellement installée sur le système. Utilisez les trois nombres entiers compris dans le nom de la version. Par exemple, 3.5.7. La version du logiciel doit correspondre à la version spécifiée dans la section BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Oui	Le nom du génome de référence. Par exemple, hg38_alt_aware. Les génomes de référence sont situés dans <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Afin d'utiliser un génome de référence personnalisé, consultez <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> .
DnaBedFile	Oui	Le fichier BED contenant les régions à cibler. Le fichier BED peut être importé au format <code>*.txt</code> ou <code>*.gz</code> .
DnaGermlineOrSomatic	Oui	Pour effectuer une analyse germinale d'amplicons d'ADN, saisissez <code>Germline</code> (Germinal). Pour effectuer une analyse somatique d'amplicons d'ADN, saisissez <code>Somatic</code> (Somatique).
KeepFastq	Non	Pour enregistrer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>true</code> (vrai). Pour retirer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>false</code> (faux).
MapAlignOutFormat	Non	Le formatage du fichier de sortie. Les valeurs permises sont « bam » ou « cram ». Si aucune valeur n'est spécifiée, la valeur par défaut est « None » (Aucune).

Les champs suivants sont les champs [DragenAmplicon\_Data] disponibles et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Sample_ID	Oui	L'identifiant de l'échantillon. L'identifiant de l'échantillon peut contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques. L'identifiant est sensible à la case. Séparez chaque identifiant par un tiret. Par exemple, Sample1-DQB1-022515. Les identifiants d'échantillon doivent correspondre à l'identifiant spécifié dans la section BCLConvert_Data section.
DnaOrRna	Oui	Le type d'analyse d'amplicons à effectuer. Seules les analyses d'ADN sont prises en charge pour la plateforme DRAGEN v3.8. Saisissez <i>DNA</i> (ADN).

### Exigences relatives au pipeline Single Cell RNA de la plateforme DRAGEN

Ce qui suit sont les champs disponibles [DragenSingleCellRNA\_Settings] et leur description. Pour des renseignements sur la compatibilité de trousse tierces, consultez la page d'assistance DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility.

#### Trousses Single Cell Library Kit 1-5

Les paramètres de la feuille d'échantillons suivante s'appliquent aux trousse de préparation de librairies avec la même structure génétique que les trousse DRAGEN Single Cell Library Kits 1-5. Consultez la page d'assistance DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility pour confirmer la structure génétique de votre trousse.

Champ	Obligatoire	Description
SoftwareVersion	Oui	La version du logiciel de la plateforme DRAGEN actuellement installée sur le système. Utilisez les trois nombres entiers compris dans le nom de la version. Par exemple, 3.5.7. La version du logiciel doit correspondre à la version spécifiée dans la section BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Oui	Le nom du génome de référence. Par exemple, hg38_alt_aware. Les génomes de référence sont situés dans /usr/local/illumina/genomes. Afin d'utiliser un génome de référence personnalisé, consultez <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> .
RnaLibraryType	Non	Saisissez l'une des valeurs suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>• SF : à brin direct. SF est la valeur par défaut.</li> <li>• SR : à brin inverse.</li> <li>• U : sans brin.</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	Non	Ce fichier contient les annotations des gènes d'ARN. Seuls les caractères alphanumériques sont permis. Si l'annotation n'est pas fournie, l'annotation du fichier par défaut compris dans le génome de référence est utilisée.
BarcodeRead	Non	L'emplacement de la lecture du code à barres dans l'analyse de séquençage, qui contient le code à barres et l'IMU. Les valeurs comprennent Read1 ou Read2. La valeur par défaut est « Read1 » (Lecture1).
BarcodePosition	Oui	L'emplacement des bases correspondant au code à barres dans la valeur saisie pour BarcodeRead (Lecture du code à barres). Les positions des bases sont indexées à partir de la position zéro. Entrez la valeur pour BarcodePosition (Position du code à barres) dans le format suivant : 0_<position de fin du code à barres> Par exemple, si un code à barres contient 16 bases, la valeur est 0_15.

Champ	Obligatoire	Description
UmiPosition	Oui	L'emplacement des bases correspondant à l'IMU dans la valeur saisie pour BarcodeRead (Lecture du code à barres). Entrez la valeur pour UmiPosition (Position de l'IMU) dans le format suivant : <position de départ IMU>_<position de fin IMU>  Par exemple, si l'IMU contient 10 bases et le code à barres en contient 16, la valeur est 16_25.
BarcodeSequenceWhitelist	Non	Le nom du fichier qui contient les séquences de codes à barres à inclure. Le nom du fichier peut uniquement contenir des caractères alphanumériques, des tirets, des traits de soulignement et des points.
KeepFastq	Non	Pour enregistrer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>true</code> (vrai). Pour retirer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>false</code> (faux).
MapAlignOutFormat	Non	Le formatage du fichier de sortie. Les valeurs permises sont « bam » ou « cram ». Si aucune valeur n'est spécifiée, la valeur par défaut est « None » (Aucune).

