

2000-ו NextSeq 1000

מדריך מערכת ריצוף

מסמך זה ותכולתו הם קניין של Illumina, Inc. והחברות המסונפות אליה (להלן: "Illumina"), והם מיועדים אך ורק לשימוש של הלקוח, בהתאם לתנאי החוזה, בהקשר של השימוש במוצרים המתוארים בזאת, ולא לשום מטרה אחרת. אין להשתמש במסמך זה ותכולתו ואין להפיצם לכל מטרה אחרת ו/או לשלוח, לחשוף או לשכפל בשום צורה אחרת, ללא הסכמה מראש ובכתב מאת Illumina. במסמך זה, Illumina אינה מעניקה רישיון כלשהו לזכויות על פטנט, סימן מסחרי, זכות יוצרים או זכות חוקית או כל זכות אחרת, לשום צד שלישי.

כדי להבטיח שימוש הולם ובטוח במוצרים המתוארים בזאת, ההוראות שבמסמך זה חייבות להתבצע על-ידי עובדים שעברו הדרכה מתאימה וימלאו את ההוראות בצורה קפדנית ומפורשת. חובה לקרוא ולהבין את כל תכולתו של מסמך זה לפני השימוש במוצרים אלה.

איי-קריאת ההוראות המופיעות בזאת במלואן ואי-הקפדה עליהן עלולות לגרום לנזק למוצרים, לפגיעה גופנית של בני אדם - לרבות המשתמשים או אנשים אחרים, ונזק לרכוש אחר, ויבטלו כל אחריות החלה על המוצרים.

ILLUMINA אינה מקבלת על עצמה שום חבות העולה מתוך שימוש בלתי הולם במוצרים המתוארים בזאת (לרבות חלקים מהם או התוכנה).

Illumina, Inc. © 2021 כל הזכויות שמורות.

כל הסימנים המסחריים הם רכושם של Illumina, Inc. או של בעליהם המתאימים. לקבלת מידע על סימן מסחרי ספציפי, בקר בכתובת www.illumina.com/company/legal.html.

גרסאות קודמות

מס' מסמך	תאריך	תיאור השינוי
1000000109376 v04	אפריל 2021	<p>נוספו הוראות בדבר ייבוא קובצי בסיס. נוספה זרימת עבודה DNA Amplicon של DRAGEN. נוספו תכונות לגרסה v1.3 של תוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000. נוסף מידע על בחירת שרת Proxy. ב-RSB עודכנה טמפרטורת המשלוח והאחסון של Tween 20. זרימת העבודה של RNA ב-DRAGEN עודכנה כדי לכלול ביטוי גן דיפרנציאלי. עודכן מבנה תיקיית הפלט של הריצוף. עודכנו ההמלצות על עיצוב v2 של גיליון דגימה.</p>
1000000109376 v03	נובמבר 2020	<p>תוקנו מספרים קטלוגיים. נוסף מידע על הוספת משתמשים חדשים.</p>
1000000109376 v02	אוקטובר 2020	<p>נוספה ערכת מגיבים של NextSeq 1000/2000 P3. נוספה זרימת עבודה של RNA של תא יחיד ב-DRAGEN. נוספה זרימת עבודה Enrichment ב-DRAGEN. נוספו אפשרויות דחיסה של FASTQ. נוספו הוראות על התקנת צינור של DRAGEN ועדכוני רישיון. נוספו הוראות על ייבוא גנומי ייחוס מותאמים אישית. עודכנו נפח הטעינה והריכוזים עבור סוגי ספריות. עודכנו הוראות דילול הספריות. נוספו הוראות על ריקון אוטומטי של מחסנית מגיב. עודכן מידע על מספר המחזורים לתמיכה. עודכנו אפשרויות ההתאמה האישית של המכשיר. עודכנו הוראות הגדרת ההפעלה של המכשיר. עודכן מבנה פלט הריצוף של DRAGEN. נוסף מידע על דוחות QC של DRAGEN. נוסף מידע על הסרת גנומי ייחוס מותאמים אישית מהכונן הקשיח. נוסף מידע על ביצוע בדיקות מערכת. עודכנו ההגדרות של גיליון דגימה v2.</p>

מס' מסמך	תאריך	תיאור השינוי
1000000109376 v01	יוני 2020	<p>עודכו התיאורים של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000. לאורך המדריך הובהרה ההבחנה בין המצבים ענן, היברידי, מקומי ועצמאי.</p> <p>עודכנו הוראות ההפשרה והאחסון של המחסנית. עודכן מידע על מספר המחזורים הנתמך. עודכנו הוראות על הגדרת ניתוח משני. עודכנו המספרים הקטלוגיים של ערכות המגיבים. עודכן תרשים פרוטוקול הריצוף. עודכנו הוראות על ציון כוונן רשת כתיקית פלט המשמשת כברירת מחדל. עודכנה טבלת סוגי הספריות הנתמכים. נוספו הוראות על ייבוא גנום ייחוס מותאם אישית. נוספו הוראות על הגדרת הפעלה באמצעות ערכת אינדקס מותאמת אישית וערכה מותאמת אישית להכנת ספרייה. עודכנו דרישות חשבון המשתמש והסיסמה. נוספו פרטים על מבנה תיקית פלט של DRAGEN. הובהרו ההוראות על ניקוז מגיבים משומשים מהמחסנית. נוסף מידע רקע על טבלת Q. עודכנו ההוראות על התקנת עדכונים של תוכנת הבקרה. נוספו הוראות כיצד להציב הפעלה בתור מחדש. נוספו הוראות על עדכון רישיון וצינורות DRAGEN. נוספו הוראות התאמה אישית של המכשיר. עודכנו תרשימים כדי לשקף את התוויות החדשות. המונח "דלת" הוחלף במונח "כיסוי מגן" לאורך המדריך. נוסף תיאור של שתי יציאות ה-Ethernet.</p>
1000000109376 v00	מרץ 2020	מהדורה ראשונית.

תוכן העניינים

1	סקירה כללית של המערכת
2	משאבים נוספים
3	חומרת המכשיר
5	התוכנה המשולבת
6	ניהול תהליך
7	תרשים פרוטוקול ריצוף
7	כיצד פועל הריצוף
10	תצורת המערכת
10	דרישות חשבון המשתמש
12	קביעת התצורה של BaseSpace Sequence Hub והתמיכה של Proactive
13	ציון מיקום תיקיית הפלט המשמש כברירת מחדל
16	ייבוא גנומי ייחוס מותאמים אישית
17	ייבוא קובצי בסיס רעש
18	קביעת תצורה של מצב הפעלה
19	התאמה אישית של מכשיר
21	חומרים מתכלים וציוד
21	חומרים מתכלים לריצוף
25	חומרים מתכלים נלווים
26	ציוד תומך
27	פרוטוקול
27	שיקולים בריצוף
28	תכנון הפעלת ריצוף ב-BaseSpace Sequence Hub
36	הפשרת המחסנית הארוזה ותא הזרימה
38	דילול ספריות
39	טעינת חומרים מתכלים במחסנית
41	התחלת הפעלת ריצוף
49	פלט ריצוף
49	סקירה של ניתוח בזמן אמת
51	זרימת עבודה של ניתוח בזמן אמת
55	קובצי פלט של ריצוף
55	קובצי פלט של ניתוח משני ב-DRAGEN
64	מבנה תיקיות פלט של ניתוח משני ב-DRAGEN
67	תחזוקה
67	פינוי שטח בדיסק הקשיח
67	עדכוני תוכנה
69	עדכוני זרימת עבודה ורישיון של DRAGEN

70.....	החלפת מסנן האוויר
72.....	פתרון בעיות
72.....	טיפול בהודעות שגיאה
72.....	החזרת חומרים מתכלים לאחסון
73.....	ביטול הפעלה
73.....	הצבת הפעלה בתור מחדש
74.....	הפעלה מחדש של המכשיר
75.....	ביצוע בדיקת מערכת
75.....	שחזור להגדרות היצרן
76.....	לכידת התמונה המותקנת
76.....	שחזור תמונה שנלכדה
77.....	משאבים וחומר לעיון
77.....	הגדרות גיליון דגימה v2
89.....	מחזור ריצוף חשוך
91.....	אינדקס
95.....	סיוע טכני

סקירה כללית של המערכת

מערכת הריצוף Illumina® NextSeq™ 1000 ומערכת הריצוף Illumina® NextSeq™ 2000 מספקות גישה ממוקדת ל-NGS¹. מערכת ממוקדת-יישומים זו אורזת את טכנולוגיות הריצוף של Illumina במכשיר שולחני חסכוני שמציע את התכונות הבאות:

- נגישות ושימושיות—מערכת NextSeq 1000/2000 כוללת ניתוח DRAGEN מקומי ופעולות דנטורציה ודילול במכשיר. במערכת מובנה מודול הדמיה ובחומר המתכלה מובנים רכיבי פלואידיקה, כדי לפשט את תחזוקת המכשיר.
 - טעינת חומרים מתכלים בצעד אחד—מחסנית לשימוש חד-פעמי מולאה מראש בכל המגיבים הנדרשים להפעלה. ספרייה ותא זרימה נטענים ישירות למחסנית, שלאחר מכן נטענת במכשיר. זיהוי משולב מאפשר מעקב מדויק.
 - תוכנת NextSeq 1000/2000—חבילה של תוכנות משולבות שולטת בפעולות המכשיר, מעבדת תמונות ויוצרת קישורים בין בסיסים.
 - מצב ענן—תכנן את ההפעלה שלך עם Instrument Run Setup (הגדרות הפעלת המכשיר) ב-BaseSpace Sequence Hub. זרימת העבודה של הניתוח שנבחרה מופעלת אוטומטית בתוך הענן. נתוני ההפעלה ותוצאות הניתוח גם הם מסופקים בענן.
 - מצב היברידי—תכנן את ההפעלה שלך עם Instrument Run Setup (הגדרות הפעלת המכשיר) ב-BaseSpace Sequence Hub. זרימת העבודה של הניתוח שנבחרה מופעלת כעת באמצעות ה-DRAGEN במכשיר.
 - מצב מקומי—תכנן את ההפעלה שלך עם גיליון דגימה בתבנית קובץ v2 באופן מקומי. זרימת העבודה של הניתוח שנבחרה מופעלת אוטומטית באמצעות ה-DRAGEN במכשיר.
 - מצב עצמאי—תכנן את ההפעלה שלך ללא גיליון דגימה.
- סעיף זה מספק סקירה כללית של המערכת, לרבות מידע על חומרה, תוכנה וניתוח נתונים. הוא גם מרכז מושגי מפתח ומונחים אשר משולבים במסמכי התייעוד. לקבלת מידע מפורט על המפרט, גיליונות הנתונים, היישומים ומוצרים קשורים, עיין ב**דף המוצר של מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000** באתר האינטרנט של Illumina.

¹ריצוף מהדור הבא

משאבים נוספים

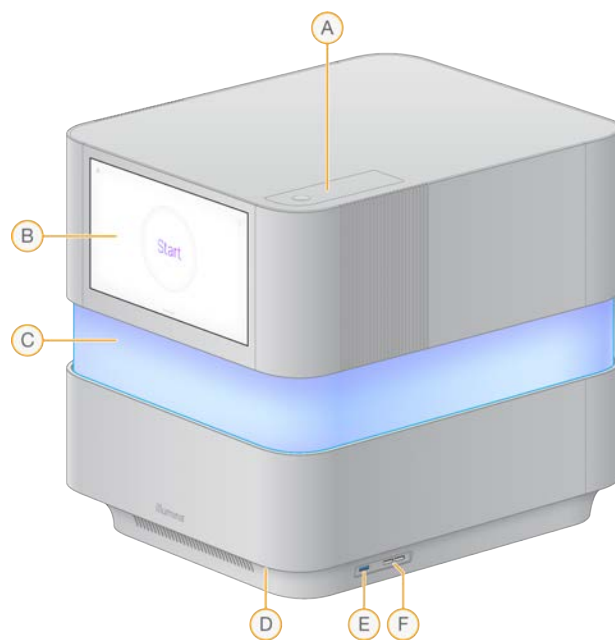
דפי התמיכה של מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 באתר האינטרנט של Illumina כוללים משאבי מערכת נוספים. משאבים אלה כוללים חומרה, הדרכה, מוצרים מתאימים, ואת התייעוד הבא. עיין תמיד בדפי התמיכה לקבלת הגרסאות העדכניות ביותר.

משאב	תיאור
Custom Protocol Selector (בורר פרוטוקול בהתאמה אישית)	כלי ליצירת הוראות קצה-לקצה המותאמות במיוחד לשיטות הכנת הספריות, לפרמטרי ההפעלה ולשיטת הניתוח שלך, יחד עם אפשרויות לחידוד רמת הפירוט.
מדריך בטיחות ותאימות של מערכות ריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 (מסמך מס' 10000000111928)	מספק מידע על שיקולי בטיחות בהפעלה, הצהרות תאימות ותוויות המכשיר.
מדריך תאימות של מודול קורא RFID (מסמך מס' 1000000002699)	מספק מידע על קורא ה-RFID במכשיר, אישורי תאימות ושיקולי בטיחות.
מדריך דנטורציה ודילול של ספריות ב-NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 (מסמך מס' 10000000139235)	מספק הוראות על דנטורציה ודילול ידניים של ספריות שהוכנו עבור הפעלת ריצוף ועל הכנת בקרת PhiX אופציונלית.
מדריך תחלים בהתאמה אישית במערכות NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 (מסמך מס' 10000000139569)	מספק מידע על השימוש בתחלי ריצוף מותאמים אישית במקום בתחלי ריצוף של Illumina.
מדריך להכנת אתר עבור מערכת הריצוף NextSeq 2000 (מסמך מס' 10000000109378)	מתאר את מפרט השטח במעבדה, דרישות החשמל, השיקולים הסביבתיים ושיקולי העבודה ברשת.
עזרה של BaseSpace (help.basespace.illumina.com)	מספקת מידע על השימוש ב-BaseSpace™ Sequence Hub ועל אפשרויות הניתוח הזמינות.
מדריך איגוד מתאמי אינדקס (מסמך מס' 10000000041074)	מספק הוראות בנוגע לאיגוד ואסטרטגיות לניהול אינדקס כפול.
רצפי מתאם של Illumina (מסמך מס' 1000000002694)	מספק רשימות של רצפי המתאם עבור ערכות הכנת ספרייה של Illumina.

חומרת המכשיר

מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 כוללות לחצן הפעלה, צג, שורת סטטוס, תא חומרים מתכלים ויציאות USB.

איור 1 רכיבי מערכת חיצוניים



- A. תא מסנן אוויר—מספק גישה למסנן אוויר הניתן להחלפה.
- B. צג מסך מגע—מאפשר הגדרה וקביעת תצורה במכשיר באמצעות ממשק תוכנת הבקרה.
- C. שורת סטטוס—צבע בהיר המתקדם בהתאם להתקדמות של המערכת בזרימת העבודה שלה. כחול וסגול מציינים אינטראקטיביות (למשל בדיקות לפני הפעלה), וריבוי צבעים מציינים רגעים ונתונים חשובים (למשל השלמה של הריצוף). אור אדום מציינים שגיאות קריטיות.
- D. לחצן הפעלה—שולט בהפעלת המכשיר ומציין אם המערכת דולקת (דולק), כבויה (כבויה), או כבויה אך מחוברת לזרם חילופין (מהבהב).
- E. יציאת USB 3.0—לחיבור כונן נשלף חיצוני לצורך העברת נתונים.
- F. יציאות USB 2.0—לחיבור עכבר ומקלדת.

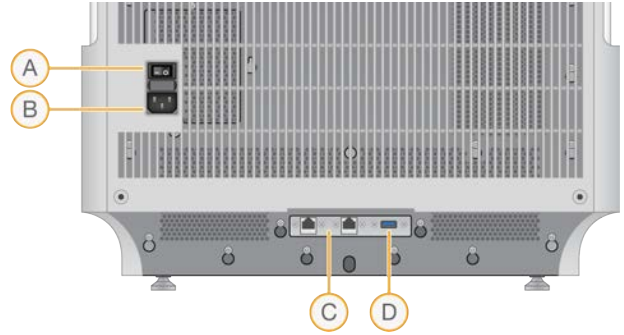
חיבורי חשמל וכלי עזר

באפשרותך להזיז בעדינות את המכשיר כדי לגשת למתג ההפעלה, ליציאת ה-USB ולחיבורי כלי העזר האחרים שבגב המכשיר.

בגב המכשיר נמצאים המתג והשקע אשר שולטים באספקת החשמל למכשיר, ושתי יציאות Ethernet לחיבור Ethernet אופציונלי. יציאת USB 3.0 מאפשרת לחבר כונן נשלף חיצוני לצורך העברת נתונים (מערכת מבוססת-Linux זו אינה תומכת ב-exFAT).

מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 מצוידות בשתי יציאות Ethernet כדי להרכיב את היכולות והגמישות של המערכת. לדוגמה, יציאת Ethernet אחת יכולה להיות מיועדת לתקשורת עם כונן רשת פנימי, והאחרת לתקשורת חיצונית, למשל BaseSpace Sequence Hub או תמיכה של Proactive.

איור 2 רכיבי הפנל האחורי

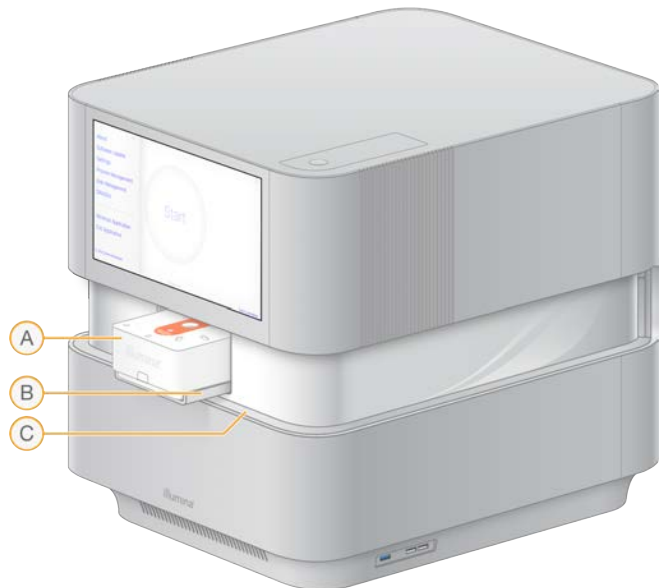


- A. מתג דו-מצבי—הפעלה וכיבוי של אספקת החשמל למכשיר.
- B. שקע אספקת חשמל—חיבור כבל חשמל.
- C. יציאות Ethernet (2)—חיבור אופציונלי לכבל Ethernet.
- D. יציאת USB 3.0—לחיבור כונן נשלף חיצוני לצורך העברת נתונים.

תא חומרים מתכלים

תא החומרים המתכלים מכיל את המחסנית, הכוללת את תא הזרימה וספרייה מדוללת, להפעלת ריצוף.

איור 3 תא חומרים מתכלים טעון



- A. מחסנית—מכילה את תא הזרימה, הספרייה והמגיבים, ואוספת מגיבים משומשים במהלך ההפעלה.
- B. מגש—מחזיק את המחסנית במהלך ריצוף.

C. כיסוי מגן—נפתח כדי לאפשר גישה לתא החומרים המתכלים.

התוכנה המשולבת

חבילת תוכנות המערכת כוללת יישומים משולבים אשר מבצעים הפעלות ריצוף וניתוח.

- תוכנת ההפעלה של **NextSeq 1000/2000**—שולטת בפעולות המכשיר ומספקת ממשק לקביעת התצורה של המערכת, להגדרת הפעלת ריצוף ולניטור סטטיסטיקת ההפעלה במקביל להתקדמות הריצוף.
 - **Real-Time Analysis (RTA3)**—מבצע ניתוח תמונה וקישור בין בסיסים במהלך ההפעלה. לקבלת מידע נוסף ראה [פלט ריצוף בעמוד 49](#).
 - **Universal Copy Service**—מעתיק קובצי פלט של ריצוף מתיקיית ההפעלה אל BaseSpace Sequence Hub (אם רלוונטי) ולתיקיית הפלט, שדרכה תוכל לגשת אליהם.
- תוכנת הבקרה היא אינטראקטיבית ומפעילה תהליכים המתבצעים אוטומטית ברקע. Real-Time Analysis ו-Universal Copy Service מפעילים תהליכים ברקע בלבד.

מידע מערכת

בחר בתפריט תוכנת הבקרה בפניה השמאלית העליונה כדי לפתוח את המקטע About (אודות). המקטע About (אודות) כולל את פרטי ההתקשרות של Illumina ואת המידע הבא על המערכת:

- המספר הסידורי של המכשיר
- שם המחשב
- גרסת חבילת המערכת
- גרסת מערכת ההפעלה שנלכדה בתמונה
- ספירת ההפעלות הכוללת

הודעות והתראות

סמל ההודעות נמצא בפניה הימנית העליונה. במקרה של שגיאה או אזהרה, הפנל הימני מוסט החוצה כדי לציין שיש הודעות. בכל רגע שהוא תוכל לבחור בסמל כדי להציג רשימת הודעות על אזהרות ושגיאות, מעכשיו או מהעבר.