Les champs suivants sont les champs [DrogenSingleCellRNA\_Data] disponibles et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Sample_ID	Oui	L'identifiant de l'échantillon. L'identifiant de l'échantillon peut contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques. L'identifiant est sensible à la case. Séparez chaque identifiant par un tiret. Par exemple, Sample1-DQB1-022515. Les identifiants d'échantillon doivent correspondre à l'identifiant spécifié dans la section BCLConvert_Data section.



## Trousse Single Cell Library Kit 6

Les paramètres de la feuille d'échantillons suivante s'appliquent aux trousse de préparation de bibliothèques avec la même structure génétique que les trousse DRAGEN Single Cell Library Kits 6. Consultez la page d'assistance DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility pour confirmer la structure génétique de votre trousse.

Champ	Obligatoire	Description
SoftwareVersion	Oui	La version du logiciel de la plateforme DRAGEN actuellement installée sur le système. Utilisez les trois nombres entiers compris dans le nom de la version. Par exemple, 3.5.7. La version du logiciel doit correspondre à la version spécifiée dans la section BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Oui	Le nom du génome de référence. Par exemple, hg38_alt_aware. Les génomes de référence sont situés dans <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Afin d'utiliser un génome de référence personnalisé, consultez <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> .
RnaLibraryType	Non	Saisissez l'une des valeurs suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>• SF : à brin direct.</li> <li>• SR : à brin inverse.</li> <li>• U : sans brin.</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	Non	Ce fichier contient les annotations des gènes d'ARN. Seuls les caractères alphanumériques sont permis. Si l'annotation n'est pas fournie, l'annotation du fichier par défaut compris dans le génome de référence est utilisée.
BarcodeRead	Non	L'emplacement de la lecture du code à barres dans l'analyse de séquençage, qui contient le code à barres et l'IMU. Les valeurs comprennent Read1 ou Read2. La valeur par défaut est « Read1 » (Lecture1).

Champ	Obligatoire	Description
BarcodePosition	Oui	<p>L'emplacement des bases correspondant aux codes à barres dans la valeur saisie pour BarcodeRead (Lecture du code à barres). Les positions des bases sont indexées à partir de la position zéro. Entrez la valeur pour BarcodePosition (Position du code à barres) dans le format suivant :</p> <p>0_&lt;position de fin du premier code à barres&gt;+&lt;position de départ du deuxième code à barres&gt;_&lt;position de fin du deuxième code à barres&gt;+&lt;position de départ du troisième code à barres&gt;_&lt;position de fin du troisième code à barres&gt;</p> <p>Par exemple, la valeur 0_8+21_29+43_51 correspondrait à la structure suivante :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 9 bases dans le premier code à barres (0_8).</li> <li>• 12 bases entre le premier et le deuxième code à barres.</li> <li>• 9 bases dans le deuxième code à barres (21_29).</li> <li>• 13 bases entre le deuxième et le troisième code à barres.</li> <li>• 9 bases dans le troisième code à barres (43_51).</li> </ul>
UmiPosition	Oui	<p>L'emplacement des bases correspondant à l'IMU dans BarCodeRead (Lecture du code à barres). Entrez la chaîne dans le format suivant :</p> <p>&lt;position de départ IMU&gt;_&lt;position de fin IMU&gt;</p> <p>Par exemple, si l'IMU contient 8 bases et le nombre total de bases avant l'IMU est égal à 51, la valeur est 52_59.</p>
BarcodeSequenceWhitelist	Non	<p>Le nom du fichier qui inclut la séquence du code à barres à mettre sur la liste blanche. Le nom du fichier peut uniquement contenir des caractères alphanumériques, des tirets, des traits de soulignement et des points.</p>

Champ	Obligatoire	Description
KeepFastq	Non	Pour enregistrer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>true</code> (vrai). Pour retirer les fichiers de sortie FASTQ, entrez <code>false</code> (faux).
MapAlignOutFormat	Non	Le formatage du fichier de sortie. Les valeurs permises sont « bam » ou « cram ». Si aucune valeur n'est spécifiée, la valeur par défaut est « None » (Aucune).

Les champs suivants sont les champs [DragenSingleCellRNA\_Data] disponibles et leur description.

Champ	Obligatoire	Description
Sample_ID	Oui	L'identifiant de l'échantillon. L'identifiant de l'échantillon peut contenir jusqu'à 20 caractères alphanumériques. L'identifiant est sensible à la case. Séparez chaque identifiant par un tiret. Par exemple, Sample1-DQB1-022515. Les identifiants d'échantillon doivent correspondre à l'identifiant spécifié dans la section BCLConvert_Data section.