- אזהרות מצריכות תשומת לב, אולם לא עוצרות הפעלה או מחייבות פעולה מעבר לאישור.
- שגיאות מחייבות לבצע פעולה לפני התחלת הפעלה או התקדמות בה.

מזעור תוכנת הבקרה

מזער את תוכנת הבקרה כדי לגשת ליישומים אחרים. לדוגמה, כדי לנווט אל תיקיית הפלט ב-File Explorer (סייר הקבצים) או כדי לחפש גיליון דגימה.

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Minimize Application** (מזער יישום). תוכנת הבקרה מוזערה.

2. כדי להגדיל את תוכנת הבקרה, בחר **NextSeq 1000/2000 Control Software** (תוכנת הבקרה של NextSeq) בסרגל הכלים.

ניהול תהליך

המסך Process Management (ניהול תהליך) מציג הפעלות זמניות אשר מאוחסנות תחת `usr/local/illumina/runs/`. לכל אחת מהפעלות יש תאריך, שם ומזהה אשר משמשים לזיהויה. בנוסף מוצגים פרטים על כל הפעלה, למשל סטטוס ההפעלה, ניתוח משני, תיקיית פלט, וענן. בחר את ההפעלה כדי להציג מידע נוסף, לרבות זרימת עבודה, ממוצע % Q30, סה"כ קריאות PF, ותפוקה כוללת. למחיקת הפעלות ופינוי מקום ראה [פינוי שטח בדיסק הקשיח בעמוד 67](#) כדי להציב בתור מחדש את הניתוח במכשיר, ראה [הצבת הפעלה בתור מחדש בעמוד 73](#).

סטטוס ההפעלה

מקטע זה מציג את הסטטוס של הפעלת ריצוף:

- **In Progress** (מתבצע)—הפעלת ריצוף מתבצעת.
- **Complete** (הושלם)—הפעלת הריצוף הושלמה.
- **Stopped** (נעצר)—הפעלת הריצוף נעצרה.
- **Errored** (שגיאה)—יש שגיאה בהפעלת הריצוף.

סטטוס ניתוח משני

מקטע זה מציג את המצב של ניתוח משני של DRAGEN במכשיר. אם מתבצע ניתוח ב-BaseSpace Sequence Hub, יוצג הכיתוב N/A (לא ישים).

- **Not Started** (לא החל)—ניתוח DRAGEN עדיין לא החל.
- **In Progress** (מתבצע)—ניתוח DRAGEN מתבצע.
- **Stopped** (נעצר)—ניתוח DRAGEN נעצר.
- **Errored** (שגיאה)—יש שגיאה בניתוח DRAGEN.
- **Complete** (הושלם)—ניתוח DRAGEN הושלם.

סטטוס תיקיית הפלט

מקטע זה מציג את סטטוס הקבצים שמועתיקים לתיקיית הפלט:

- **In Progress** (מתבצע)—הקבצים מועתיקים לתיקיית הפלט.
- **Complete** (הושלם)—הקבצים הועתיקו בהצלחה לתיקיית הפלט.

סטטוס הענן (BaseSpace Sequence Hub)

מקטע זה מציג את סטטוס הקבצים אשר מועלים אל BaseSpace Sequence Hub דרך הענן:

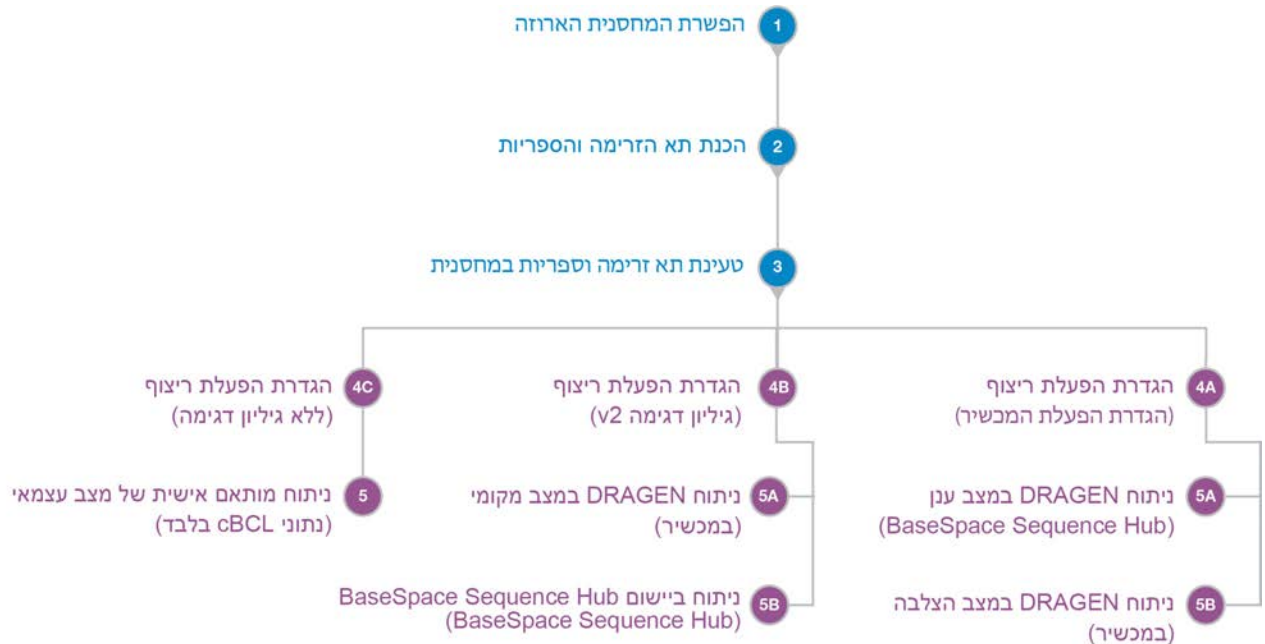
- **In Progress** (מתבצע)—תוכנת הבקרה מעלה קבצים אל BaseSpace Sequence Hub.
- **Complete** (הושלם)—הקבצים הועלו בהצלחה אל BaseSpace Sequence Hub.

פתרון בעיית סטטוס

- אם ההפעלה מתבצעת, סגור את המסך Process Management (ניהול תהליך), המתן כחמש דקות, ואז פתח מחדש.
- אם ההפעלה לא מתבצעת, הפעל מחדש את המכשיר ואז פתח מחדש את המסך Process Management (ניהול תהליך). ראה [הפעלה מחדש של המכשיר בעמוד 74](#).

תרשים פרוטוקול ריצוף

התרשים הבא מדגים את פרוטוקול הריצוף באמצעות NextSeq 1000/2000.



כיצד פועל הריצוף

במערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000, הריצוף מורכב מיצירת אשכולות, ריצוף וניתוח. כל אחד מהשלבים מתרחש אוטומטית במהלך הפעלת הריצוף. בתלות בתצורת המערכת, מתבצע ניתוח נוסף מחוץ למכשיר אחרי שהפעלה הושלמה.

יצירת אשכולות

ספריה¹ עוברת דנטורציה לגדילים יחידים באופן אוטומטי ודילול נוסף כשהיא במכשיר. במהלך יצירת אשכולות, מולקולות DNA יחידות נקשרות לפני השטח של תא הזרימה ומוגברות כדי ליצור אשכולות². יצירת אשכולות נמשכת כ-4 שעות.

ריצוף

הדמיה של האשכולות נוצרת באמצעות כימיית שני ערוצים - ערוץ אחד ירוק וערוץ אחד כחול, כדי לקודד נתונים עבור ארבעת הנוקלאוטידים. אחרי שבוצעה הדמיה של אריח אחד בתא הזרימה, מתבצעת הדמיה של האריח הבא. התהליך חוזר על עצמו עבור כל מחזור ריצוף (כ-5 דקות לכל מחזור). לאחר ניתוח ההדמיה, תוכנית הניתוח בזמן אמת מבצעת קישור בין בסיסים³, סינון ומתן ציון איכות⁴.

ניתוח ראשי

עם התקדמות ההפעלה, תוכנת הבקרה מעבירה אוטומטית את קובצי הקישורים בין הבסיסים⁵ (*.cbcl) לתיקייה שנקבעה כפלט לצורך ניתוח נתונים. במהלך הפעלת הריצוף, תוכנת הניתוח בזמן אמת (RTA3) מבצעת פעולות ניתוח תמונה, קישור בין בסיסים ופילוג⁶. לאחר השלמת הריצוף מתחיל ניתוח משני. שיטת ניתוח הנתונים המשני תלויה ביישום ובתצורת המערכת שלך.

ניתוח משני

BaseSpace Sequence Hub היא סביבת מחשוב הענן של Illumina, המשמשת לניטור הפעלה, ניתוח נתונים, אחסון ושיתוף פעולה. היא מארחת את היישומים DRAGEN ו-BaseSpace Sequence Hub, אשר תומכים בשיטות ניתוח נפוצות לצורך ריצוף.

אחרי שניתוח הריצוף הראשוני מסתיים, DRAGEN מבצע ניתוח משני באמצעות אחד מצינורות הניתוח הזמינים.

כאשר משתמשים במצב ענן או במצב היברידי, DRAGEN מאחזר קובצי גיליון דגימה, גנום ייחוס והפעלת קלט מתוך הגדרות הפעלת המכשיר ב-BaseSpace Sequence Hub. במצב ענן, נתוני ה-cBCL מועלים אוטומטית אל BaseSpace Sequence Hub, ו-BaseSpace Sequence Hub מתחילה ניתוח משני ב-DRAGEN. במצב היברידי, הניתוח המשני ב-DRAGEN מתבצע במכשיר, ואת קובצי הפלט ניתן לאחסן בתיקייה שנבחרה או בענן.

כאשר משתמשים במצב מקומי, DRAGEN מאחזר את קובצי גיליון הדגימה, גנום הייחוס וקלט הפעלה מתוך מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000. הניתוח המשני ב-DRAGEN מתבצע במכשיר, וקובצי הפלט

¹דגימת DNA או RNA עם מתאמים מצורפים לצורך ריצוף. שיטות ההכנה משתנות.

²קבוצה שבטית של גדילי DNA בתא זרימה שמייצרים קריאת רצף אחת. כל גדילי DNA בתא הזרימה זורע תבנית שמשוכפלת עד שהאשכול מורכב ממאות או מאלפי עותקים. לדוגמה, תא זרימה עם 10,000 אשכולות מייצר 10,000 קריאות יחידות או 20,000 קריאות של קצוות משויכים.

³קביעת בסיס (A, C, G או T) לכל אשכול באריח במחזור ספציפי.

⁴מחשב סדרה של גורמי חיזוי איכות עבור כל קריאת בסיס, ואז משתמש בערך גורם החיזוי לחיפוש ציון Q.

⁵מכיל את קריאת הבסיס וציון האיכות המשויך של כל אשכול של כל מחזור ריצוף.

⁶תהליך ניתוח שמבחין בין קריאות עבור כל ספרייה במאגר.


מאוחסנים בתיקיית פלט שנבחרה. אם נבחרה האפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive), ניטור הפעלה ואחסון), לאחר השלמת הריצוף ניתן לאתחל את הניתוח גם דרך היישומים של BaseSpace Sequence Hub.

אם אתה משתמש במצב עצמאי, הגדר הפעלה ללא גיליון דגימה. זרימת עבודה זו מומלצת עבור זרימות עבודה של ניתוח מותאם אישית שמתחילות מנתוני cBCL.

- לקבלת מידע נוסף על BaseSpace Sequence Hub, ראה [העזרה המקוונת של BaseSpace Sequence Hub](#).
- לקבלת מידע נוסף על DRAGEN, עיין בדף התמיכה של [פלטפורמת DRAGEN Bio-IT](#).
- לסקירה כללית של כל היישומים, ראה [יישומי BaseSpace](#).

תצורת המערכת

סעיף זה מספק הוראות על הגדרת המערכת, וכן תיאורים של הגדרות התוכנה. בראש ובראשונה הוראות אלו מתארות את תוכנת הבקרה, בתוספת מידע על הגדרת תצורת הרשת ומערכת ההפעלה.

 השימוש ב-Google Chrome במכשיר ינחה אותך לבטל את הנעילה של מחזיק המפתחות עם פרטי ההתחברות. באפשרותך להתעלם מההנחיה ולבטל אותה באופן בטוח.

דרישות חשבון המשתמש

למערכת ההפעלה Linux שלושה סוגי חשבונות:

- בסיס (משתמש-על המשמש כמנהל מערכת)
- ilmnadmin (מנהל מערכת)
- ilmnuser (משתמש)

חשבון משתמש המערכת מיועד רק להחלה של עדכוני מערכת, למשל עדכון תוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000, או לשימוש של צוות ה-IT לצורך טעינת כונן רשת קבוע. את כל שאר הפונקציות, לרבות ריצוף, יש לבצע מחשבון המשתמש.

דרישות סיסמה

טכנאי השירות בשטח יזום החלפת סיסמה בכל שלושת החשבונות לאחר השלמת התקנה של המכשיר. עדכן כל אחת מהסיסמאות בכל 180 יום, כשתקבל הנחיה לכך.

טבלה 1 מדיניות ברירת מחדל בנושא סיסמאות

מדיניות	הגדרה
אכיפת היסטוריית סיסמה	המערכת זוכרת חמש סיסמאות
סף לנעילת חשבון	עשרה ניסיונות התחברות שלא הצליחו
אורך סיסמה מינימלי	עשרה תווים
גיוון תווים מינימלי	שלושה מכל אחת מהקטגוריות הבאות: מספר, אות רישית, אות קטנה, סמל
מספר מרבי של תווים שחוזרים על עצמם	שלושה תווים
הסיסמה חייבת לעמוד בדרישות מורכבות	לא זמין
אחסון סיסמאות באמצעות הצפנה הפיכה	לא זמין

הוספת משתמש חדש

1. התחבר אל ilmnadmin.
 2. בחר בלחצן ההפעלה ולאחר מכן פתח את התפריט הנפתח ilmnadmin.
 3. בחר **Account Settings** (הגדרות חשבון).
 4. בחר **Unlock** (שחרר נעילה), ולאחר מכן הזן את הסיסמה של ilmnadmin.
 5. בחר **Add User** (הוסף משתמש).
 6. בחר בסוג החשבון Standard (רגיל), ולאחר מכן הזן שם משתמש חדש.
 7. בחר **Set password now** (הגדר סיסמה כעת) והזן סיסמה.
 8. בחר **Add** (הוסף).
- המשתמש החדש נוסף לרשימת המשתמשים.
9. תן למשתמש גישה לתוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000 באופן הבא.
 - a. פתח את המסוף.
 - b. הזן את הפרטים הבאים:
`sudo usermod -a -G ilmnusers $ <שם משתמש חדש>`
 - c. אם תונחה לעשות זאת, הזן את הסיסמה של ilmnadmin.
 10. כדי לאשר שהרשאות המשתמש הוגדרו בהצלחה, בצע את הפעולות הבאות.
 - a. התחבר לחשבון המשתמש החדש.
 - b. נווט לתוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000.
 - c. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
 - d. תחת תיקיית הפלט המוגדרת כברירת מחדל, ודא שבאפשרותך לבחור ולשמור את נתיב תיקיית הפלט. אם באפשרותך לבחור ולשמור את נתיב תיקיית הפלט ללא שגיאות, ההרשאות הוגדרו בהצלחה.

איפוס סיסמה

סעיף זה מפרט כיצד לאפס את הסיסמה של חשבון ilmnadmin, ilmnuser או בסיס. שחזור סיסמה אינו זמין. איפוס הסיסמה שלך אינו עוקף נעילה מחוץ לחשבון לאחר מספר רב מדי של ניסיונות הזנת סיסמה שגויה. עליך להמתין 10 דקות לפני שתוכל לאפס את סיסמתך או לנסות להתחבר.

איפוס סיסמת ilmnuser

באפשרותך לאפס את הסיסמה של חשבון ilmnuser אם אתה יודע את הסיסמה לחשבונות ה-ilmnadmin או הבסיס.

1. התחבר אל ilmnadmin.
2. פתח את המסוף.
3. הזן `sudo passwd ilmnuser`.
4. הזן את הסיסמה של ilmnadmin כאשר תופיע הנחיה.
5. הזן את הסיסמה החדשה של ilmnuser כשתופיע הנחיה.

6. הקלד מחדש את הסיסמה החדשה של ilmnuser כשתופיע הנחיה כדי לאשר את הסיסמה החדשה.

איפוס סיסמת ilmnadmin

באפשרותך לאפס את הסיסמה של חשבון ilmnadmin אם אתה יודע את הסיסמה לחשבון הבסיס.

1. התחבר לחשבון הבסיס.
2. פתח את המסוף.
3. הזן `passwd ilmnadmin` כדי לשנות את הסיסמה של ilmnadmin, או `passwd ilmnuser` כדי לשנות את הסיסמה של ilmnuser.
4. הזן את הסיסמה החדשה כשתקבל הנחיה לכך.
5. הקלד מחדש את הסיסמה החדשה לפי ההנחיה, כדי לאשר את הסיסמה החדשה.

איפוס סיסמת חשבון הבסיס

כדי לאפס את הסיסמה של חשבון הבסיס השתמש באחת מהאפשרויות הבאות:

- אם אתה יודע מה הייתה הסיסמה בעת לכידת תמונת מערכת ההפעלה האחרונה, שחזר בהתאם לתמונה שנשמרה.
- אם אינך זוכר את הסיסמה, פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.

קביעת התצורה של BaseSpace Sequence Hub והתמיכה של Proactive

השתמש בהוראות הבאות כדי לקבוע את התצורה של BaseSpace Sequence Hub ושל התמיכה של Proactive. כדי להגדיר חשבון BaseSpace Sequence Hub, ראה [העזרה המקוונת של BaseSpace Sequence Hub](#).

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
2. להגדרות של BaseSpace Sequence Hub ושל התמיכה של Proactive, בחר אחת מהאפשרויות הבאות:

אפשרות	תיאור ודרישות
Proactive Support Only (תמיכה של Proactive בלבד)*	שליחת נתוני ביצועים של מכשיר אל Illumina לפתרון בעיות מהיר. מצריכה חיבור לאינטרנט.
Proactive and Run Monitoring (Proactive) וניטור הפעלה	שליחת קובצי InterOp ויומן אל BaseSpace Sequence Hub לצורך ניטור הפעלה מרחוק. אפשרות זו מוגדרת כברירת מחדל. מצריכה חשבון BaseSpace Sequence Hub וחיבור לאינטרנט.
Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive) ניטור הפעלה ואחסון	שליחת קובצי InterOp, קובצי יומן ונתוני הפעלה אל BaseSpace Sequence Hub לצורך ניטור וניתוח מרחוק. מצריכה חשבון BaseSpace Sequence Hub, חיבור לאינטרנט וגיליון דגימה.

אפשרות	תיאור ודרישות
None (ללא)	ניתוק הפעלות מחשבונות BaseSpace Sequence Hub ללא שליחת נתונים על ביצועי מכשיר לתמיכה של Illumina Proactive.

* בתלות בגרסת תוכנת הבקרה, השם של הגדרה זו בממשק התוכנה עשוי להיות שונה מהשם המופיע במדריך זה. כאשר נבחרת אפשרות שאינה None (ללא), התמיכה של Proactive מופעלת. זהו שירות ללא תשלום אשר מאפשר לך להציג את נתוני הביצועים שלך בלוח המחוונים של לקוח Myllumina, ומאפשר לצוותי השירות של Illumina לפתור בעיות מהר יותר.

האפשרויות Proactive וניטור הפעלה מופעלות כברירת מחדל. כדי לבטל את ההצטרפות לשירות זה, בחר None (ללא).

3. אם בחרת באפשרות None (ללא) בשלב 2, בחר **Save** (שמור) לסיום. אם לא, המשך לשלב 6.
4. ברשימת מיקום האירוח, בחר את המיקום של שרת ה-BaseSpace Sequence Hub שאליו מועלים הנתונים. הקפד להשתמש במיקום האירוח שנמצא באזורך, או בזה הקרוב ביותר לאזורך.
5. אם ברשותך מינוי Enterprise, הזן את שם התחום (כתובת URL) אשר משמש לחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך. לדוגמה: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
6. בחר **Save** (שמור).

ציון מיקום תיקיית הפלט המשמש כברירת מחדל

השתמש בהוראות שבמקטע זה כדי לבחור מיקום ברירת מחדל לתיקיית פלט. תוכל לשנות את תיקיית הפלט של כל הפעלה במהלך הגדרת ההפעלה. התוכנה שומרת קובצי cBC¹ ונתוני הפעלה אחרים בתיקיית הפלט. נדרשת תיקיית פלט, אלא אם התצורה של BaseSpace Sequence Hub מוגדרת לביצוע Proactive, ניטור הפעלה ואחסון. השתמש רק בכונן חיצוני או בכונן רשת בתור תיקיית הפלט המשמשת כברירת מחדל. שימוש שלילי בתיקיית הפלט במכשיר משפיע לרעה על הפעלת הריצוף.