## Séquençage de cycles obscurs

Cette section décrit comment utiliser le séquençage de cycles obscurs dans la formule.

Le séquençage de cycles obscurs est uniquement utilisé pour compléter les étapes chimiques d'un cycle de séquençage. Consultez la page des produits compatibles pour votre trousse de préparation de bibliothèques sur le [Site de l'assistance d'Illumina](#) pour vérifier si le séquençage de cycles obscurs est requis.

Suivez les étapes suivantes pour le séquençage de cycles obscurs.

### Modifier le fichier de formule

1. Téléchargez le fichier de formule XML à partir du [Site de l'assistance d'Illumina](#).
2. Modifiez le fichier de formule XML.
  - a. Identifiez la section sur le protocole approprié en fonction de votre lecture et de la configuration du séquençage d'index. Il existe six différents protocoles par formule personnalisée pouvant être modifiés.  
Par exemple, le protocole pour une lecture unique Read 1 sans configuration du séquençage d'index est `<Nom du protocole = " 1 Read 0 Index " Type de protocole = " 1Read0Index ">`.

- b. Avant `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` et `<ReadRef ReadName="Read 2"/>`, entrez l'étape du cycle obscur suivante sur une nouvelle ligne.

`<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />`.

- c. Entrez l'étape du cycle obscur sur une nouvelle ligne pour chaque cycle obscur requis.

### 3. Enregistrez le fichier XML de la formule.

Ce qui suit est un exemple de formule avec cycle obscur :

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

### Joindre la formule à l'analyse

- 1 À partir de Run Setup (Configuration de l'analyse) dans le logiciel de commande, sélectionnez **Choose** (Sélectionner) sous Custom Recipe (Formule personnalisée).
- 2 Accédez au fichier XML de la formule mis à jour.
- 3 Sélectionnez **Open** (Ouvrir).
- 4 Retournez à [Lancement d'une analyse de séquençage, page 49](#).

# Index

## %

%PF 63

## A

abonnement Entreprise 14  
adresse IP 6  
aide, technique 112  
alertes 81  
algorithme Phred 64  
alignement d'une spécification 88  
alignement PhiX 58  
alimentation CA  
    entrée d'alimentation 4  
amplifiats passant le filtre 63  
amplification 9  
analyse  
    méthodes 5, 9  
analyse d'images 5  
analyse infonuagique 1  
analyse locale 1  
analyses  
    mesures 58  
arrêt 88  
assistance clientèle 112  
Assistance Illumina Proactive 14  
assistance technique 112  
attribution d'un nom  
    nom de l'instrument 21  
aucune définition 61-62  
avertissements 6, 88

## B

barre d'état 3  
barre lumineuse 3  
BaseSpace Sequence Hub 1  
    documentation 14  
    paramètres 14  
bcl2fastq2 58  
bouton de mise en marche 3, 88

## C

câble Ethernet 4  
caméras 59  
canal rouge 62  
canal vert 62  
cartouche  
    orientation de chargement 54  
CE 58  
chemins UNC 53  
claviers 4  
compartiment des consommables 3  
Compute Engine 58  
configuration de l'analyse  
    exemples 33  
configuration initiale 84, 90-91  
congélateur, caractéristiques 30  
connexion Internet 14  
consommables  
    balayage 54  
    suivi 1  
contrôle PhiX v3 28  
conversion FASTQ 58  
cordon d'alimentation 4  
cycles de lecture 33  
cycles supplémentaires 33

## D

dates de péremption 84  
définition des bases 5  
dénaturation 9  
déplacement 4  
dilution des bibliothèques 9  
disque dur 6, 80  
documentation 112  
domaine privé 14  
domaines 14  
données sur la performance 14  
données sur la performance de  
    l'instrument 14  
dossier d'analyse 80

dossier de sortie 53, 80  
dossier de sortie par défaut 53

## E

échecs d'enregistrement 61  
écran 3  
emplacement de l'hébergement 14  
emplacement des ampliats 58, 65  
emplacement du serveur 14  
erreurs 6, 88  
    messages 86  
    probabilité 63-64  
espace disque 6, 80  
état de l'analyse 6

## F

fichiers BCL 6  
fichiers CBCL 63  
fichiers de définition des bases 9, 58, 65  
fichiers de filtrage 58, 65  
fichiers InterOp 58, 65  
fichiers journaux 59  
filtre de pureté 63  
filtres à air  
    emplacement 84  
    pièces de rechange 30  
formules 81  
fragments de formule 6