ציון כונן חיצוני כתיקיית פלט

- השתמש בהוראות הבאות כדי לבחור כונן נייד חיצוני כתיקיית הפלט שתשמש כברירת מחדל. מומלץ להשתמש בכונן בעל אספקת חשמל עצמאית אשר עבר פירמוט ל-NFTS או GPT/EXTA.
1. חבר כונן נייד חיצוני לאחת מיציאות ה-USB 3.0 שבצד או בגב המכשיר.

ודא שיש הרשאות כתיבה לכונן הנייד החיצוני. אם הוא מוגדר לקריאה בלבד, תוכנת הבקרה לא תוכל לשמור בו נתונים.
 2. צור תיקייה חדשה בכונן הנייד החיצוני. התיקייה תהפוך למיקום תיקיית הפלט שתשמש כברירת מחדל. כדי שתוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 תזהה את המיקום בתור כונן נייד חיצוני דרושות לה לפחות שתי רמות של תיקיות מקוננות.

¹מכיל את קריאת הבסיס וציון האיכות המשויך של כל אשכול של כל מחזור ריצוף.

3. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
4. תחת תיקיית הפלט שנקבעה כברירת מחדל, בחר את נתיב התיקייה הקיים ונווט לתיקייה החדשה בכונן הנייד החיצוני.
5. [אופציונלי] אם בחרת **Online Run Setup** (הגדרת הפעלה מקוונת) תחת Run Mode (מצב הפעלה), בחר אפשרות בתפריט הנפתח של מיקום האירוח.
6. בחר **Save** (שמור).

ציון תיקיית פלט שתשמש כברירת מחדל בכונן רשת

השתמש בהוראות הבאות כדי לטעון כונן רשת קבוע ולציין את מיקום תיקיית הפלט שישמש כברירת מחדל. Server הנתמכות היחידות לטעינה קבועה של כונן רשת ב-NextSeq 1000/2000.

הוראות טעינת SMB/CIFS

1. אם תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 פתוחה, בחר **Minimize Application** (מזער יישום).
2. התחבר אל ilmnadmin.
3. בחר **Applications** (יישומים).
4. תחת Favorites (מועדפים), בחר **Terminal** (מסוף).
5. הזן `sudo touch /root/.smbcreds`, ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).
6. הזן את סיסמת ilmnadmin כאשר תבקש לעשות זאת. הסיסמה של ilmnadmin נדרשת בכל פעם שאתה משתמש בפקודת `sudo`.
7. הזן `sudo gedit /root/.smbcreds`, ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן) כדי לפתוח את קובץ הטקסט ששמו `.smbcreds`.
8. כשיפתח קובץ הטקסט `.smbcreds`, הזן את אישורי ההתחברות שלך לרשת, בתבנית הבאה.


```
username=<user name>
password=<password>
domain=<domain_name>
```
9. סימני הסוגריים אינם נדרשים באישורי שם המשתמש, הסיסמה והתחום. אישור התחום נדרש רק כאשר החשבון המרוחק הוא חלק מתחום. בחר **Save** (שמור) וצא מהקובץ.
10. זהה את שם השרת ושם השיתוף עבור שרת ה-SMB/CIFS שלך. שם השרת ושם השיתוף לא יכולים לכלול תווי רווח, לדוגמה: שם שרת: 192.168.500.100 או Myserver-myinstitute-03 שם שיתוף: share1/
11. במסוף, הזן `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן) כדי להעניק גישת קריאה לקובץ הטקסט `.smbcreds`.
12. הזן `sudo mkdir /mnt/<local name>`.

<local name> הוא שם הספרייה החדש בכונן הרשת שלך, והוא יכול לכלול תווי רווח. זוהי הספרייה שתופיע במכשיר.

13. בחר **Enter** (הזן).

14. הזן `sudo gedit /etc/fstab` ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

15. כשהקובץ `fstab` ייפתח, הזן את הכיתוב הבא בסוף הקובץ, ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

```
//<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. בחר **Save** (שמור) וצא מהקובץ.

17. במסוף, הזן `sudo mount -a -vvv` ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

כונן הרשת טעון כעת בתור <mnt/<local name>.

18. כדי לאשר שהטעינה הצליחה, הזן `<df | grep <local name>>` ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

שם שיתוף הקבצים צריך להופיע.

19. הזן `sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>` כדי ליצור תיקיית משנה בתוך הספרייה

המקומית. <output directory> מייצגת את מיקום תיקיית הפלט שלך שנקבע כברירת מחדל.

כדי שתוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 תזהה את המיקום בתור כונן רשת שנטען, דרושות לה לפחות שתי רמות של תיקיות מקוננות.

20. הפעל מחדש את המכשיר. ראה [הפעלה מחדש של המכשיר בעמוד 74](#).

21. הגדר את כונן הרשת הקבוע שנטען בתור תיקיית הפלט שתשמש כברירת מחדל. ראה [הגדרת כונן הרשת הקבוע](#)

[כתיקייית הפלט שתשמש כברירת מחדל בעמוד 16](#).

הוראות טעינת NFS

1. אם תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 פתוחה, בחר **Minimize Application** (מזער יישום).

2. התחבר אל `ilmnadmin`.

3. זהה את שם השרת עבור שרת ה-NFS שלך.

שם השרת לא יכול לכלול תווי רווח, לדוגמה:

שם שרת: `192.168.500.100` או `Myserver-myinstitute-03`

4. בחר **Applications** (יישומים).

5. תחת **Favorites** (מועדפים), בחר **Terminal** (מסוף).

6. הזן `sudo mkdir /mnt/<local name>` ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

<local name> הוא שם הספרייה החדש בכונן הרשת שלך.

7. הזן `sudo gedit /etc/fstab` ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

8. כשהקובץ `fstab` ייפתח, הזן את הכיתוב הבא ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

```
Server name:/share //mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0
```

9. בחר **Save** (שמור) וצא מהקובץ.

10. במסוף, הזן `sudo mount -a -vvv` ולאחר מכן בחר **Enter** (הזן).

- כונן הרשת טעון כעת ב- `mnt/directory/` בתוך התיקייה `<local name>`.
11. צור `<sub folder>` חדשה בתוך התיקייה `<local name>`. תיקיית המשנה מייצגת את מיקום תיקיית הפלט שלך שנקבע כברירת מחדל.
כדי שתוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 תזהה את המיקום בתור כונן רשת שנטען, דרושות לה לפחות שתי רמות של תיקיות מקוננות.
 12. הפעל מחדש את המכשיר. ראה [הפעלה מחדש של המכשיר בעמוד 74](#).
 13. הגדר את כונן הרשת הקבוע שנטען בתור תיקיית הפלט שתשמש כברירת מחדל. ראה [הגדרת כונן הרשת הקבוע כתיקיית הפלט שתשמש כברירת מחדל בעמוד 16](#).

הגדרת כונן הרשת הקבוע כתיקיית הפלט שתשמש כברירת מחדל

1. התחבר אל `ilmnuser`.
2. בתפריט תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000, בחר **Settings** (הגדרות).
3. תחת תיקיית הפלט שנבחרה כברירת מחדל, בחר את טעינת כונן הרשת הקבוע שממוקם ב- `mnt/<local/` `<name>/<output directory`.
4. [אופציונלי] אם בחרת **Online Run Setup** (הגדרת הפעלה מקוננת) תחת **Run Mode** (מצב הפעלה), בחר אפשרות בתפריט הנפתח של מיקום האירוח.
5. בחר **Save** (שמור).

ייבוא גנומי ייחוס מותאמים אישית

גנומי ייחוס מותאמים אישית חדשים ניתן לייבא רק באמצעות חשבון מנהל המערכת. לקבלת רשימה של כל גנומי הייחוס המתאימים, בקר בדף תאימות המוצרים של NextSeq 1000/2000.

1. צור גנום ייחוס באמצעות היישום **Reference Builder for Illumina Instruments BaseSpace Sequence Hub**. לקבלת מידע נוסף עיין בעזרה המקוונת של היישום *Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0*.
2. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **Process Management** (ניהול תהליך).
3. ודא שבאותו רגע לא מתבצעים ניתוחים משניים או הפעלות ריצוף במכשיר.
4. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Minimize Application** (מזער יישום).
5. התחבר אל `ilmnadmin`.
6. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **DRAGEN**.
7. במקטע **Genome** (גנום), בחר **View Installed Genomes** (הצג את הגנומים המותקנים) כדי להציג רשימה של כל הגנומים המותקנים כעת, של Illumina ומותאמים אישית.
8. סגור את החלון.
9. בחר באפשרות **Choose** (בחירה) תחת **Import New Reference Genomes** (ייבוא גנומי ייחוס חדשים), נווט אל קובץ גנום הייחוס (`*.tar.gz`) בכונן הרשת הנייד או שנטען, ולאחר מכן בחר **Open** (פתח).
10. בחר **Import** (יבא).

ייבוא קובצי בסיס רעש

אם אתה משתמש בזרימת העבודה DRAGEN Enrichment במצב סומטי, באפשרותך להשתמש בקובץ בסיס רעש כדי לסנן רעשי ריצוף או מערכת. תוכל להוריד קובצי רעש מותאמים אישית סטנדרטיים מאתר התמיכה של [Illumina](#), או ליצור קובץ בסיס רעש מותאם אישית.

יצירת קובץ בסיס רעש מותאם אישית

אם אתה משתמש במצב סומטי, באפשרותך ליצור קובץ בסיס רעש מותאם אישית. קובץ בסיס הרעש נבנה באמצעות דגימות נורמליות, אשר אינן תואמות לנבדק שממנו נלקחו הדגימות. מספר הדגימות הנורמליות המומלץ הוא 50.

כדי ליצור קובץ בסיס רעש מותאם אישית, השתמש באחת מהשיטות הבאות:

- שימוש בשרת של פלטפורמת DRAGEN Bio-IT. עיין בעזרה המקוונת של פלטפורמת DRAGEN Bio-IT לקבלת הוראות.
- שימוש ביישום DRAGEN Baseline Builder ב-BaseSpace Sequence Hub. השתמש בצינור המרת ה-BCL ב-Instrument Run Setup (הגדרות הפעלת המכשיר) ב-BaseSpace Sequence Hub כדי ליצור קובצי FASTQ. אחרי שהפעלת הריצוף תושלם ו-50 דגימות יהיו זמינות, הזן את קובצי ה-FASTQ ביישום DRAGEN Baseline Builder.

ייבוא קובצי בסיס באמצעות ממשק המשתמש

אחרי שייבאת את קובץ הבסיס, באפשרותך להגדיר את הפעלת הריצוף באמצעות זרימת העבודה DRAGEN Enrichment במצב סומטי.

1. הורד קובץ בסיס סטנדרטי מאתר התמיכה של [Illumina](#), או הורד את קובץ הבסיס המותאם אישית מהשרת של DRAGEN או מהיישום DRAGEN Baseline Builder.
2. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Minimize Application** (מזער יישום).
3. התחבר אל `ilmnadmin`.
4. בחר **Applications** (יישומים), ולאחר מכן בחר **Favorites** (מועדפים).
5. בחר **Other Locations+** (+מיקומים אחרים), ולאחר מכן בחר **Computer** (מחשב).
6. לחץ לחיצה כפולה על `usr`, ולאחר מכן על `local` (מקומי).
7. לחץ לחיצה כפולה על `illumina`, ולאחר מכן על `aux_files`.
8. גרור את קובץ בסיס הרעש אל `aux_files`.

ייבוא קובצי הבסיס באמצעות מסוף

אחרי שייבאת את קובץ הבסיס, באפשרותך להגדיר את הפעלת הריצוף באמצעות זרימת העבודה DRAGEN Enrichment במצב סומטי.

1. הורד קובץ בסיס סטנדרטי מאתר התמיכה של [Illumina](#), או הורד את קובץ הבסיס המותאם אישית מהשרת של DRAGEN או מהיישום DRAGEN Baseline Builder.
2. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Minimize Application** (מזער יישום).

3. התחבר אל ilmnadmin.
4. בחר **Applications** (יישומים).
5. תחת Favorites (מועדפים), בחר **Terminal** (מסוף).
6. הזן את הפקודה שלהלן.

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

קביעת תצורה של מצב הפעלה

מצב ההפעלה מתייחס לכל ההפעלות וקובע היכן להזין את פרמטרי ההפעלה וכיצד לנתח נתונים.

מצב ענן או מצב היברידי

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
2. בחר **Online Run Setup** (הגדרת הפעלה מקוונת) תחת השירותים של BaseSpace Sequence Hub ותמיכת Proactive.
3. קבע את תצורת ההגדרות הנוספות בהתאם על-ידי בחירת האפשרויות הבאות:
 - a. **Proactive and Run Monitoring (Proactive)** (ניטור הפעלה) או **Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive)** (ניטור הפעלה ואחסון).
 - b. התפריט הנפתח עבור **Hosting Location** (מיקום אירוח).
 - c. [אופציונלי] הזן **Private Domain Name** (שם תחום פרטי).
4. בחר **Save** (שמור).

מצב מקומי או מצב עצמאי

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
2. בחר **Local Run Setup** (הגדרת הפעלה מקומית) תחת השירותים של BaseSpace Sequence Hub ותמיכת Proactive.
3. קבע את תצורת ההגדרות הנוספות בהתאם על-ידי בחירת האפשרויות הבאות:
 - a. **Proactive Support Only** (תמיכה של Proactive בלבד), **Proactive and Run Monitoring (Proactive)** (ניטור הפעלה), או **Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive)** (ניטור הפעלה ואחסון), או **None** (ללא).

BaseSpace Sequence Hub יאפשר את פונקציונליות ההצבה מחדש בתור רק אם נבחרה האפשרות **Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive)** (ניטור הפעלה ואחסון). במקרה של גיליון דגימה לא חוקי, מצב זה יאפשר לך לבצע תיקונים בגיליון הדגימה ולהציב ניתוח פילוג מחדש בתור. עבור פונקציונליות ההצבה מחדש בתור במכשיר, ראה [הצבת הפעלה בתור מחדש בעמוד 73](#).

- b. התפריט הנפתח עבור **Hosting Location** (מיקום אירוח).
- c. [אופציונלי] הזן **Private Domain Name** (שם תחום פרטי).
4. בחר **Save** (שמור).

שיקולי גיליון דגימה עבור מצב מקומי או מצב עצמאי

כדי לנתח עם DRAGEN אתה נדרש להשתמש בגיליון דגימה בתבנית קובץ v2. תבנית הקובץ v2 של גיליון הדגימה תואמת גם ליישומי BaseSpace Sequence Hub שאינם נתמכים ב-DRAGEN. לקבלת מידע על יצירת גיליון דגימה בתבנית הקובץ v2, ראה [הגדרות גיליון דגימה v2 בעמוד 77](#).

התאמה אישית של מכשיר

סעיף זה כולל מידע על קביעת הגדרות ההתאמה האישית הזמינות. כדי להגדיר תיקיית פלט שתשמש כברירת מחדל, ראה [ציון מיקום תיקיית הפלט המשמש כברירת מחדל בעמוד 13](#).

מתן שם למכשיר

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
2. בחר Instrument Nickname (כינוי המכשיר), והזן שם מועדף עבור המכשיר. השם מופיע בחלק העליון של כל מסך.
3. בחר **Save** (שמור).

הגדרת העדפות דנטורציה ודילול

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
 2. בחר אם לבצע דנטורציה ודילול של ספריות באופן אוטומטי כשהספריות בתוך המכשיר. כברירת מחדל מוגדרת האפשרות שבחרת בהפעלה הקודמת.
 - כדי לבצע דנטורציה ודילול של ספריות באופן אוטומטי כשהספרייה במכשיר, סמן את התיבה **Denature and Dilute On Board** (דנטורציה ודילול בתוך המכשיר).
 - כדי לבצע דנטורציה ודילול של ספריות באופן ידני, בטל את הסימון בתיבה **Denature and Dilute On Board** (דנטורציה ודילול בתוך המכשיר).
- לקבלת הוראות על דנטורציה ודילול של ספריות באופן ידני, עיין במדריך דנטורציה ודילול של ספריות ב-*NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000* (מסמך מס' 1000000139235).

הגדרת העדפת ריקון מגיב אוטומטי

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
 2. בחר אם, לאחר כל הפעלה, המערכת תרוקן, באופן אוטומטי, מגיבים שלא היו בשימוש לתוך מכלי המגיבים שנוצלו, כדי לפשט את השלכת פסולת המגיבים לאחר השלמת ההפעלה:
 - כדי לרוקן אוטומטית, סמן את התיבה **Purge Reagent Cartridge** (רוקן מחסנית מגיב).
 - כדי לדלג על הריקון האוטומטי, בטל את הסימון בתיבה **Purge Reagent Cartridge** (רוקן מחסנית מגיב) (זוהי ההגדרה המשמשת כברירת מחדל).
- ריקון המגיבים שלא היו בשימוש מוסיף עד שעתיים לזרימת העבודה.
3. בחר **Save** (שמור).

קביעת תצורה של עדכוני תוכנה

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
2. בחר אם המערכת תבדוק אוטומטית אם קיימים עדכוני תוכנה:
 - כדי לבדוק אוטומטית, סמן את תיבת הסימון **Autocheck for software updates** (בדיקה אוטומטית של עדכוני תוכנה).
 - כדי לבדוק ידנית, בטל את הסימון בתיבה **Autocheck for software updates** (בדיקה אוטומטית של עדכוני תוכנה).
- בדיקה אוטומטית אם קיימים עדכוני תוכנה מחייבת חיבור לאינטרנט. לקבלת מידע נוסף על התקנת עדכוני תוכנה, ראה [עדכוני תוכנה בעמוד 67](#).
3. בחר **Save** (שמור).

שינוי בהירות ה-LCD

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
2. העבר את מחוון בהירות ה-LCD לשיעור הרצוי.
3. בחר **Save** (שמור).

הגדרת שרת Proxy

תמיכה בשרת Proxy זמינה רק בגרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000.

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Settings** (הגדרות).
2. בחר את הגדרות ה-Proxy הנוכחיות כדי לפתוח את המסך Proxy Settings (הגדרות Proxy).
3. סמן את תיבת הסימון **Enable Proxy** (הפוך Proxy לזמין), ולאחר מכן הזן את כתובת יציאת ה-IP של השרת.
4. [אופציונלי] אם שרת ה-Proxy מצריך אימות, סמן את תיבת הסימון **Requires Username and Password** (מצריך שם משתמש וסיסמה), ולאחר מכן הזן את שם המשתמש והסיסמה.
5. בחר **Save** (שמור) כדי לשמור ולאמת את פרטי ה-Proxy.
6. בחר אחת מהאפשרויות הבאות:
 - בחר **Yes, I'm Finished** (כן, סיימתי) כדי להפעיל מחדש את המערכת ולהחיל את הגדרות ה-Proxy החדשות.
 - בחר **No, Take Me Back** (לא, החזר אותי אחורה) כדי לחזור למסך Settings (הגדרות). הגדרות ה-Proxy החדשות נשמרות, אולם הן יוחלו רק אחרי שתפעיל מחדש את המערכת.

חומרים מתכלים וציוד

בסעיף זה מתוארים כל הפריטים המגיעים בערכת המגיבים, ותנאי האחסון. תוכל גם לראות מהם החומרים המתכלים והציוד הנלווה שעליך לרכוש כדי להשלים את הפרוטוקול ולבצע את הליכי התחזוקה ופתרון הבעיות.


חומרים מתכלים לריצוף

הריצוף ב-NextSeq 1000/2000 מצריך ערכת מגיבי Illumina NextSeq 1000/2000 P2 לשימוש חד-פעמי או ערכת מגיבי Illumina NextSeq 1000/2000 P3 לשימוש חד-פעמי. ערכת המגיבים NextSeq 1000/2000 P2 זמינה בשלושה גדלים (100 מחזורים, 200 מחזורים ו-300 מחזורים), וערכת המגיבים NextSeq 1000/2000 P3 זמינה בארבעה גדלים (50 מחזורים, 100 מחזורים, 200 מחזורים ו-300 מחזורים).

מערכת הריצוף NextSeq 1000 תואמת רק לערכת המגיבים Illumina NextSeq 1000/2000 P2.

ערכת המגיבים מספקת את המחסנית ואת תא הזרימה לצורך ריצוף. כשאתה מקבל את המגיבים של NextSeq 1000/2000 P2 או את ערכת המגיבים Illumina NextSeq 1000/2000 P3:

- אחסן בהקדם את הרכיבים בטמפרטורות שצוינו כדי להבטיח ביצועים הולמים.
- אל תפתח אף אחת משקיות האלומיניום הכסופות עד שתונחה לעשות זאת.
- אחסן את המחסניות באריזותיהן כדי להימנע מקריעה או מניקוב של שקית האלומיניום.
- אחסן את המחסניות כאשר החצים שעליהן מצביעים כלפי מעלה.

אם תוויית של מחסנית לא תפנה כלפי מעלה, תיתכן השפעה שלילית על נתוני הריצוף. 

טבלה 2 רכיבי הערכה

חומר מתכלה	כמות	טמפרטורת אחסון	ממדים
מחסנית	1	-25°C עד -15°C	29.2 ס"מ × 17.8 ס"מ × 12.7 ס"מ (11.5 אינץ' × 7 אינץ' × 5 אינץ')
תא זרימה	1	2°C עד *8°C	21.6 ס"מ × 12.7 ס"מ × 1.9 ס"מ (8.5 אינץ' × 5 אינץ' × 0.75 אינץ')
RSB עם Tween 20	1	-25°C עד -15°C	4 ס"מ × 6.6 ס"מ × 5 ס"מ (1.6 אינץ' × 2.6 אינץ' × 2 אינץ')

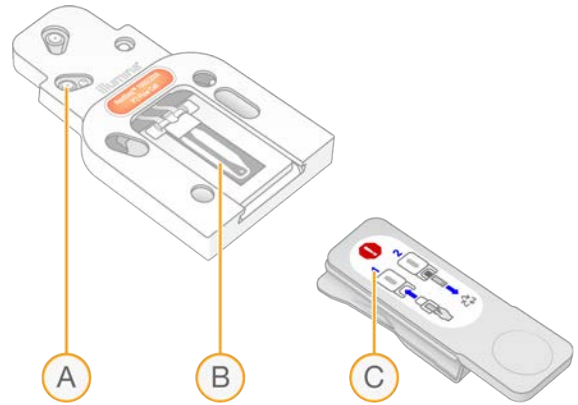
*משלוח בטמפרטורת החדר.

לשני החומרים המתכלים יש מזהים למעקב ולהבטחת תאימות. המחסנית ותא הזרימה משתמשים ב-RFID¹.

¹זיהוי תדר רדיו

תא זרימה

תא הזרימה הוא תא זרימה בעל מסלול יחיד ותבניות. תא הזרימה עם בסיס הזכוכית נתון בתוך מחסנית פלסטיק. לשונית אפורה מכסה את תא הזרימה ובולטת ממנו כדי שניתן יהיה לטפל בו בצורה בטיחותית.

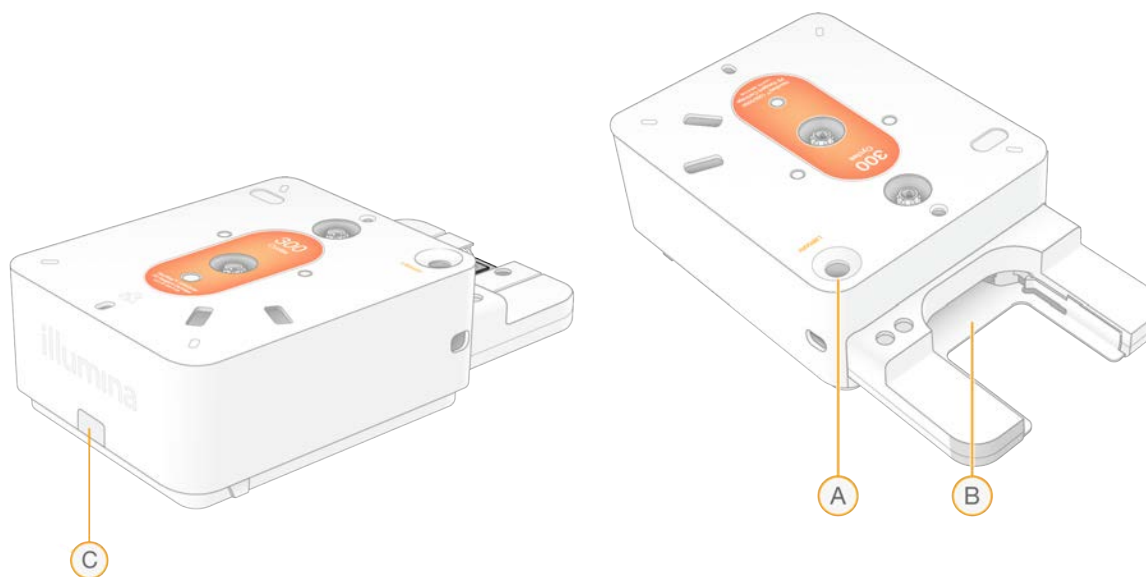


- A. מחסנית פלסטיק
- B. תא זרימה
- C. לשונית אפורה

פני השטח הפנימיים של תא הזרימה מכוסים במיליוני ננו-פתחים. האשכולות נוצרים בננו-פתחים, שמתוכם מתבצעת לאחר מכן תגובת הריצוף. המערך בעל התבניות של הננו-פתחים מגדיל את קריאות הפלט והנתונים.

מחסנית

מחסנית המגיב של הריצוף מולאה מראש במגיבים של הכנת אשכולות, ריצוף, קצה משויך ויצירת אינדקס. מכל האטום ברדיד אלומיניום שמור עבור ספריות, וחריץ בחלק הקדמי שמור עבור תא הזרימה.



- A. מכל ספרייה
- B. חריץ תא הזרימה
- C. פקק ניקוז

המחסנית מכילה את כל החומרים המתכלים הנדרשים להפעלה: מגיבים, ספרייה, ותא זרימה. הספרייה ותא הזרימה נטענים לתוך המחסנית שהופשרה, שלאחר מכן נטענת לתוך המכשיר. אחרי שמתחילה ההפעלה, המגיבים והספרייה מועברים אוטומטית מהמחסנית אל תא הזרימה.

המחסנית כוללת משאבות, שסתומים, ואת כל הפלואידיקה למערכת, לרבות מכל בצדה התחתון המשמש לאיסוף מגיבים משומשים. את המחסנית משליכים לאחר הפעלה, ולכן אין צורך בשטיפות של המכשיר.

מספר המחזורים הנתמך

התווית שעל המחסנית מציינת כמה מחזורים מנותחים, ולא כמה מחזורים מבוצעים. תא הזרימה תואם לכל מספר של מחזורים ולכל סוג קריאה.

כל המחסניות של 100 מחזורים ו-200 מחזורים כוללות 38 מחזורים נוספים. המחסנית של 300 מחזורים כוללת 27 מחזורים נוספים. לדוגמה, המחסנית של 300 מחזורים כוללת מגיבים שסיפיקו לעד 327 מחזורי ריצוף. לקבלת מידע על מספר המחזורים שיש לרצף, ראה [מספר מחזורים בקריאה בעמוד 28](#).

תיאורי הסמלים

הטבלה הבאה מתארת את הסמלים המופיעים על החומרים המתכלים או אריזות החומרים המתכלים.

סמל	תיאור
	תאריך התפוגה של החומר המתכלה. להשגת תוצאות מיטביות השתמש בחומרים המתכלים לפני תאריך זה.
	מציין את היצרן (Illumina).
	השימוש הייעודי הוא שימוש מחקרי בלבד (RUO, Research Use Only).
	מציין את מספר החלק כדי שניתן יהיה לזהות את החומר המתכלה. ¹
	מציין את קוד האצווה כדי לזהות את האצווה או המנה שבהם החומר המתכלה יוצר. ¹
	מציין סיכון בריאותי.
	טווח טמפרטורות אחסון במעלות צלזיוס. אחסן את החומר המתכלה בטווח שצוין. ²

חומרים מתכלים נלווים

קנה את החומרים המתכלים הבאים לצורך ריצוף ותחזוקה.

חומרים מתכלים לריצוף

טבלה 3 חומרים מתכלים לריצוף

מטרה	ספק	חומר מתכלה
מטרה כללית.	ספק מעבדה כללי	כפפות חד-פעמיות, ללא אבקה
מספקת את מחסנית המגיב, תא הזרימה ו- RSB של NextSeq 1000/2000 עם Tween 20 להפעלה אחת. תואמת ל- NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000.	Illumina: מס' קטלוגי 20046811 (100 מחזורים) מס' קטלוגי 20046812 (200 מחזורים) מס' קטלוגי 20046813 (300 מחזורים)	ערכת מגיבים של NextSeq 1000/2000 P2 (v3)
מספקת את מחסנית המגיב, תא הזרימה ו- RSB של NextSeq 1000/2000 עם Tween 20 להפעלה אחת. תואמת ל- NextSeq 2000 בלבד.	Illumina: מס' קטלוגי 20046810 (50 מחזורים) מס' קטלוגי 20040559 (100 מחזורים) מס' קטלוגי 20040560 (200 מחזורים) מס' קטלוגי 20040561 (300 מחזורים)	ערכת מגיבים של NextSeq 2000 P3
דילול ספריית לריכוז הטעינה.	Fisher Scientific, מק"ט -14-222-158 או שווה-ערך	מבחנות Microtube, 1.5 מ"ל
דילול ספריית.	ספק מעבדה כללי	קצוות לפיפטות, 10 µl
דילול וטעינת ספריית.	ספק מעבדה כללי	קצוות לפיפטות, 20 µl
דילול ספריית.	ספק מעבדה כללי	קצוות לפיפטות, 200 µl
ניקוב רדיד האלומיניום של מכל הספרייה.	ספק מעבדה כללי	קצוות לפיפטות, 1000 µl
ביצוע הפעלת PhiX-בלבד או עלייה פתאומית ב-PhiX לבקרה.	Illumina, מק"ט FC-110-3001	PhiX Control v3 [אופציונלי]
ייבוש המחסנית אחרי אמבט מים.	ספק מעבדה כללי	[אופציונלי] מגבות נייר

חומרים מתכלים לתחזוקה

טבלה 4 חומרים מתכלים לתחזוקה

מטרה	ספק	חומר מתכלה
מטרה כללית.	ספק מעבדה כללי	כפפות חד-פעמיות, ללא אבקה
החלפת מסנן האוויר אחת לשישה חודשים.	20029759 ט"מק"ט, Illumina	החלפת מסנן האוויר של *NextSeq 1000/2000