## G

garantie 30  
génération de modèles 61  
gestion du processus 80

## I

icônes 6  
identification  
    nom de l'instrument 21  
    nom de l'ordinateur 6  
imagerie 58-59

images miniatures 65  
index  
    cycles 33  
initialisation 89  
    échec 88  
installation des logiciels 81  
intensité des ampliats 61  
interrupteur 4, 88

## J

journaux des erreurs 59

## L

lecteur D 80  
lecteurs mappés 53  
lecture appariée 53  
lecture unique 53  
librairies  
    dénaturation 9  
lignes 59  
lingettes d'alcool 30  
lingettes d'eau de Javel 30  
livres blancs 64  
Local Run Manager 5  
logiciels  
    alertes de mise à jour 22  
    installation 81  
    version antérieure 90-91  
longueurs de lecture 33

## M

mise en phase et en préphase 61  
mise hors tension et redémarrage 86  
mises à jour automatiques 81  
mises à jour logicielles manuelles 81  
modification des paramètres d'analyse 53  
moteur de calcul 58

## N

nanopuits 61

- nom de l'ordinateur 6
- nombre d'analyses 6
- nombre de cycles 33
- nucléotides 62
- numéro de série 6
- numéros de référence 28
- numérotation des plaques 60
- numérotation des surfaces 60

## P

- pages d'assistance 81
- paramètres audio 21
- paramètres d'analyse
  - modification 53
- paramètres du son 21
- paramètres initiaux 90-91
- passant le filtre (PF) 63
- perte de connexions 88
- PhiX 30
- pièces de rechange 84
- plaques 58
- plateau d'égouttage
  - tampons 30
- port Ethernet 4
- port USB 4
- portes
  - fermeture 54
- programme d'installation System Suite 81

## Q

- qualité des données 63

## R

- Réactifs NextSeq 1000/2000 28
- redémarrage 90-91
- réfrigérateur, caractéristiques 30
- remplacement du tampon RSB 28
- RunInfo.xml 65

## S

- scores de qualité 63-64
- séquençage à deux canaux 62
- Sequencing Analysis Viewer 58, 61
- souris 4
- suite logicielle 1, 5
- suivi des consommables 1
- suppression d'analyses 6
- suppression des analyses 80
- surnom 21
- système d'exploitation 89

## T

- tableaux de qualité 64
- taille de l'analyse 80
- tampon de resuspension 28
- tampons 30
- témoins 59-60
- trousse de tests 30
- trousses 28
  - numéros de référence 30

## U

- Universal Copy Service 5, 81

## V

- valeurs d'intensité 61
- ventilateurs 84
- vérifications du système 86
- version antérieure du logiciel 90-91

## W

- Windows
  - ouverture de session 89

# Assistance technique

Pour obtenir de l'assistance technique, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.

Site Web : [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
Courriel : [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Numéros de téléphone de l'assistance technique d'Illumina

Région	Sans frais	International
Allemagne	+ 49 800 101 4940	+ 49 89 3803 5677
Australie	+61 1800 775 688	
Autriche	+43 800 006249	+ 43 1 9286540
Belgique	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Canada	+ 1 800 809 4566	
Chine		+86 400 066 5835
Corée du Sud	+82 80 234 5300	
Danemark	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Espagne	+ 34 800 300 143	+34 911 899 417
États-Unis	+ 1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Finlande	+358 800 918 363	+ 358 9 7479 0110
France	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Hong Kong, Chine	+852 800 960 230	
Inde	+91 8006500375	
Indonésie		0078036510048
Irlande	+ 353 1800 936608	+353 1 695 0506
Italie	+ 39 800 985513	+ 39 236003759
Japon	+81 0800 111 5011	
Malaisie	+60 1800 80 6789	
Norvège	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Nouvelle-Zélande	+64 800 451 650	
Pays-Bas	+ 31 800 022 2493	+ 31 20 713 2960



Région	Sans frais	International
Philippines	+63 180016510798	
Royaume-Uni	+44 800 012 6019	+ 44 20 7305 7197
Singapour	1 800 5792 745	
Suède	+ 46 2 00883979	+ 46 8 50619671
Suisse	+ 41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Taiïwan, Chine	+886 8 06651752	
Thaïlande	+66 1800 011 304	
Vietnam	+84 1206 5263	

**Fiches signalétiques (SDS)** – Disponibles sur le site Web d'Illumina à l'adresse [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

**Documentation sur les produits** – Disponible en téléchargement sur le site [support.illumina.com](http://support.illumina.com).



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Californie 92122 États-Unis

+ (1) 800 809 ILMN (4566)

+ (1) 858 202 4566 (en dehors de l'Amérique du Nord)

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

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

**Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser dans le cadre d'examens diagnostiques.**

© 2021 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

**illumina®**