* המכשיר מסופק עם יחידה אחת מותקנת ואחת חרבית. אם המכשיר אינו מכוסה באחריות, החלופות מסופקות על-ידי המשתמש. יש לשמור באריזה עד השימוש.

ציוד תומך

קנה את הציוד הבא לצורך ריצוף.

מטרה	מקור	פריט
אחסון המחסנית.	ספק מעבדה כללי	מקפיא, -25°C עד -15°C
שמירת ספריות בהמתנה עד לריצוף.	ספק מעבדה כללי	דלי קרח
דילול ספריות לריכוז הטעינה.	ספק מעבדה כללי	פיפטה, $10\ \mu\text{l}$
דילול ספריות עד לרמת הריכוז המתאימה לטעינה וטעינה של הספריות אל המחסנית.	ספק מעבדה כללי	פיפטה, $20\ \mu\text{l}$
דילול ספריות לריכוז הטעינה.	ספק מעבדה כללי	פיפטה, $200\ \mu\text{l}$
אחסון תא הזרימה והפשרת המחסנית.	ספק מעבדה כללי	מקרר, 2°C עד 8°C
הפשרת המחסנית.	<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Fisher Scientific, מס' קטלוגי TSCIR 35 • Shel Lab, מס' קטלוגי SWBC22 	<p>[אופציונלי] אחת מהאפשרויות הבאות של אמבט מים עם בקרת טמפרטורה, או אמבט שווה ערך שיכול לעמוד בטמפרטורה של 25°C:</p> <ul style="list-style-type: none"> • אמבט מים של Thermo Scientific Precision בנפח 35 ליטר עם סירקולציית מים (מחזיק 5 מחסניות בו-זמנית) • אמבט מים דיגיטלי של SHELL LAB בנפח 22 ליטר עם סירקולציית מים (מחזיק 3 מחסניות בו-זמנית)

פרוטוקול

מקטע זה מציג הוראות מפורטות כיצד להכין חומרים מתכלים, לדלל ספריות ולהגדיר הפעלת ריצוף באחד מתרבעת מצבי הפעלה (המצבים Cloud (ענן), Hybrid (היברידי) ו-Local (מקומי) משתמשים ב-DRAGEN או ב-BaseSpace Sequence Hub, בעוד המצב Standalone (עצמאי) מהווה הפעלה עצמאית המיועדת ליצור נתוני cBCL רק עבור זרימות עבודה של ניתוח מותאם אישית).

בעת עבודה עם מגיבים וחומרים כימיים אחרים, הקפד תמיד להשתמש במשקפי מגן, חלוק מעבדה וכפפות נטולות אבקה.

ודא שיש ברשותך את כל החומרים המתכלים והציוד הדרושים לפני תחילת פרוטוקול. ראה [חומרים מתכלים וציוד בעמוד 21](#).

בצע את הפרוטוקולים לפי הסדר המוצג, תוך שימוש בנפחים, בטמפרטורות ובמשכי הזמן שצוינו.

שיקולים בריצוף

לפני שתתחיל בפרוטוקול, עיין במידע הבא כדי להתכונן לדילול ספריות ולהגדרת הפעלה. השגת ריכוז הטעינה האופטימלי היא חיונית להצלחת הריצוף והניתוח. הזנת מספר המחזורים הנכון בקריאה עוזרת להבטיח פלט נתונים אופטימלי.

נפח וריכוזי טעינה

נפח הטעינה הוא μm 20. ריכוז הטעינה משתנה בהתאם לסוג הספרייה:

ריכוז טעינה (pM)	סוג ספרייה
750	AmpliSeq™ for Illumina Library PLUS
750	Illumina DNA Prep
1000	Illumina DNA Prep with Enrichment
750	Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus
750	Illumina Stranded mRNA Prep
1000	Illumina DNA PCR-Free
650	PhiX % 100
1200	TruSeq DNA Nano 350
1500	TruSeq DNA Nano 550
1000	TruSeq Stranded mRNA

עבור סוגי ספריית אחרים, ריכוז הטעינה ההתחלתי המומלץ הוא 650pM. מטב ריכוז זה בהפעלות הבאות כדי לזהות ריכוז טעינה שמפיק נתונים שעומדים בדרישות באופן עקבי.

i כדי להגיע לריכוז הטעינה האופטימלי, השתמש במדד % ריכוז הטעינה בקובץ הפלט PrimaryAnalysisMetrics.csv שיהיה זמין לאחר השלמת ההפעלה. אם % ריכוז הטעינה הוא > 95%, העלה את ריכוז הטעינה במרווחים של 100pM בהפעלות שלאחר מכן.

מספר מחזורים בקריאה

עבור כל קריאה, הזנת לפחות 26 מחזורים ומקסימום 151 מחזורים מסייעת להבטיח איכות של הנתונים. מספר המחזורים המדויק תלוי בניסוי. תוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000 מצריכה לפחות מחזור אחד עבור Read 1 (קריאה 1), אולם מציגה אזהרה כאשר מספר המחזורים ב-Read 1 (קריאה 1) נמוך מ-26.

מספר המחזורים הכולל עבור Read 1 (קריאה 1), Index 1 (אינדקס 1), Index 2 (אינדקס 2) ו-Read 2 (קריאה 2) לא יכול להיות גדול יותר ממספר המחזורים שבהם תומכת הערכה ועוד 38 מחזורים עבור ערכות של 100 מחזורים ו-200 מחזורים ו-27 מחזורים עבור ערכות P3 של 300 מחזורים. תוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000 תציג אזהרה כשיש פחות מ-6 מחזורים ב-Index 1 (אינדקס 1) וב-Index 2 (אינדקס 2). האזהרה לא תוצג אם יש 0 מחזורים ב-Index 1 (אינדקס 1) או ב-Index 2 (אינדקס 2).

מספרי המינימום והמקסימום של המחזור כוללים מחזור נוסף. תמיד הוסף מחזור אחד לאורך הקריאה הרצוי כדי לתקן את ההשפעות של פאזה וקדם-פאזה. אורך קריאה הוא מספר מחזורי הליצוף ב-Read 1 (קריאה 1) ו-Read 2 (קריאה 2), לא כולל מחזורים נוספים ומחזורי אינדקס. לקבלת מידע נוסף ראה 'תיקון פאזה' תחת [זרימת עבודה של ניתוח בזמן אמת בעמוד 51](#).

הגדרת הפעלה לדוגמה:

- עבור אורך קריאה של 35 (קריאה יחידה), הזן 36 בשדה Read 1 (קריאה 1).
- עבור אורך קריאה של 150 לקריאה (קצה משוין), הזן 151 בשדה Read 1 (קריאה 1) ו-151 בשדה Read 2 (קריאה 2).

תכנון הפעלת ריצוף ב-BaseSpace Sequence Hub

השתמש בהגדרת הפעלת המכשיר ב-BaseSpace Sequence Hub כדי ליצור ולקבוע את תצורת הגדרות הפעלה שלך. אם אתה מגדיר הפעלה במצב ענן או במצב היברידי, שלח את תצורת ההפעלה לרשימת ההפעלות המתוכננות בחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך בכרטיסייה Planned Runs (הפעלות מתוכננות). ההפעלות הזמינות לריצוף במערכות NextSeq 1000 Sequencing ו-NextSeq 2000 Sequencing מוצגות בכרטיסייה Planned Runs (הפעלות מתוכננות). אם אתה מגדיר הפעלה במצב מקומי, השתמש בהגדרת הפעלת המכשיר כדי ליצור ולייצא את גיליון הדגימה שלך בתבנית קובץ v2. לחלופין, ראה [הגדרות גיליון דגימה v2 בעמוד 77](#) כדי ליצור גיליון דגימה ללא BaseSpace Sequence Hub, עם תבנית שסופקה.

הגדרת הפעלת המכשיר של BaseSpace Sequence Hub אינה תומכת ביותר מ-1536 דגימות.

הגדרת הפעלה

1. נווט אל BaseSpace Sequence Hub.

2. הזן את כתובת הדוא"ל שלך ואת הסיסמה שלך ל-BaseSpace Sequence Hub, ולאחר מכן בחר **Sign in** (היכנס).
 3. בחר בכרטיסייה **Runs** (הפעלות), ולאחר מכן בחר בתפריט הנפתח **New Run** (הפעלה חדשה).
 4. בחר **NextSeq 1000/2000**.
 5. בשדה Run Name (שם הפעלה), הזן שם ייחודי לפי העדפתך כדי לזהות את ההפעלה הנוכחית. שם ההפעלה יכול להכיל עד 225 תווים אלפאנומריים, רווחים, מקפים ומקפים תחתונים.
 6. בחר אחד ממיקומי הניתוח הבאים.
 - **BaseSpace**—ניתוח נתוני הריצוף בענן.
 - **Local** (מקומי)—ניתוח נתוני הריצוף במכשיר או יצירת גיליון דגימה בגרסה v2 עבור מצב מקומי או מצב היברידי.
 7. בחר סוג וגרסת ניתוח. לקבלת מידע נוסף על ניתוחים משניים, ראה **קובצי פלט של ניתוח משני ב-DRAGEN בעמוד 55** או עיין בתיעוד של היישום BaseSpace Sequence Hub. אם בחרת ניתוח RNA של תא יחיד ב-DRAGEN, עיין בדף קובצי המוצרים של NextSeq 1000/2000 לקבלת מידע על תאימות של ערכות הכנת ספריות RNA של תא יחיד של צדדים שלישיים.
- i** עבור ניתוח במכשיר, הגרסה שנבחרה חייבת להתאים לגרסת ה-DRAGEN שמתקנת במכשיר. כדי לאשר את גרסת ה-DRAGEN המותקנת במכשיר, ראה **עדכוני זרימת עבודה ורישיון של DRAGEN בעמוד 69**.
8. [אופציונלי] הגדר ערכות אינדקס מותאמות אישית באופן הבא.
 - a. בחר **Add Custom Index Adapter Kit** (הוסף ערכת מתאם אינדקס מותאם אישית) בתפריט הנפתח Index Adapter Kit (ערכת מתאם אינדקס).
 - b. בחר סוג תבנית והזן את שם הערכה, רצפי המתאם, אסטרטגיות האינדקס ורצפי האינדקס. ודא שרצפי המתאם של האינדקס השני (i5) פונים קדימה.
 - c. בחר **Create New Kit** (צור ערכה חדשה).
 9. [אופציונלי] הגדר ערכה מותאמת אישית להכנת ספרייה באופן הבא.
 - a. בחר **Add Custom Library Prep Kit** (הוספת ערכה מותאמת אישית להכנת ספרייה) בתפריט הנפתח Library Prep Kit (ערכת הכנת ספרייה).
 - b. הזן את השם, סוגי הקריאות, מחזורי הקריאה שנקבעו כברירת מחדל, וערכות מתאם האינדקס התואמות של הערכה המותאמת אישית להכנת ספרייה שלך.
 - c. בחר **Create New Kit** (צור ערכה חדשה).
 10. בחר את הגדרות המכשיר הבאות. בתלות בערכת הכנת הספרייה, האפשרויות המומלצות הבאות נבחרות אוטומטית. לחלק מערכות הכנת הספרייה יש מספר בעל קידוד קשיח של קריאות אינדקסים וסוגי קריאות, שלא ניתן לשנותו.
 - ערכת הכנת ספרייה
 - ערכת מתאם אינדקס
 - מספר קריאות אינדקסים

הגדרה	תיאור
BarcodeMismatchIndex1	המספר המותר של מצבי אי-התאמה בין קריאת האינדקס הראשונה ורצף האינדקס. ערך ברירת המחדל הוא 1. אם ברקוד מסוים הוא 6 bp, הערך המומלץ הוא 0.
BarcodeMismatchIndex2	המספר המותר של מצבי אי-התאמה בין קריאת האינדקס השנייה ורצף האינדקס. ערך ברירת המחדל הוא 1. אם ברקוד מסוים הוא 6 bp, הערך המומלץ הוא 0.
OverrideCycles	מחרוזת המשמשת לציון מחזורים של מזהי UMI ולהסוות מחזורים של קריאה. להלן הערכים המותרים: <ul style="list-style-type: none"> • N—מציין מחזורים שיש להתעלם מהם. • Y—מציין מחזורי ריצוף. • I—מציין מחזורי אינדקס. • U—מציין מחזורים של מזהי UMI שיש לקצדם. בין הרכיבים מפרידים סימני נקודה-פסיק. להלן דוגמאות לקלט OverrideCycles: U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

2. בחר אם לשמור עותק של קובצי ה-FASTQ שלך. קובצי FASTQ נוצרים רק אם אתה בוחר לשמור קובצי FASTQ.

3. בחר אחת מאפשרויות תבנית פלט ה-FASTQ הבאות:

• **gzip**—שמירת קובצי ה-FASTQ בתבנית gzip.

• **DRAGEN**—שמירת קובצי FASTQ בתבנית ora.

4. השלם את הגדרת תצורת ההפעלה.

• כדי לשלוח את תצורת ההפעלה לחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך, בחר **Submit Run** (שלח הפעלה). הפעלות שנשלחות אל BaseSpace Sequence Hub מופיעות ברשימת ההפעלות המתוכננת וזמינות עבור מערכות המשתמשים במצב ענן או במצב היברידי.

• כדי לשמור את הגדרת תצורת ההפעלה כגיליון דגימה בתבנית קובץ v2, בחר **Export Sample Sheet** (יצא גיליון דגימה) ברשימה הנפתחת **Submit Run** (שליחת הפעלה). גיליון הדגימה נדרש כדי להתחיל הפעלות במערכות המשתמשות במצב מקומי. אפשרות זו זמינה רק אם נבחר מיקום ניתוח מקומי.

Illumina DRAGEN Enrichment

השתמש בשלבים הבאים כדי להגדיר את התצורה של ניתוח Enrichment ב-Illumina DRAGEN.

1. בחר גנום ייחוס.

אם ניתן, השתמש בגנום ייחוס עם alt aware.

2. בחר קובץ bed*. המכיל את האזורים שבהם תרצה להתמקד, או העלה קובץ מותאם אישית חדש.

ודא שגנום הייחוס של קובץ ה-BED תואם לגנום הייחוס שנבחר בשלב 1. עבור קובץ BED מותאם אישית חדש,

השתמש בתבנית מתן השם הבאה: `referencegenome.bed.name_of_panel_versionNumber`.

- מצב מקומי—בחר **Select Custom File (Local)** (בחר קובץ מותאם אישית (מקומי)) להעלאה עבור הפעלה יחידה, או **Upload Custom File (BaseSpace)** [העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)] עבור שימוש חוזר.
- מצב ענן או היברידי—בחר **Upload Custom File (BaseSpace)** [העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)]. קובץ ה-BED המותאם אישית זמין רק בקבוצת העבודה שאליה הועלה.
- 3. בחר את שורת הנבט או המקשר בין הווריאנטים הסומטיים.
- 4. [אופציונלי] אם אתה משתמש במקשר בין הווריאנטים הסומטיים, בחר קובץ בסיס רעש. לקבלת מידע נוסף ראה **ייבוא קובצי בסיס רעש בעמוד 17**.
- 5. בחר תבנית מיפוי/יישור פלט.
- 6. בחר אם לשמור עותק של קובצי ה-FASTQ שלך. קובצי FASTQ נוצרים רק אם אתה בוחר לשמור קובצי FASTQ.
- 7. בחר אחת מאפשרויות תבנית פלט ה-FASTQ הבאות:
 - **gzip**—שמירת קובצי ה-FASTQ בתבנית gzip.
 - **DRAGEN**—שמירת קובצי FASTQ בתבנית ora.
- 8. השלם את הגדרת תצורת ההפעלה.
- כדי לשלוח את תצורת ההפעלה לחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך, בחר **Submit Run** (שלח הפעלה). הפעלות שנסלחות אל BaseSpace Sequence Hub מופיעות ברשימת הפעלות המתוכננת וזמינות עבור מערכות המשתמשים במצב ענן או במצב היברידי.
- כדי לשמור את הגדרת תצורת ההפעלה כגיליון דגימה בתבנית קובץ v2, בחר **Export Sample Sheet** (יצא גיליון דגימה) ברשימה הנפתחת **Submit Run** (שליחת הפעלה). הקבצים התומכים בגיליון הדגימה ובניתוח המשני מורדים לתיקיית *.zip. ונדרשים כדי להתחיל הפעלות במערכות המשתמשות במצב מקומי. אפשרות זו זמינה רק אם נבחר מיקום ניתוח 'מקומי'.

שורת נבט ב-Illumina DRAGEN

- השתמש בשלבים הבאים כדי להגדיר את התצורה של ניתוח שורת נבט ב-Illumina DRAGEN.
1. בחר את גנום הייחוס.
 - אם ניתן, השתמש בגנום ייחוס עם alt aware.
 2. בחר תבנית מיפוי/יישור פלט.
 3. בחר אם לשמור עותק של קובצי ה-FASTQ שלך. קובצי FASTQ נוצרים רק אם אתה בוחר לשמור קובצי FASTQ.
 4. בחר אחת מאפשרויות תבנית פלט ה-FASTQ הבאות:
 - **gzip**—שמירת קובצי ה-FASTQ בתבנית gzip.
 - **DRAGEN**—שמירת קובצי FASTQ בתבנית ora.
 5. השלם את הגדרת תצורת ההפעלה.

- כדי לשלוח את תצורת ההפעלה לחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך, בחר **Submit Run** (שלח הפעלה). הפעלות שנשלחות אל BaseSpace Sequence Hub מופיעות ברשימת ההפעלות המתוכננת וזמינות עבור מערכות המשתמשים במצב ענן או במצב היברידי.
- כדי לשמור את הגדרת תצורת ההפעלה כגיליון דגימה בתבנית קובץ v2, בחר **Export Sample Sheet** (יצא גיליון דגימה) ברשימה הנפתחת **Submit Run** (שליחת הפעלה). הקבצים התומכים בגיליון הדגימה ובניתוח המשני מורדים לתיקיית *.zip* ונדרשים כדי להתחיל הפעלות במערכות המשתמשות במצב מקומי. אפשרות זו זמינה רק אם נבחר מיקום ניתוח 'מקומי'.

Illumina DRAGEN RNA

השתמש בשלבים הבאים כדי להגדיר את התצורה של ניתוח RNA ב-Illumina DRAGEN.

1. בחר את גנום הייחוס.
אם ניתן, השתמש בגנום ייחוס ללא alt aware.
 2. בחר את תבנית המיפוי/יישור הפלט שלך.
 3. בחר אם לשמור עותק של קובצי ה-FASTQ שלך. קובצי FASTQ נוצרים רק אם אתה בוחר לשמור קובצי FASTQ.
 4. בחר אחת מאפשרויות תבנית פלט ה-FASTQ הבאות:
 - **gzip**—שמירת קובצי ה-FASTQ בתבנית gzip.
 - **DRAGEN**—שמירת קובצי FASTQ בתבנית ora.
 5. [אופציונלי] העלה קובץ ביאור RNA בתבנית (GTF) (Gene Transfer Format).
 - מצב מקומי—בחר **Select Custom File (Local)** (בחר קובץ מותאם אישית (מקומי)) להעלאה עבור הפעלה יחידה, או **Upload Custom File (BaseSpace)** [העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)] עבור שימוש חוזר.
 - מצב ענן או היברידי—בחר **Upload Custom File (BaseSpace)** [העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)]. קובץ ה-GTF זמין רק בקבוצת העבודה שאליה הועלה. אחרי שקובץ GTF הועלה אל קבוצת עבודה של BaseSpace Sequence Hub Workgroup, בחר את קובץ ביאור ה-RNA בתפריט הנפתח.
 6. בחר אם לאפשר ביטוי דיפרנציאלי.
 7. אם אפשרת ביטוי דיפרנציאלי, בחר ערך בקרה או השוואה עבור כל דגימה. בכל אחת מקבוצות ההשוואה, כל דגימה שמסומנת כדגימת בקרה מושווית ביחס לכל הדגימות המסומנות כדגימות להשוואה. אם הדגימה אינה מכילה ערך בקרה או השוואה כלשהו, בחר **na** בתור הערך.
 8. השלם את הגדרת תצורת ההפעלה.
- כדי לשלוח את תצורת ההפעלה לחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך, בחר **Submit Run** (שלח הפעלה). הפעלות שנשלחות אל BaseSpace Sequence Hub מופיעות ברשימת ההפעלות המתוכננת וזמינות עבור מערכות המשתמשים במצב ענן או במצב היברידי.

- כדי לשמור את הגדרת תצורת ההפעלה כגיליון דגימה בתבנית קובץ v2, בחר **Export Sample Sheet** (יצא גיליון דגימה) ברשימה הנפתחת **Submit Run** (שליחת הפעלה). הקבצים התומכים בגיליון הדגימה ובניתוח המשני מורדים לתיקיית *.zip. אם סופק קובץ GTF אופציונלי, ונדרשים כדי להתחיל הפעלות במערכות המשתמשות במצב מקומי. אפשרות זו זמינה רק אם נבחר מיקום ניתוח 'מקומי'.

RNA של תא יחיד ב-Illumina DRAGEN

השתמש בשלבים הבאים כדי להגדיר את התצורה של ניתוח RNA של תא יחיד ב-Illumina DRAGEN.

1. בחר את גנום הייחוס.
אם ניתן, השתמש בגנום ייחוס ללא alt aware.
2. [אופציונלי] העלה קובץ ביאור RNA בתבנית (Gene Transfer Format (GTF).
 - מצב מקומי—בחר **Select Custom File (Local)** (בחר קובץ מותאם אישית (מקומי)) להעלאה עבור הפעלה יחידה, או **Upload Custom File (BaseSpace)** [(העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)) עבור שימוש חוזר.
 - מצב ענן או היברידי—בחר **Upload Custom File (BaseSpace)** [העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)]. קובץ ה-GTF זמין רק בקבוצת העבודה שאליה הועלה.
אחרי שקובץ GTF הועלה אל קבוצת עבודה של BaseSpace Sequence Hub Workgroup, בחר את קובץ ביאור ה-RNA בתפריט הנפתח.
3. בחר את תבנית המיפוי/יישור הפלט שלך.
4. בחר אם לשמור עותק של קובצי ה-FASTQ שלך. קובצי FASTQ נוצרים רק אם אתה בוחר לשמור קובצי FASTQ.
5. בחר אחת מאפשרויות תבנית פלט ה-FASTQ הבאות:
 - **gzip**—שמירת קובצי ה-FASTQ בתבנית gzip.
 - **DRAGEN**—שמירת קובצי FASTQ בתבנית ora.
6. בחר את התצורה אשר זהה לסוג ערכת הכנת הספרייה שלך.
לדוגמה, אם בחרת באפשרות Single Cell RNA Library Kit 1 (ערכה 1 של ספריית RNA של תא יחיד) בתור ערכת הכנת הספרייה שלך, בחר Type 1 (סוג 1) עבור Configuration Type (סוג התצורה).
7. בחר את קריאת הברקוד.
8. [אופציונלי] ערוך את מספר הבסיסים בברקודים ואת מזהה ה-UMI. מילוי הערכים מתבצע באופן אוטומטי בהתאם לסוגי התצורה וערכת הכנת הספרייה שבחרת.
9. בחר את כיוון הגדיל.
10. [אופציונלי] בחר קובץ הכולל את רצפי הברקוד שלך או העלה קובץ מותאם אישית חדש.
11. אם אתה משתמש בסוג תצורה מתקדם/מותאם אישית, הזן ערכים עבור מספר מחזורי העקיפה, מיקום הברקוד ומיקום מזהה ה-UMI.
12. השלם את הגדרת תצורת ההפעלה.

- כדי לשלוח את תצורת ההפעלה לחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך, בחר **Submit Run** (שלח הפעלה). הפעלות שנשלחות אל BaseSpace Sequence Hub מופיעות ברשימת ההפעלות המתוכננת וזמינות עבור מערכות המשתמשים במצב ענן או במצב היברידי.
- כדי לשמור את הגדרת תצורת ההפעלה כגיליון דגימה בתבנית קובץ v2, בחר **Export Sample Sheet** (יצא גיליון דגימה) ברשימה הנפתחת **Submit Run** (שליחת הפעלה). הקבצים התומכים בגיליון הדגימה ובניתוח המשני מורדים לתיקיית *.zip. אם סופק קובץ GTF אופציונלי, ונדרשים כדי להתחיל הפעלות במערכות המשתמשות במצב מקומי. אפשרות זו זמינה רק אם נבחר מיקום ניתוח 'מקומי'.

Amplicon ב-Illumina DRAGEN

השתמש בשלבים הבאים כדי להגדיר את התצורה של ניתוח Illumina DRAGEN ב-Amplicon.

1. בחר את גנום הייחוס.
 2. בחר קובץ *.bed המכיל את האזורים שבהם תרצה להתמקד, או העלה קובץ מותאם אישית חדש. ודא שגנום הייחוס של קובץ ה-BED תואם לגנום הייחוס שנבחר בשלב 1. עבור קובץ BED מותאם אישית חדש, השתמש בתבנית מתן השם הבאה: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
 - מצב ענן או היברידי—בחר **Upload Custom File (BaseSpace)** [העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)]. קובץ ה-BED המותאם אישית זמין רק בקבוצת העבודה שאליה הועלה.
 - מצב מקומי—בחר **Select Custom File (Local)** (בחר קובץ מותאם אישית (מקומי)) להעלאה עבור הפעלה יחידה, או **Upload Custom File (BaseSpace)** (העלה קובץ מותאם אישית (BaseSpace)) עבור שימוש חוזר.
 3. בחר את שורת הנבט או המקשר בין הווריאנטים הסומטיים.
 4. בחר את תבנית המיפוי/יישור הפלט שלך.
 5. [מקומי] בחר אם לשמור עותק של קובצי ה-FASTQ שלך. קובצי FASTQ נוצרים רק אם אתה בוחר לשמור קובצי FASTQ.
 6. בחר אם לשמור עותק של קובצי ה-FASTQ שלך. קובצי FASTQ נוצרים רק אם אתה בוחר לשמור קובצי FASTQ.
 7. בחר אחת מאפשרויות תבנית פלט ה-FASTQ הבאות:
 - **gzip**—שמירת קובצי ה-FASTQ בתבנית gzip.
 - **DRAGEN**—שמירת קובצי FASTQ בתבנית .ora.
 8. השלם את הגדרת תצורת ההפעלה.
- כדי לשלוח את תצורת ההפעלה לחשבון ה-BaseSpace Sequence Hub שלך, בחר **Submit Run** (שלח הפעלה). הפעלות שנשלחות אל BaseSpace Sequence Hub מופיעות ברשימת ההפעלות המתוכננת וזמינות עבור מערכות המשתמשים במצב ענן או במצב היברידי.
 - [מקומי] כדי לשמור את הגדרת תצורת ההפעלה כגיליון דגימה בתבנית קובץ v2, בחר **Export Sample Sheet** (יצא גיליון דגימה) ברשימה הנפתחת **Submit Run** (שליחת הפעלה). הקבצים התומכים בגיליון הדגימה ובניתוח המשני מורדים לתיקיית *.zip. ונדרשים כדי להתחיל הפעלות במערכות המשתמשות במצב מקומי. אפשרות זו זמינה רק אם נבחר מיקום ניתוח 'מקומי'.

הפשרת המחסנית הארוזה ותא הזרימה

שלב זה מפשיר את המחסנית בשקית שלא נפתחה ומכין את תא הזרימה. הפשר את המחסנית הארוזה באחת משלוש השיטות הבאות: אמבט מים עם בקרת טמפרטורה, מקרר, או אוויר בטמפרטורת החדר. השתמש במחסנית מיד לאחר ההפשרה, מבלי להקפיא מחדש. אם אין לך אפשרות להשתמש במחסנית מיד לאחר הפשרתה, ראה [החזרת חומרים מתכלים לאחסון בעמוד 72](#).

איור 4 מחסנית ארוזה



הפשרת המחסנית באמבט מים עם בקרת טמפרטורה

1. חבוש זוג חדש של כפפות ללא אבקה והוצא את המחסנית מהאחסון.
2. הוצא את המחסנית מהקופסה, אך אל תפתח את שקית האלומיניום הכסופה.

⚠ הפשרת שקית קרועה או מחוררת באמבט מים עלולה לגרום לכשל בריצוף. במקום זאת הפשר בטמפרטורת החדר או במקרר.

3. הפשר את המחסנית הארוזה באמבט מים בטמפרטורה מבוקרת של 25°C למשך 6 שעות:

- שמור על עומק מים של לפחות 10-9.5 ס"מ, ללא קשר למספר המחסניות שאתה מפשיר.
- קבע טמפרטורה של 25°C באמבט מים מבוקר-טמפרטורה.
- כשהתווית פונה כלפי מעלה, הנח בתוך אמבט המים מבלי להטביע.

⚠ אל תנסה להשקיע את המחסנית בנוזל באמצעות משקולות. אם תווית השקית לא תפנה כלפי מעלה, או אם המחסנית תתהפך במהלך ההפשרה, תיתכן השפעה שלילית על נתוני הריצוף.

- משך הזמן המרבי באמבט המים הוא 8 שעות.
- אין להפשיר בו-זמנית מחסניות רבות יותר ממספר המחסניות שאמבט המים יכול להכיל. לקבלת מידע על אמבטי המים התואמים ראה [ציוד תומך בעמוד 26](#).

- אל תערום מחסניות זו מעל זו.

4. הוצא מחסנית מאמבט המים ויבש אותה באמצעות מגבות נייר.

הפשרת מחסנית במקרר

1. חבוש כפפות חדשות ללא אבקה.

2. יום אחד לפני מועד ההפעלה הצפוי, הוצא את המחסנית מהאחסון בטמפרטורה של 25°C - אל 15°C .

3. הוצא את המחסנית מהקופסה, אך אל תפתח את שקית האלומיניום הכסופה.

4. הצב את המחסנית בטמפרטורת החדר כך שהתווית תפנה כלפי מעלה ותתאפשר זרימת אוויר בצדדים ומלמעלה.

⚠ | אם תווית השקית לא תפנה כלפי מעלה, תיתכן השפעה שלילית על נתוני הריצוף.

5. הפשר בטמפרטורת החדר למשך 6 שעות.

6. הצב את המחסנית במקרר בטמפרטורה של 2°C עד 8°C כך שהתווית תפנה כלפי מעלה ותתאפשר זרימת אוויר בצדדים.

⚠ | אם תווית השקית לא תפנה כלפי מעלה, תיתכן השפעה שלילית על נתוני הריצוף.

7. הפשר במקרר במשך 12 שעות. אל תחרוג מ-72 שעות.

הפשרת מחסנית בטמפרטורת החדר

1. חבוש כפפות חדשות ללא אבקה.

2. הוצא את המחסנית מהאחסון בטמפרטורה של 25°C - אל 15°C .

3. הוצא את המחסנית מהקופסה, אך אל תפתח את שקית האלומיניום הכסופה.

4. הצב את המחסנית כך שהתווית תפנה כלפי מעלה ותתאפשר זרימת אוויר בצדדים ומלמעלה.

⚠ | אם תווית השקית לא תפנה כלפי מעלה, תיתכן השפעה שלילית על נתוני הריצוף.

5. הפשר בטמפרטורת החדר למשך 9 שעות. אל תחרוג מ-16 שעות.

הכנת תא הזרימה והמחסנית

1. הכן את תא הזרימה באופן הבא.

a. הוצא תא זרימה חדש מאחסון בטמפרטורה של 2°C עד 8°C .

b. השאר את האריזה הלא פתוחה בטמפרטורת החדר למשך 10 עד 15 דקות כדי למנוע עיבוי בעת הוצאת תא הזרימה מהאריזה. הכנת תא הזרימה כעת מבטיחה שהתא יגיע לטמפרטורת החדר בזמן.

2. אם נעשה שימוש בשיטת ההפשרה במקרר:

a. הוצא את המחסנית שהופשרה מאחסון בטמפרטורה של 2°C עד 8°C .

b. השאר את המחסנית שלא נפתחה בטמפרטורת החדר למשך 15 דקות לפחות לפני הריצוף. אין להשאיר למשך יותר משעה אחת.

דילול ספריות

אם אתה משתמש בדנטורציה ודילול במכשיר, שלב זה מדלל את הספריות לריכוז הטעינה המתאים. עלייה פתאומית אופציונלית של 2% ב-PhiX¹ מספקת מדדים נוספים, גיוון של בסיסים או בקרה חיובית. בספריות עם גיוון בסיסים נמוך, יש להעלות את אחוז העלייה הפתאומית ב-PhiX.

אם אתה מבצע דנטורציה ודילול של ספריות באופן ידני, השתמש במדריך דנטורציה ודילול של ספריות ב-NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 (מסמך מס' 1000000139235). שלב זה מתייחס רק לדנטורציה ודילול במכשיר.

דילול ספרייה לריכוז 2 nM

1. [אופציונלי] הסר 10nM תמיסת PhiX מאחסון בטמפרטורה של 25°C- אל 15°C-. PhiX נדרש רק עבור עלייה פתאומית אופציונלית או הפעלת PhiX בלבד.
2. [אופציונלי] הפשר PhiX בטמפרטורת החדר למשך 5 דקות, ולאחר מכן כמת בשיטה מבוססת-פלואורסצנט, כגון Qubit, כדי לאשר את ריכוז ה-PhiX. אם לא ניתן לכמת, המשך עם ריכוז של 10nM.
3. ערבול את הספרייה או ה-PhiX זמן קצר בוורטקס, ולאחר מכן סרכז בכוח של 280 x g למשך דקה אחת.
4. באמצעות RSB עם Tween 20 כחומר ריכוז, הכן לפחות 24µl של ספריית 2nM במבחנת low-bind microtube. לקבלת הוראות בנושא עלייה פתאומית ב-PhiX, ראה הוספת PhiX Control (אופציונלי) בעמוד 39.
5. ערבול זמן קצר בוורטקס, ולאחר מכן סרכז בכוח של 280 x g למשך דקה אחת.

דילול ספריית 2nM לריכוז טעינה

1. שלב את הנפחים הבאים במבחנת low-bind microtube כדי להכין 24 µl של ספרייה המדוללת לריכוז הטעינה המתאים:

סוג ספרייה*	ריכוז טעינה (pM)	נפח ספרייה בריכוז 2nM (µl)	נפח RSB עם Tween 20 (µl)
Ampliseq for Illumina Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000	12	12
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15
Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-Free	1000	12	12

¹PhiX היא ספרייה קטנה ומוכנה לשימוש של Illumina עם ייצוג מאוזן של נוקליאוטידים.

נפח RSB עם Tween 20 (µl)	נפח ספרייה בריכוז (µl) 2nM	ריכוז טעינה (pM)	סוג ספרייה*
9.6	14.4	1200	TruSeq DNA Nano 350
6	18	1500	TruSeq DNA Nano 550
12	12	1000	TruSeq Stranded mRNA
16.2	7.8	650	PhiX % 100

- * עבור סוגי ספריות שאינם רשומים, התחל מריכוז טעינה של 650 pM ומטב בהפעלות הבאות. טבלה זו מספקת דוגמה לריכוזי טעינה. מערכת NextSeq 1000/2000 תואמת לכל ערכות הכנת הספריות של Illumina, אולם ייתכנו שינויים בריכוז הטעינה האופטימלי.
- ערבל זמן קצר בוורטקס, ולאחר מכן סרכז בכוח של $280 \times g$ למשך דקה אחת.
 - שמור בקרח את הספרייה המדוללת עד שתהיה מוכנה לצורך ריצוף.
 - רצף את הספריות שדוללו לריכוז הטעינה ביום שבו דוללו.
 - התקדם באופן הבא.
- אם אתה מוסיף PhiX, ראה [הוספת PhiX Control \(אופציונלי\) בעמוד 39](#).
 - אם אינך מוסיף PhiX או אם אתה מבצע הפעלת PhiX-בלבד, ראה [טעינת חומרים מתכלים במחסנית בעמוד 39](#).

הוספת PhiX Control (אופציונלי)

- שלב את הנפחים הבאים במבחנת low-bind microtube כדי להכין 20 µl של PhiX בריכוז 1nM:
 - PhiX (2 µl) 10nM
 - RSB עם Tween 20 (18 µl)
- ערבל זמן קצר בוורטקס, ולאחר מכן סרכז בכוח של $280 \times g$ למשך דקה אחת.
- הוסף 1 µl של 1nM PhiX לספרייה של 24 µl שדוללה לריכוז הטעינה הסופי. נפחים אלה מובילים לעלייה פתאומית בשיעור של כ-2% ב-PhiX. השיעור הממשי באחוזים משתנה בהתאם לאיכות ולכמות של הספרייה.
- השאר את הספרייה עם העלייה הפתאומית ב-PhiX בקרח עד שתהיה מוכנה לריצוף. רצף את הספריות עם העלייה הפתאומית ב-PhiX באותו יום שבו דוללו.

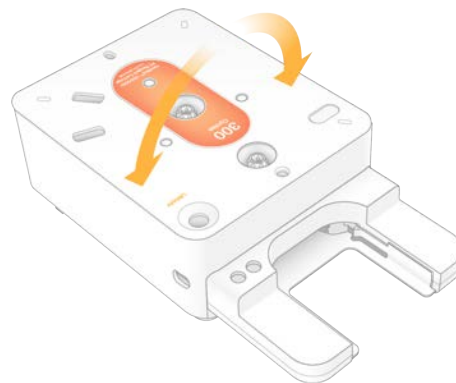
טעינת חומרים מתכלים במחסנית

שלב זה מכין את המחסנית לריצוף על-ידי ערבוב המגיבים שמולאו מראש וטעינה של ספריות מדוללות ושל תא הזרימה.

הכנת המחסנית

- פתח את אריזת המחסנית על-ידי קריעתה או גזירתה במספריים, מהחריץ העליון באחד מהצדדים.
- הוצא את המחסנית מהאריזה. השלך את האריזה ואת סופח הלחות.

3. הפוך את המחסנית 10 פעמים כדי לערבב את המגיבים. הרכיבים הפנימיים עשויים להשמיע נקישות במהלך ההיפוך. זהו מצב רגיל.

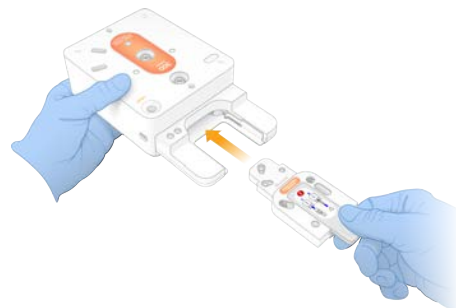


טעינת תא הזרימה

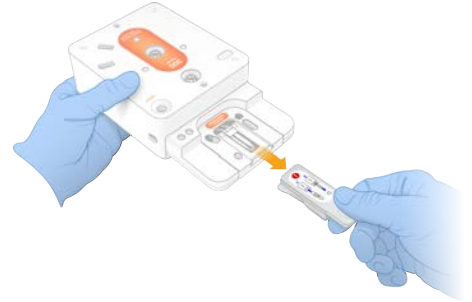
1. פתח את אריזת האלומיניום הכסופה על-ידי קריעתה או גזירתה במספריים, מהחריץ העליון באחד מהצדדים. אם אין באפשרותך להשתמש מיד בתא הזרימה, ראה [החזרת חומרים מתכלים לאחסון בעמוד 72](#).
2. הוצא את תא הזרימה מהאריזה. הנח בצד את אריזת האלומיניום וסופח הלחות, למקרה שתצטרך להחזיר את תא הזרימה לאחסון. סופח הלחות נמצא בתוך נרתיק-כיס בחלקה התחתון של אריזת האלומיניום. השלך אותם כשהריצוף יתחיל.



3. אחז בתא הזרימה בלשונית האפורה, כאשר התווית שעל הלשונית פונה כלפי מעלה.
4. דחף את תא הזרימה כדי להכניסו לתוך החריץ שבחלק הקדמי של המחסנית. קול נקישה מציין שתא הזרימה נמצא במקומו. אחרי שהטעינה בוצעה כהלכה, הלשונית האפורה בולטת החוצה מהמחסנית.



5. משוך את הלשונית האפורה לאחור והסר אותה כדי לחשוף את תא הזרימה. מחזר את הלשונית.



טעינת ספריות

1. באמצעות קצה הפיטה חדש מסוג P1000, נקב את מכל הספרייה ודחף את רדיד האלומיניום לקצוות כדי להגדיל את הפתח.
2. השלך את קצה הפיטה כדי למנוע זיהום.
3. הוסף ספרייה מדוללת בנפח של 20 µl לחלק התחתון של המכל; כדי לעשות זאת, הנמך באיטיות את קצה הפיטה לתחתית המכל, ולאחר מכן שחרר את החומר. הימנע ממגע ברדיד האלומיניום.





התחלת הפעלת ריצוף

שלב זה מתחיל הפעלת ריצוף באחד מהמצבים הבאים:


- מצב ענן—הפעלה נבחרת מתוך רשימת הפעלות מתוכננות בתוכנה הבקרה של NextSeq 1000/2000. במהלך הריצוף, נתוני ה-cBCL מועלים אל BaseSpace Sequence Hub. לאחר הריצוף, DRAGEN ב-BaseSpace Sequence Hub מופעל אוטומטית.
- מצב היברידי—הפעלה נבחרת מתוך רשימת הפעלות מתוכננות בתוכנה הבקרה של NextSeq 1000/2000. לאחר הריצוף, הניתוח במכשיר מתחיל מופעל אוטומטית. קובצי הפלט של נתוני ה-cBCL והניתוח המשני ב-DRAGEN מאוחסנים בתיקיית הפלט שנבחרה.

- מצב מקומי—גיליון דגימה בתבנית הקובץ v2 מיובא באופן ידני לתוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000. לאחר הריצוף, הניתוח במכשיר מתחיל מופעל אוטומטית. קובצי הפלט של נתוני ה-cBCL והניתוח המשני ב-DRAGEN מאוחסנים בתיקיית הפלט שנבחרה. אם נבחרה האפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive), ניטור הפעלה ואחסון), לאחר השלמת הריצוף ניתן לאתחל את הניתוח גם דרך היישומים של BaseSpace Sequence Hub.
- מצב עצמאי—הגדר הפעלה, בהתאם להוראות בתוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 כדי ליצור נתוני cBCL.

פתיחת כיסוי המגן במהלך הבדיקה לפני ההפעלה או ההפעלה עצמה עלולה להכשיל את ההפעלה. 

הרחק את הידיים מהמכשיר במהלך פתיחת כיסוי המגן וסגירתו כדי להימנע מפציעה. 

התחלת הפעלת ענן או הפעלה היברידית

1. הגדר את מצב ההפעלה, כפי שמתואר בסעיף [קביעת תצורה של מצב הפעלה בעמוד 18](#).
 2. בחר **Start** (הפעל).
 3. הזן את אישורי הכניסה שלך ל-BaseSpace Sequence Hub, ולאחר מכן בחר **Sign In** (היכנס).
 4. אם בחרת Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive), ניטור הפעלה ואחסון), בחר את קבוצת העבודה שמכילה את ההפעלה שלך שנוצרה ב-Instrument Run Setup (הגדרת הפעלת המכשיר) ב-BaseSpace Sequence Hub.
- בחירת קבוצת עבודה נדרשת כדי למנוע שגיאות. הקפד לבחור קבוצת עבודה לפני שתמשיך. 
5. בחר **Next** (הבא).
 6. בחר את ההפעלה שלך.
 7. אשר שהגרסה של Analysis (ניתוח), Run Length (אורך הפעלה) ו-Secundary Analysis (ניתוח משני) תואמת להפעלה הנוכחית.
 8. תחת Analysis (ניתוח) מוצג הכיתוב Cloud_ כדי לציין שמתבצע ניתוח ב-BaseSpace Sequence Hub.
 9. בחר **Review** (סקירה).
 10. [אופציונלי] הזן את המיקומים של תחל הקריאה המותאם אישית ותחל האינדקס המותאם אישית. לקבלת מידע על הכנה והוספה של תחלים מותאמים אישית, ראה [מדריך התחלים בהתאמה אישית של NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 \(מסמך מס' 1000000139569\)](#). הקפד לבקר בדף המוצרים התואמים של ערכת הכנת הספרייה שלך, כדי לבדוק את יש צורך בתחלים מותאמים אישית של Illumina.
 11. [אופציונלי] בחר מתכון מותאם אישית. לקבלת מידע נוסף ראה [מחזור ריצוף חשוק בעמוד 89](#). אם אתה משתמש בגרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 ובערכה Illumina Stranded Total או בערכה RNA Prep with Ribo-Zero Plus או בערכה Illumina Stranded mRNA Prep, המתכון המותאם אישית נבחר אוטומטי.
 12. [אופציונלי] כדי לבצע דנטורציה ודילול של ספריות באופן ידני, בטל את הסימון בתיבה **Denature and Dilute On Board** (דנטורציה ודילול בתוך המכשיר). ראה [מדריך דנטורציה ודילול של ספריות ב-NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 \(מסמך מס' 1000000139235\)](#). הבחירה שנקבעה כברירת מחדל מוגדרת בהגדרות תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000.

12. [אופציונלי] כדי להחליף את תיקיית הפלט, בחר בשדה Output Folder (תיקיית פלט) והזן מיקום חדש. השדה Output Folder (תיקיית פלט) מאוכלס באופן אוטומטי בהגדרות ברירת המחדל שלך; שדה זה נדרש כאשר האפשרות **Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive)**, ניטור הפעלה ואחסון) אינה נבחרת.
- אם בחרת באפשרות **Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive)**, ניטור הפעלה ואחסון), תחת **Save to BaseSpace Sequence Hub** (שמירה ב-BaseSpace Sequence Hub) מופיע הכיתוב **Enabled** (מופעל).
- אם בחרת באפשרות **Proactive and Run Monitoring (Proactive)** וניטור הפעלה), תחת **Save to BaseSpace Sequence Hub** (שמירה ב-BaseSpace Sequence Hub) מופיע הכיתוב **Disabled** (מושבת).
13. סקור את פרטי ההפעלה ולאחר מכן בחר **Prep** (הכנה).

התחלת הפעלה מקומית

- הגדר את מצב ההפעלה, כפי שמתואר בסעיף [קביעת תצורה של מצב הפעלה בעמוד 18](#).
 - בחר **Start** (הפעל).
 - אם בחרת באפשרויות **Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive)**, ניטור הפעלה ואחסון) או **Proactive and Run Monitoring (Proactive)** וניטור הפעלה), הזן את אישורי הכניסה שלך אל BaseSpace Sequence Hub ולאחר מכן בחר **Sign In** (היכנס).
 - אם בחרת **Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive)**, ניטור הפעלה ואחסון), בחר את קבוצת העבודה של BaseSpace Sequence Hub כדי לשמור את ההפעלה שלך, ולאחר מכן בחר **Next** (הבא).
- !** בחירת קבוצת עבודה נדרשת כדי למנוע שגיאות. הקפד לבחור קבוצת עבודה לפני שתמשיך.
- בחר באפשרות **Choose ...** (בחירה...) תחת **Start With Sample Sheet** (התחלה עם גיליון דגימה), ונווט אל גיליון הדגימה בעל העיצוב v2 במכשיר ה-NextSeq 1000/2000, בכונן הנייד או בכונן הרשת שנטען. שמות של קובץ גיליון דגימה לא יכולים להכיל תווים מיוחדים.
- גרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 מזהה אוטומטית את הגרסה של DRAGEN מתוך גיליון הדגימה, ולפי הצורך תנחה אותך להחליף גרסאות. גרסת ה-DRAGEN חייבת להיות מותקנת במערכת. לקבלת מידע על ההתקנה ראה [עדכוני תוכנה בעמוד 67](#).
- Instrument Run Setup Used** (הגדרת הפעלת המכשיר בשימוש)—בחר בתיקיית ה-**zip** אשר מכילה את גיליון הדגימה v2 וקבצים תומכים, אם רלוונטי. אם לא, בחר את גיליון הדגימה v2.
 - Instrument Run Setup Not Used** (הגדרת הפעלת המכשיר לא בשימוש)—ודא שקובץ התמיכה בניתוח המשני ממוקם באותה ספרייה שבה נמצא גיליון הדגימה v2.
- i** גיליון הדגימה שנבחר חייב להיות בעל עיצוב v2. כדי ליצור גיליון דגימה בעיצוב v2, הורד את גיליון הדגימה שנוצר מתוך **Instrument Run Setup** (הגדרת הפעלת המכשיר) ב-BaseSpace Sequence Hub, או ערוך תבנית עיצוב v2 של גיליון דגימה אשר מוצעת בדף התמיכה של NextSeq 1000/2000. לקבלת מידע נוסף על עיצוב ודרישות v2 של גיליון דגימה, ראה [הגדרות גיליון דגימה v2 בעמוד 77](#). ודא שכל הקבצים שאליהם מפנה גיליון הדגימה ממוקמים באותה תיקייה שבה נמצא גיליון הדגימה.
- בחר **Review** (סקירה).
 - [אופציונלי] הזן את המיקומים של תחל הקריאה המותאם אישית ותחל האינדקס המותאם אישית.

לקבלת מידע על הכנה והוספה של תחלים מותאמים אישית, ראה מדריך התחלים בהתאמה אישית של NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 (מסמך מס' 1000000139569). הקפד לבקר בדף המוצרים התואמים של ערכת הכנת הספרייה שלך, כדי לבדוק את יש צורך בתחלים מותאמים אישית של Illumina.

8. [אופציונלי] בחר מתכון מותאם אישית. לקבלת מידע נוסף ראה **מחזור ריצוף חשוק בעמוד 89** אם אתה משתמש בגרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 ובערכה Illumina Stranded Total ובכמה RNA Prep with Ribo-Zero Plus או בערכה Illumina Stranded mRNA Prep, המתכון המותאם אישית נבחר אוטומטי.
9. [אופציונלי] כדי לבצע דנטורציה ודילול של ספריות באופן ידני, בטל את הסימון בתיבה **Denature and Dilute On Board**. ראה מדריך דנטורציה ודילול של ספריות ב-NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 (מסמך מס' 1000000139235).
הבחירה שנקבעה כברירת מחדל מוגדרת בהגדרות תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000.
10. [אופציונלי] כדי להחליף את תיקיית הפלט, בחר בשדה Output Folder (תיקיית פלט) והזן מיקום חדש. השדה Output Folder (תיקיית פלט) מאוכלס באופן אוטומטי בהגדרות ברירת המחדל שלך; שדה זה נדרש כאשר האפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive) תחת (תיקיית פלט) מאוכלס באופן אוטומטי בהגדרות ברירת המחדל שלך; שדה זה נדרש אם בחרת באפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive), ניטור הפעלה ואחסון), תחת Save to BaseSpace Sequence Hub (שמירה ב-BaseSpace Sequence Hub) יופיע הכיתוב Enabled (מופעל).
אם בחרת באפשרות Proactive and Run Monitoring (Proactive) וניטור הפעלה), תחת Save to BaseSpace Sequence Hub (שמירה ב-BaseSpace Sequence Hub) מופיע הכיתוב Disabled (מושבת).
11. סקור את פרטי ההפעלה ולאחר מכן בחר **Prep** (הכנה).

התחלת הפעלה עצמאית

1. הגדר את מצב ההפעלה, כפי שמתואר בסעיף **קביעת תצורה של מצב הפעלה בעמוד 18**.
2. בחר **Start** (הפעל).
3. אם בחרת באפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive) או Proactive and Run Monitoring (Proactive) וניטור הפעלה), הזן את אישורי הכניסה שלך אל BaseSpace Sequence Hub ולאחר מכן בחר **Sign In** (היכנס).
4. אם בחרת Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive), ניטור הפעלה ואחסון), בחר את קבוצת העבודה של BaseSpace Sequence Hub כדי לשמור את ההפעלה שלך, ולאחר מכן בחר **Next** (הבא).
5. בחר **Set Up New Run** (הגדר הפעלה חדשה).
6. בשדה Run Name (שם הפעלה), הזן שם ייחודי לפי העדפתך כדי לזהות את ההפעלה הנוכחית. שם ההפעלה יכול להכיל תווים אלפאנומריים, קווים מפרידים, מקפים ומקפים תחתונים.
7. עבור Read Type (סוג קריאה), בחר כמה קריאות רצף לבצע:
 - **Single Read** (קריאה יחידה)—ביצוע קריאה אחת, שהוא האפשרות הפשוטה והמהירה יותר.
 - **Paired End** (קצה משוּר)—ביצוע שתי קריאות, שההתאמה ביניהן תיצור נתונים באיכות גבוהה יותר ותספק יישור מדויק יותר.
8. הזן את מספר המחזורים שיבוצעו בכל קריאה:

אין מספר מרבי של מחזורי אינדקס, אולם הסך הכולל של מחזורי קריאה ומחזורי אינדקס חייב להיות נמוך ממספר המחזורים שמופיע על תווית המחסנית ועוד 27.

Read 1 (קריאה 1)—הזן 1 עד 151 מחזורים.

Index 1 (אינדקס 1)—הזן את מספר המחזורים עבור התחל של i7 (Index 1 (i7) [אינדקס 1 (i7)]. להפעלת PhiX-בלבד, הזן 0 בשני שדות האינדקס.

Index 2 (אינדקס 2)—הזן את מספר המחזורים עבור התחל של i5 (Index 2 (i5) [אינדקס 2 (i5)].

Read 2 (קריאה 2)—הזן עד 151 מחזורים. בדרך-כלל ערך זהה לערך של קריאה 1.

9. אם בחרת באפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, ניטור הפעלה ואחסון), בחר באפשרות **Choose**... (בחירה...) כדי לייבא גיליון דגימה.

גרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 מזהה אוטומטית את הגרסה של DRAGEN מתוך גיליון הדגימה, ולפי הצורך תנחה אותך להחליף גרסאות. גרסת ה-DRAGEN חייבת להיות מותקנת במערכת. לקבלת מידע על ההתקנה ראה [עדכוני תוכנה בעמוד 67](#).



גיליון הדגימה שנבחר חייב להיות בעל עיצוב v2. כדי ליצור גיליון דגימה בעיצוב v2, הורד את גיליון הדגימה שנוצר מתוך Instrument Run Setup (הגדרת הפעלת המכשיר) ב-BaseSpace Sequence Hub, או ערוך תבנית עיצוב v2 של גיליון דגימה אשר מוצעת בדף התמיכה של NextSeq 1000/2000. לקבלת מידע נוסף על עיצוב ודרישות v2 של גיליון דגימה, ראה [הגדרות גיליון דגימה v2 בעמוד 77](#). ודא שכל הקבצים שאליהם מפנה גיליון הדגימה ממוקמים באותה תיקייה שבה נמצא גיליון הדגימה.

10. [אופציונלי] הזן את המיקומים של תחל הקריאה המותאם אישית ותחל האינדקס המותאם אישית.

לקבלת מידע על הכנה והוספה של תחלים מותאמים אישית, ראה [מדריך התחלים בהתאמה אישית של NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 \(מסמך מס' 1000000139569\)](#). הקפד לבקר בדף המוצרים התואמים של ערכת הכנת הספרייה שלך, כדי לבדוק את יש צורך בתחלים מותאמים אישית של Illumina.

11. [אופציונלי] בחר מתכון מותאם אישית. לקבלת מידע נוסף ראה [מחזור ריצוף חשוך בעמוד 89](#).

12. [אופציונלי] כדי לבצע דנטורציה ודילול של ספריות באופן ידני, בטל את הסימון בתיבה **Denature and Dilute**

On Board (דנטורציה ודילול בתוך המכשיר). ראה [מדריך דנטורציה ודילול של ספריות ב-NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 \(מסמך מס' 1000000139235\)](#).

הבחירה שנקבעה כברירת מחדל מוגדרת בהגדרות תוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000.

13. [אופציונלי] כדי להחליף את תיקיית הפלט, בחר בשדה Output Folder (תיקיית פלט) והזן מיקום חדש.

השדה Output Folder (תיקיית פלט) מאוכלס באופן אוטומטי בהגדרות ברירת המחדל שלך; שדה זה נדרש כאשר האפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, ניטור הפעלה ואחסון) אינה נבחרת.

14. בחר **Prep** (הכנה).

טעינת חומרים מתכלים במכשיר

1. לפני טעינת תא הזרימה (שהוסרה ממנו הלשונית האפורה) והספרייה המדוללת, ודא שהמחסנית הופשרה ונהפכה 10 פעמים לצורך ערבובה.

2. בחר **Load** (טעינה).

תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 פותחת את כיסוי המגן ומוציאה את המגש.

3. הנח את המחסנית במגש כאשר התווית פונה כלפי מעלה ותא הזרימה בתוך המכשיר. דחף את המחסנית פנימה עד שתינעל למקומה.



4. בחר **Close** (סגירה) כדי להכניס את המחסנית פנימה ולסגור את כיסוי המגן. תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000 מציגה מידע מהחומרים המתכלים שנסרקו כעבור כ-3 דקות.
5. [אופציונלי] בחר **Eject Cartridge** (הוצא מחסנית) כדי להוציא את המחסנית. כיסוי המגן נפתח כעבור דקה אחת ומוציא את המחסנית.
6. בחר **Sequence** (רצף).

בדיקות לפני הפעלה

בדיקות לפני הפעלה מורכבות מבדיקת מכשיר שלאחריה בדיקת פלואידיקה. בדיקת הפלואידיקה מנקבת את אטמי המחסנית, כך שיישמעו מהמכשיר 3-4 קולות פצפוף. זהו מצב צפוי. כעת המגיב מועבר דרך תא הזרימה.

⚠️ אחרי שבדיקת הפלואידיקה החלה, לא ניתן לעשות בחומרים המתכלים שימוש חוזר.

1. המתן כ-15 דקות עד שייסתימו הבדיקות שלפני ההפעלה. ההפעלה מתחילה אוטומטית לאחר השלמה מוצלחת.
2. אם מתרחשת שגיאה במהלך בדיקת המכשיר, בחר **Retry** (נסה שוב) כדי לחזור על הבדיקה. כאשר מתבצעת בדיקה, העיגול של אותה בדיקה כולל הנפשה.
3. כדי לפתור בעיות של שגיאות חוזרות, ראה [טיפול בהודעות שגיאה בעמוד 72](#).

ניטור התקדמות הפעלה

1. נטר את התקדמות ההפעלה והמדדים עם הופעתם במסך Sequencing (ריצוף).
 - **Estimated run completion** (השלמת הפעלה משוערת)—תאריך ושעת השלמת ההפעלה המשוערים. כדי לחשב זמן השלמת ריצה מדויק, מדד השלמת ההפעלה המשוערת צריך 10 הפעלות קודמות.
 - **Average %Q30** (ממוצע Q30)—האחוז הממוצע של קישורים בין בסיסים עם $Q \geq 30$.
 - **Projected Yield** (תפוקה חזויה)—המספר הצפוי של קישורים בין בסיסים בהפעלה.
 - **Total Reads PF** (סה"כ קריאות PF)—מספר האשכולות עם הקצה המשויך (אם רלוונטי) שעוברים סינון (במיליונים).

- **Real Time Demux** (פילוג בזמן אמת)—סטטוס הפילוג כאשר הוא מופעל בתחילת קריאה 2, לאחר השלמה של מחזורי קריאה 1, אינדקס 1 ואינדקס 2. הסטטוס יוצג כ-Complete (הושלם) גם אם לא בוצעו מחזורי אינדקס. לא זמין עבור הפעלות במצב ענן.
- **Real Time Alignment** (יישור בזמן אמת)—סטטוס היישור של קריאה 1 כאשר הוא מופעל בתחילת קריאה 2, לאחר השלמה של מחזורי קריאה 1, אינדקס 1 ואינדקס 2. לא זמין עבור הפעלות במצב ענן. Q30 ומדדי התפוקה מופיעים אחרי מחזור 26 (כ-6 שעות לאחר תחילת ההפעלה).
- 2. כדי לנטר תהליכי הפעלה, בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **Process Management** (ניהול תהליך).
- 3. כדי לבטל הפעלה, בחר **End Run** (סיים הפעלה). לקבלת מידע נוסף על ביטול הפעלות ראה **ביטול הפעלה בעמוד 73**.
- 4. פרוק את החומרים המתכלים מהמכשיר. הוצא את המחסנית מהמכשיר בתוך 3 ימים.

פריקת חומרים מתכלים

1. בהשלמת הריצוף בחר **Eject Cartridge** (הוצא מחסנית). התוכנה מוציאה את המחסנית המשומשת מהמכשיר.
 2. הסר את המחסנית מהמגש.
 3. הסר את תא הזרימה מהמחסנית.
 4. השלך את תא הזרימה, הכולל רכיבים אלקטרוניים, בהתאם לסטנדרטים החלים באזורך.
 5. [אופציונלי] הוצא את פקק הניקוז שנמצא מתחת לסמל של Illumina בצד המחסנית, מעל אזור מתאים (כיוור או מכל לפסולת נוזלית מסוכנת), כאשר הפקק מוצב אופקית או כלפי מטה, ואינו פונה אל הפנים שלך. נקז את המגיבים המשומשים בהתאם לסטנדרטים החלים באזורך. אם ריקון אוטומטי של המגיב אינו מופעל, משך הניקוז תלוי בגודל המחסנית.
- ⚠ | סדרה זו של מגיבים כוללת חומרים כימיים שעשויים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בצידוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנים האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים. למידע נוסף על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות שבכתובת support.illumina.com/sds.html.
6. השלך את מחסנית המגיב.
 - שטיפה לאחר הפעלה אינה נדרשת מאחר שהפלוואידיקה מושלכת עם המחסנית.
 7. בחר **Close Door** (סגור דלת) כדי לטעון מחדש את המגש ולחזור למסך הבית. התוכנה טוענת מחדש את המגש באופן אוטומטי והחיישנים מאשרים הסרה של המחסנית.

ניקוי מגש המחסנית

- ניקוי מגש המחסנית נדרש רק אם המגיב דלף על מגש המחסנית.
1. הוצא את המחסנית מהמכשיר.
 2. חבוש זוג חדש של כפפות ללא אבקה וביגוד מגן נוסף.
 3. רסס תמיסת הלבנה בריכוז 10% על מטלית.

4. נקה את מגש המחסנית באמצעות המטלית, ולאחר מכן הסר את תמיסת ההלבנה באמצעות מטלית גסה. אם חומר ההלבנה לא יוסר מיידית, הוא יכתים את מגש המחסנית.
5. רסס תמיסת אתנול בריכוז 70% על מגש המחסנית, והסר אותה מיידית באמצעות מטלית גסה.
6. החזר את מגש המחסנית למיקום הטעינה.

פלט ריצוף

סעיף זה מתאר את התוכנה Real-Time Analysis, אשר מבצעת קישור בין בסיסים, מקצה ציוני איכות ופולטת נתונים. תלמד על סוגי קובצי הפלט השונים והיכן לאתר אותם לאחר הפעלה.

סקירה של ניתוח בזמן אמת

מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 פועלות עם RTA3, יישום של תוכנת ניתוח בזמן אמת, במנוע המחשוב (CE) של המכשיר. RTA3 מחלצת את העוצמות מתמונות שהתקבלו מהמצלמה, מבצעת קישור בין בסיסים, מקצה ציוני איכות לקישורים בין בסיסים, מיישרת ביחס ל-PhiX, ומדווחת את הנתונים בקובצי ה-InterOp לצורך הצגה בתוכנת הבקרה של המכשיר.

כדי לבצע אופטימיזציה של זמן עיבוד, RTA3 מאחסנת את המידע בזיכרון. אם הפעילות של RTA3 מופסקת, העיבוד לא מתחדש וכל נתוני ההפעלו שמעובדים בזיכרון הולכים לאיבוד.

הקלט של RTA3

לצורך העיבוד, RTA3 צריכה תמונות אריחים אשר כלולות בזיכרון המערכת המקומי. RTA3 מקבלת מידע ופקודות על ההפעלה מתוכנת הבקרה.

הפלט של RTA3

התמונות לכל אחד מערוצי הצבע מועברות בזיכרון אל RTA3 כאריחים. מתמונות אלו, RTA3 מפיקה כפלט סדרה של קובצי קישור בין בסיסים וקובצי סינון בעלי ציון איכות מסוים. כל שאר תפוקות הפלט תומכות בקובצי פלט.

סוג קובץ	תיאור
קובצי קישור בין בסיסים	כל אחד מהאריחים שמנותחים נכלל בקובץ הקישור בין בסיסים (*.cbcl). המשורשר. אריחים מאותו מסלול ואותו משטח מקובצים לתוך קובץ *.cbcl אחד עבור כל מסלול ומשטח.
קובצי סינון	כל אחד מהאריחים יוצר קובץ מסנן (*.filter) אשר מציין אם אשכול מסוים עובר דרך מסננים.
קובצי מיקום של אשכולות	קובצי מיקום של אשכולות (*.locs) מכילים את קואורדינטות ה-X וה-Y עבור כל אשכול באריח. קובץ מיקום של אשכול מופק עבור כל אחת מהפעלות.

קובצי הפלט משמשים לניתוח בהמשך התהליך ב-DRAGEN וב-BaseSpace Sequence Hub.

טיפול בשגיאות

RTA3 יוצר קובצי יומן וכותב אותם בתיקייה Logs. השגיאות נרשמות בקובץ טקסט בתבנית הקובץ *.log.

קובצי היומן הבאים מועברים אל יעד הפלט הסופי בסוף העיבוד:

info_00000.log מסכם אירועים חשובים בהפעלה.

error_00000.log מפרט שגיאות שאירעו במהלך הפעלה.

warning_00000.log מפרט אזהרות שאירעו במהלך הפעלה.

אריחי תא הזרימה

אריחים הם אזורי הדמיה קטנים על תא הזרימה. המצלמה מצלמת תמונה אחת לכל אריח.

בתא הזרימה NextSeq 1000/2000 P2 יש 132 אריחים בסך הכל. בתא הזרימה NextSeq 1000/2000 P3 יש 264 אריחים בסך הכל.

טבלה 5 אריחי תא הזרימה

תיאור	תא זרימה NextSeq 1000/2000 P3	תא זרימה NextSeq 1000/2000 P2	רכיב תא הזרימה
המסלולים מופרדים אופטית, אולם ללא הפרדה פלואידית של ערוצים.	2	1	מסלולים
הדמיית תאי הזרימה P2 ו-P3 מבוצעת בשני משטחים: העליון והתחתון. תחילה מבוצעת ההדמיה של המשטח העליון של אריח.	2	2	משטחים
ענף הוא עמודה במסלול של תא זרימה.	6	6	ענפים בכל מסלול
אריח הוא חלק של ענף, ומתאר אזור שבוצעה לו הדמיה בתא הזרימה.	11	11	אריחים בענף
מספר האריחים הכולל שווה למכפלה הבאה: מסלולים × משטחים × ענפים × אריחים לענף.	264	132	סה"כ אריחים שנוצרו

מתן שמות לאריחים

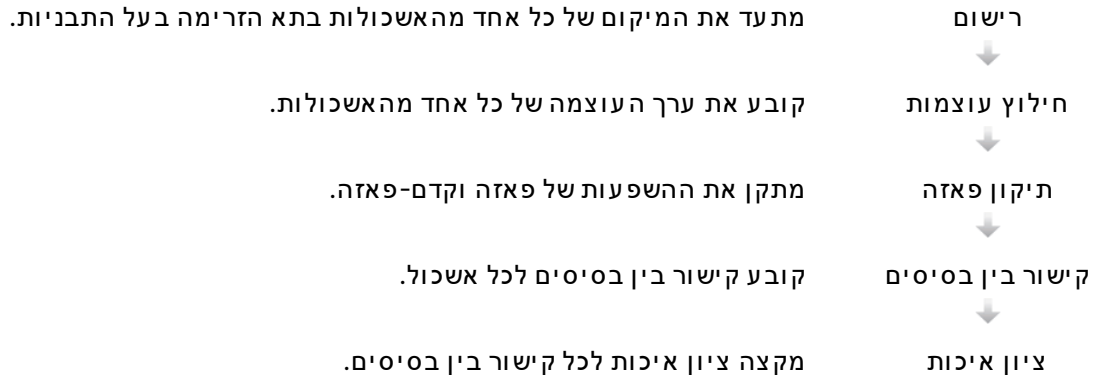
שם האריח הוא מספר בן ארבע ספרות אשר מייצג את מיקום האריח בתא הזרימה. לדוגמה, שם האריח 1205 מציין משטח עליון, ענף 2, אריח 05.

הספרה הראשונה מייצגת את המשטח: 1 עבור העליון או 2 עבור התחתון.

הספרה השנייה מייצגת את מספר הענף: 1, 2, 3, 4, 5 או 6.

שתי הספרות האחרונות מייצגות את מספר האריח. עבור מספרי הענפים 1-4, המספור מתחיל מ-01 בקצה היציאה של תא הזרימה, עד 11 בקצה הכניסה. עבור מספרי הענפים 5-6, המספור מתחיל מ-01 בקצה הכניסה, עד 11 בקצה היציאה.

זרימת עבודה של ניתוח בזמן אמת



רישום

הרישום מיישר תמונה ביחס למערך הריבוע המסובב של ננו-פתחים בתא הזרימה בעל התבניות. בשל המערך המסודר של הננו-פתחים, קואורדינטות ה-X וה-Y של כל אשכול באריח הן קבועות מראש. מיקומי האשכולות נכתבים בקובץ מיקום אשכול (s.locs) עבור כל הפעלה. אם הרישום של הדמיות כלשהן במחזור נכשל, לא נוצרים קישורים בין בסיסים עבור אותו אריח במחזור זה. השתמש ב-Sequencing Analysis Viewer כדי לזהות אילו רישומי הדמיות נכשלו.

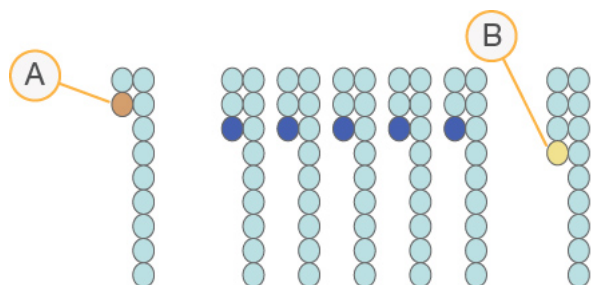
חילוץ עוצמות

לאחר הרישום, חילוץ העוצמות מחשב ערך של עוצמה עבור כל ננו-פתח בתמונה נתונה. אם הרישום נכשל, אין אפשרות לחלץ את העוצמה של אותו אריח.

תיקון פאזה

במהלך תגובת הריצוף, כל גדיל DNA באשכול מתארך בבסיס אחד לכל מחזור. פאזה וקדם-פאזה מתרחשות כאשר גדיל יוצא מחוץ לפאזה של מחזור האיגוד הנוכחי. פאזה מתרחשת כאשר הבסיס מעוכב. קדם-פאזה מתרחשת כאשר הבסיס מקדים.

איור 5 פאזה וקדם-פאזה



A. קריאה עם בסיס שיוצר פאזה
 B. קריאה עם בסיס שיוצר קדם-פאזה.

RTA3 מתקן את השפעות הפאזה והקדם-פאזה, ובכך ממקסם את איכות הנתונים בכל מחזור לאורך ההפעלה.

קישור בין בסיסים

קישור בין בסיסים קובע בסיס (A, C, G או T) לכל אשכול או אריח נתון במחזור ספציפי. מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000 משתמשות בריצוף בשני ערוצים, אשר מצריך רק שתי הדמיות כדי לקודד את הנתונים עבור ארבעה בסיסי DNA, אחד מהערוץ הירוק ואחד מהערוץ הכחול.

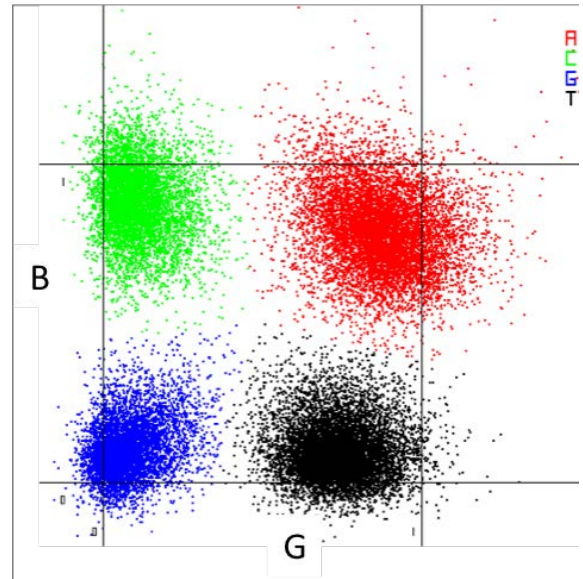
היעדר קשרים מזהה באות N. מצב של היעדר קשרים מתרחש כאשר אשכול מסוים לא עובר דרך מסנן, כשרישום נכשל, או כשאשכול מוסט מההדמיה.

העוצמות של כל אחד מהאשכולות מחולצות מההדמיות הירוקה והכחולה ומושוות זו לזו, כך שמתקבלות ארבע אוכלוסיות נפרדות. כל אחת מהאוכלוסיות תואמת לבסיס. תהליך הקישור בין בסיסים קובע לאיזו אוכלוסייה שייך כל אשכול.

טבלה 6 קישורים בין בסיסים בריצוף עם 2 ערוצים

תוצאה	ערוץ כחול	ערוץ ירוק	בסיס
אשכולות שמציגים את העוצמה בערוצים הירוק והכחול.	1 (נוכח)	1 (נוכח)	A
אשכולות שמציגים את העוצמה בערוץ הכחול בלבד.	1 (נוכח)	0 (לא נוכח)	C
אשכולות שאינם מציגים עוצמה במיקום אשכול ידוע.	0 (לא נוכח)	0 (לא נוכח)	G
אשכולות שמציגים את העוצמה בערוץ הירוק בלבד.	0 (לא נוכח)	1 (נוכח)	T

איור 6 המחשה חזותית של עוצמות אשכולות



הצבע של כל אשכול תואם לתרשימי ה-Base% (SAV-Sequence Analysis Viewer) וב-BaseSpace | [i](#)
 Sequence Hub Run Data by Cycle; הצבעים אינם אמורים להיות תואמים לערוצים הירוק והכחול.

מסנן העברת אשכולות

במהלך ההפעלה, RTA3 מסנן נתונים גולמיים כדי להסיר קריאות שאינן עומדות בסף של איכות הנתונים. אשכולות חופפים ואשכולות באיכות נמוכה מוסרים.

עבור ניתוח בשני ערוצים, RTA3 משתמש במערכת מבוססת-אוכלוסיה כדי לקבוע את מידת הטוהר (מדידת עוצמת הטוהר) של קישור בין בסיסים. אשכולות עוברים את הסינון (PF) כאשר רמת הטוהר של לא יותר מקישור בין בסיסים אחד ב-25 המחזורים הראשונים נמוכה מערך סף שנקבע. כאשר הוא נכלל, יישור PhiX מתבצע במחזור 26 במערכת-משנה של אריחים עבור אשכולות שעברו את הסינון. באשכולות שלא עוברים את הסינון לא מתבצעות פעולות קישור בין בסיסים ויישור.

ציוני איכות


ציון איכות (ציון Q) הוא תחזית של ההסתברות לקישור לא נכון בין בסיסים. ציון Q גבוה יותר פירושו קישור בין בסיסים באיכות גבוהה יותר, עם הסתברות גבוהה יותר לכך שיהיה תקין. אחרי שנקבע ציון ה-Q, התוצאות נרשמות בקובצי הקישור בין בסיסים (*.cbcl).

ציון ה-Q מעביר מסר תמציתי על הסתברויות קטנות לשגיאות. ציוני האיכות מיוצגים כ-Q(X), כאשר X הוא הציון. הטבלה הבאה מציגה את הקשר בין ציון איכות והסתברות לשגיאה.

הסתברות לשגיאה	ציון Q (X)
0.0001 (1 מתוך 10,000)	Q40
0.001 (1 מתוך 1000)	Q30
0.01 (1 מתוך 100)	Q20
0.1 (1 מתוך 10)	Q10

ציון איכות ודיווח

ציון האיכות מחשב סדרה של גורמי חיזוי עבור כל קישור בין בסיסים, ולאחר מכן משתמש בערכי החיזוי כדי לחפש את ציון ה-Q בטבלת איכות. טבלאות האיכות נוצרות כדי לספק חיזויי איכות בדיוק אופטימלי עבור הפעלות הנוצרות באמצעות תצורה ספציפית של פלטפורמת ריצוף וגרסת כימיה.

ציון האיכות מבוסס על גרסה מתוקנת של אלגוריתם Phred. 

כדי להפיק את טבלת ה-Q עבור מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000, נקבעו שלוש קבוצות של קישורים בין בסיסים, על-פי החלוקה לאשכולות של תכונות החיזוי הספציפיות הללו. לאחר הקיבוץ של הקישורים בין בסיסים, קצב השגיאות הממוצע חושב אמפירית עבור כל אחת משלוש הקבוצות, וציוני ה-Q המתאימים נרשמו בטבלת ה-Q לצד תכונות החיזוי התואמות לאותה קבוצה. כמות שהם, רק שלושה ציוני Q אפשריים ב-RTA3, וציוני ה-Q הללו מייצגים את קצב השגיאות הממוצע של הקבוצה (מתן ציון Q מפושת עם RTA3 בעמוד 54). ככלל, התוצאה של מצב זה היא ציון איכות מפושת, ועם זאת מדויק מאוד. שלוש הקבוצות בטבלת האיכות תואמות לקישורים בין הבסיסים ברמה שולית (> Q15), ברמה בינונית (~Q20), ובאיכות גבוהה (< Q30), ומוקצים להן הציונים הספציפיים 12, 23, ו-37, בהתאמה. בנוסף, למצבים של היעדר קישור, מוקצה ציון 2, שאין לו תוקף. מודל זה של דיווח על ציון Q מצמצם את שטח האחסון ואת דרישות רוחב הפס מבלי להשפיע על הדיוק והביצועים.

איור 7 מתן ציון Q מפושת עם RTA3



קובצי פלט של ריצוף

תיאור, מיקום ושם הקובץ	סוג קובץ
<p>כל אחד מהאשכולות המנותחים נכלל בקובץ קישור בין בסיסים משורשר, אשר צבור בקובץ אחד לכל מחזור, מסלול ומשטח. הקובץ הצבור כולל את קובצי הקישור בין הבסיסים ששורשרו ואת ציון האיכות המקודד של כל אשכול. קובצי הקישור בין הבסיסים המשורשרים נמצאים בשימוש ב-BaseSpace Sequence Hub או ב-.bcl2fastq2</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L001_1.cbcl לדוגמה ,L[lane]_[surface].cbcl</p>	קובצי קישור בין בסיסים משורשרים
<p>עבור כל תא זרימה, קובץ מיקום אשכולות בינארי כולל את קואורדינטות ה-XY של האשכולות באריח. פריסה משושה אשר תואמת לפריסת הננו-פתח של תא הזרימה מגדירה מראש את הקואורדינטות.</p> <p>Data/Intensities s_[lane].locs</p>	קובצי מיקום של אשכולות
<p>קובץ המסנן מציין אם אשכול מסוים עבר דרך מסננים. קובצי הסינון נוצרים במחזור 26 באמצעות 25 מחזורי נתונים. לכל אריח נוצר קובץ סינון אחד.</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter</p>	קובצי סינון
<p>ניתן להציג קובצי דיווח בינאריים במכשיר באמצעות תוכנת הבקרה של המכשיר, או מחוץ למכשיר ב-SAV או BaseSpace Sequence Hub. קובצי ה-InterOp מתעדכנים במהלך ההפעלה.</p> <p>InterOp תיקיית</p>	קובצי InterOp
<p>מפרט את שם ההפעלה, מספר המחזורים בכל קריאה, אם לקריאה יש קריאת אינדקס ומה מספר הענפים והאריחים בתא הזרימה. קובץ פרטי ההפעלה נוצר בתחילת ההפעלה.</p> <p>RunInfo.xml ,[Root folder]</p>	קובץ פרטי הפעלה

קובצי פלט של ניתוח משני ב-DRAGEN

פלטפורמת DRAGEN Bio-IT ממשיכה בניתוח פלט הריצוף במכשיר, על-ידי שימוש באחת מצינורות הניתוח הבאים.

- המרת BCL
- שורת נבט
- RNA
- Enrichment
- RNA של תא יחיד
- DNA Amplicon

סעיף זה מספק מידע על כל אחד מהצינורות של DRAGEN, לרבות מידע על קובץ פלט. בנוסף ליצירת קבצים הספציפיים לכל צינור, DRAGEN מספק מדדים מהניתוח בקובץ `<sample_name>.metrics.json` ואת הדוחות המתוארים בצינור [המרת BCL ב-DRAGEN בעמוד 60](#). לקבלת מידע נוסף על DRAGEN, עיין בדף [אתר התמיכה של פלטפורמת DRAGEN Bio-IT](#).

כל הצינורות של DRAGEN תומכים בביטול הדחיסה של קובצי BCL המשמשים כקלט ובדחיסה של קובצי BAM/CRAM המשמשים כפלט.

שיקולי קובץ פלט:

- עבור צינורות שורת נבט, RNA, Enrichment ו-DNA Amplicon אשר מפעילים ניתוח במכשיר, לא תתבצע העלאה של קובצי BAM אל BaseSpace Sequence Hub אם נבחרה האפשרות Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive), ניטור הפעלה ואחסון).

צינור Enrichment של DRAGEN

צינור Enrichment של DRAGEN תומך בתכונות הבאות. אם נעשה שימוש ב-DRAGEN 3.7 או במהדורה מאוחרת יותר, יש תמיכה גם במצב שורת נבט וגם במצב סומטי (גידול בלבד).

- פילוג דגימות
 - מיפוי ויישור, לרבות מיון והכפלת סימונים
 - קישור בין וריאנטים קטנים
 - קישור בין וריאנטים מבניים
- כדי לבצע קישור בין וריאנטים, הכרחי לכלול קובץ `*.bed` בגיליון הדגימה או לציינו בהגדרות הפעלת המכשיר ב-BaseSpace Sequence Hub. קישור מבני בין וריאנטים נוצר רק עבור קריאות עם קצה משויך ובמצב שורת נבט. אם נעשה שימוש ב-DRAGEN Enrichment גרסה 3.8 ואילך, באפשרותך להזין קובץ בסיס רעש כדי לשפר את הביצועים במצב סומטי. ראה ["יבוא קובצי בסיס רעש בעמוד 17"](#).
- הצינור יוצר את קובצי הפלט הבאים.

רכיב	סוג	שם קובץ פלט
מיפוי/יישור	BAM או CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.bam</code>, או • <code><sample_name>.cram</code>
קישור בין וריאנטים קטנים	VCF ו- *gVCF	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz</code> • <code><sample_name>.hard-filtered.vcf.gz</code>
קישור בין וריאנטים מבניים	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.sv.vcf.gz</code>

* קובצי פלט gVCF זמינים רק עבור מצב שורת נבט.

צינור שורת נבט של DRAGEN

צינור שורת נבט של DRAGEN תומך בתכונות הבאות:

- פילוג דגימות

- מיפוי ויישור, לרבות מיון והכפלת סימונים
 - קישור בין וריאנטים קטנים
 - קישור בין וריאנטים מבניים עבור קריאות עם קצה משויך
 - קישור בין וריאנטי מספר עותקים עבור גנומים אנושיים
 - חזרה על הרחבות עבור גנומים אנושיים
 - אזורי הומוזיגוטיות עבור גנומים אנושיים
 - [DRAGEN v3.8] או גרסאות מאוחרות יותר] זיהוי CYP2D6
- קישור מבני בין וריאנטים נוצר רק עבור קריאות עם קצה משויך.
הצינור יוצר את קובצי הפלט הבאים.

רכיב	סוג	שם קובץ פלט
מיפוי/יישור	BAM או CRAM	• <sample_name>.bam , או • <sample_name>.cram
קישור בין וריאנטים קטנים	VCF ו-gVCF	• <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
מקשר בין וריאנטים מבניים	VCF	• <sample_name>.sv.vcf.gz
וריאנטי מספר עותקים	VCF	• <sample_name>.cnv.vcf.gz
חזרה על הרחבה	VCF	• <sample_name>.repeats.vcf.gz
אזורי הומוזיגוטיות	CSV ו-BED	• <sample_name>.roh_metrics.csv • <sample_name>.roh.bed
זיהוי CYP2D6	TSV	• <sample_name>.cyp2d6.tsv

צינור DNA Amplicon של DRAGEN

הצינור של DRAGEN תומך בתכונות הבאות:

- פילוג דגימות
 - מיפוי ויישור, לרבות מיון והכפלת סימונים
 - קישור בין וריאנטים קטנים במצב שורת נבט או במצב סומטי.
- כדי לבצע קישור בין וריאנטים, הכרחי לכלול קובץ *.bed בגיליון הדגימה או לציינו בהגדרות הפעלת המכשיר ב-BaseSpace Sequence Hub.

הצינור יוצר את קובצי הפלט הבאים.

רכיב	סוג	שם קובץ פלט
מיפוי/יישור	BAM או CRAM	• <sample_name>.bam , או • <sample_name>.cram
קישור בין וריאנטים קטנים	VCF ו- *gVCF	• <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz

* קובצי פלט gVCF זמינים רק במצב שורת נבט.

צינור RNA של DRAGEN

צינור ה-RNA של DRAGEN תומך בתכונות הבאות

- פילוג דגימות
- מיפוי ויישור, לרבות מיון והכפלת סימונים
- זיהוי איחוי גנטי
- כימות תעתיקים
- [DRAGEN v3.8, או גרסה מאוחרת יותר] ביטוי גן דיפרנציאלי

כדי ליצור קובצי פלט, ציין קובץ GTF בגיליון הדגימה או ודא שערך ברירת המחדל genes.gtf.gz קיים עם גנום הייחוס.

הצינור יוצר את קובצי הפלט הבאים.

רכיב	סוג	שם קובץ פלט	תיאור
מיפוי/יישור	BAM או CRAM	• <sample_name>.bam , או • <sample_name>.cram	פלט יישור העומד במפרט של SAM.
זיהוי איחוי גנטי	טקסט רגיל	• <sample_name>.fusion_candidates.preliminary	• מועמדים לאיחוי לפני החלת מסננים.
		• <sample_name>.fusion_candidates.final	• מועמדים לאיחוי לאחר החלת מסננים.

רכיב	סוג	שם קובץ פלט	תיאור
כימות תעתיקים	טקסט רגיל	sample_name.quant.genes.sf	<ul style="list-style-type: none"> תוצאות כימות תעתיקים ברמת הגן.
		sample_name.quant.sf	<ul style="list-style-type: none"> כל תוצאות כימות התעתיקים.
ביטוי דיפרנציאלי	PNG	עיין בטבלת קובצי הפלט הבאה של הביטויים הדיפרנציאליים.	כדי ליצור קובצי פלט, הכרחי להגדיר השוואה בגיליון הדגימה.

הקבצים הבאים מתקבלים כאשר מופעל ביטוי דיפרנציאלי.

שם קובץ	תיאור
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	מכיל מדדי ניתוח של ביטויים דיפרנציאליים.
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	מתאר את מספר הקריאות הממופות לכל גן עבור כל אחת מהדגימות בקבוצות הבקרה והשוואה.
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	מפת חום של הביטוי של גנים בעלי ביטויים דיפרנציאליים עבור דגימות בקבוצות הבקרה והשוואה. מפת החום מציגה רק גנים עם ביטויים דיפרנציאליים בעלי ערך P מתואם < 0.05 . אם ישנם יותר מ-30 גנים עם ביטויים דיפרנציאליים, נעשה שימוש רק ב-30 הגנים המובילים בעלי הביטויים הדיפרנציאליים. במקרה של כשל בהתכנסות של DESeq1, או אם אין גנים בעלי ביטוי דיפרנציאלי, הקובץ לא נוצר.
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	מכיל את הווריאציה של יחסי הביטוי של הגן כפונקציה של עוצמת האות הממוצעת. כדי להציג את ההבדלים בין המדידות שבוצעו בשתי הדגימות, התרשים מבצע המרה של הנתונים לסולמות M (יחס לוגריתמי) ו-A (ממוצע), ולאחר מכן יוצר תרשים של הערכים. תרשים ה-MA מציג את השינוי בכפולות של \log_2 שניתן לייחסם למשתנה נתון על פני הממוצע של ספירות מנורמלות עבור כל הדגימות. אם ערך ה-P המתואם נמוך מ-0.1, הנקודות אדומות. נקודות שנמצאות מחוץ לחלון מוצגות בתרשים כמשולשים פתוחים. משולשים הנראים כחץ מעלה מייצגים שינוי לוגריתמי חיובי. משולשים הנראים כחץ מטה מייצגים שינוי לוגריתמי שלילי.
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	תרשים המציג את שני הרכיבים העיקריים שמסבירים את עיקר השונות.

שם קובץ	תיאור
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	מכיל תוצאות DESeq2, אשר מתארות את הביטוי הממוצע, \log_2 (כפל שינוי), שגיאת התקן של \log_2 , ערך ה-P, ערך ה-P-המתואם, וסטטוס הביטוי של כל אחד מהגנים.
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	מכיל ספירות מתוקננות שעברו טרנספורמציה לוגריתמית המחושבות על-ידי DESeq2.

צינור RNA של תא יחיד ב-DRAGEN

DRAGEN תומך בתכונות הבאות:

- פילוג דגימות
- מיפוי ויישור, לרבות מיון והכפלת סימונים
- סיווג תאים וגנים

כדי ליצור קובצי פלט, ציין קובץ GTF בגיליון הדגימה או ודא שערך ברירת המחדל `genes.gtf.gz` קיים עם גנום הייחוס.

הצינור יוצר את קובצי הפלט הבאים.

רכיב	סוג	שם קובץ פלט
מיפוי/יישור	BAM או CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.bam</code>, או • <code><sample_name>.cram</code>
סיווג תא/גן	TSV, CSV או MTX	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.scRNA.barcodeSummary.tsv</code> • <code><sample_name>.scRNA.genes.tsv</code> • <code><sample_name>.scRNA.matrix.mtx</code>
דוחות ניתוח	HTML	<code><sample_name>.dragen.scrna-report.*.html</code>

צינור המרת BCL ב-DRAGEN

צינור המרת ה-BCL ב-DRAGEN משתמש בנתוני BCL שנוצרו מתוך הפעלת הריצוף שלך ובמידע מגיליון הדגימה כדי להפיק קובץ FASTQ עבור כל אחת מהדגימות. שם קובץ ה-FASTQ הוא `<sample_name>.fastq.gz`. הצינור יוצר את הדוחות הבאים.

רכיב	סוג	שם קובץ פלט
פילוג	CSV	<ul style="list-style-type: none"> • <code>Demultiplex_Stats.csv</code>
מדדי מתאם	CSV	<ul style="list-style-type: none"> • <code>Adapter_Metrics.csv</code>
תנודתיות מדדים	CSV	<ul style="list-style-type: none"> • <code>Index_Hopping_Counts.csv</code>
ברקודים לא ידועים מובילים	CSV	<ul style="list-style-type: none"> • <code>Top_Unknown_Barcodes.csv</code>

דוח סטטיסטיקת פילוג

דוח סטטיסטיקת הפילוג כולל מידע על מספר קריאות מסנן ההעברה אשר מוקצות לכל דגימה בגיליון הדגימה. כל הקריאות שאינן משויכות בבירור לדגימה מסוימת מסווגות כקריאות שלא נקבעו. הדוח גם כולל מידע על ציוני האיכות של בסיסים בקריאות מסנן ההעברה (PF) שהוקצו לכל דגימה. המידע הבא נכלל.

ממד	תיאור
מסלול	המסלול בתא הזרימה שבו הדגימה רוצפה.
SampleID	מזהה הדגימה מתוך גיליון הדגימה. אם קריאה מסוימת אינה תואמת לדגימה, בשדה מוצג הכיתוב undetermined (לא נקבעה).
אינדקס	השרשור של קריאת אינדקס 1 וקריאת אינדקס 2 מתוך גיליון הדגימה, כשהן מופרדות באמצעות מקף. אם קריאה מסוימת אינה תואמת לדגימה, בשדה מוצג הכיתוב undetermined (לא נקבעה).
מס' קריאות	מספר קריאות ה-PF שפולגו עבור הדגימה במסלול שצוין.
מס' קריאות אינדקס מושלמות	מספר הקריאות שלהן התאמה מושלמת לרצפי האינדקס המשולבים שצוינו בגיליון הדגימה.
מס' קריאות אינדקס עם מצב אי-התאמה אחד	מספר הקריאות הכוללות שגיאה אחת ברצפי האינדקס המשולבים שצוינו בגיליון הדגימה.
מס' בסיסים עם ערך \leq (PF) Q30	מספר הבסיסים, כולל מתאמים, אשר תואמים לקריאות שעוברות סף איכות של Q30.
ציון איכות ממוצע (PF)	ציון האיכות הממוצע לקריאות התואמות לדגימה במסלול שצוין. הערך כולל בסיסי מתאם.

דוחות מדדי מתאם

קובץ מדדי המתאם כולל את מספר בסיסי הדגימות והמתאם אשר משויכים לכל קריאה. המידע הבא נכלל.

ממד	תיאור
מסלול	המסלול בתא הזרימה שבו הדגימה רוצפה.
Sample_ID	מזהה הדגימה מתוך גיליון הדגימה. אם קריאה מסוימת אינה תואמת לדגימה, בשדה מוצג הכיתוב undetermined (לא נקבעה).
אינדקס	הרצף index1 מתוך גיליון הדגימה. השדה ריק אם האינדקס לא צוין בגיליון הדגימה או אם ערך מזהה הדגימה הוא undetermined (לא נקבע).

מדד	תיאור
index2	הרצף index2 מתוך גיליון הדגימה. השדה ריק אם index2 לא צוין בגיליון הדגימה או אם ערך מזהה הדגימה הוא undetermined (לא נקבע).
R1_AdapterBases	מספר הבסיסים התואמים ל-AdapterRead1 בגיליון הדגימה.
R1_SampleBases	מספר הבסיסים שקוצרו או הוסו מתוך קריאה 1 עבור המסלול והדגימה המתאימים.
R2_AdapterBases	מספר הבסיסים התואמים ל-AdapterRead2 בגיליון הדגימה.
R2_SampleBases	מספר הבסיסים שקוצרו או הוסו מתוך קריאה 2 עבור המסלול והדגימה המתאימים.
מס' קריאות	מספר הקריאות עבור הדגימה במסלול שצוין.

דוח ספירות תנודתיות מדדים

דוח ספירות תנודתיות המדדים כולל את מספר הקריאות עבור כל אינדקס צפוי או תנודתי בהפעלות עם אינדקס כפול. הדוח כולל רק אינדקסים כפולים ייחודיים לכל מסלול, שבו לא זוהתה התנגשות ברקודים באחד מהאינדקסים. כדי ליצור אינדקסים של תנודתיות מדדים למסלול מסוים, כל זוג ערכים בכל אחד מהמדדים חייב להיות בעל מרחק המינימום של לפחות $2N + 1$, כאשר N מייצג את הסובלנות לאי-התאמה בין ברקודים שצוינה עבור האינדקס. המידע הבא נכלל.

עבור הפעלות ללא אינדקס, הפעלות עם אינדקס יחיד או מסלולים שאינם כוללים אינדקסים כפולים ייחודיים, הקובץ מכיל רק את הכותרות העליונות.

מדד	תיאור
מסלול	המסלול בתא הזרימה שבו הדגימה רוצפה.
מס' קריאות	מספר הקריאות עבור הדגימה במסלול שצוין.
SampleID	מזהה הדגימה מתוך גיליון הדגימה. אם קריאה מסוימת אינה תואמת לדגימה, בשדה מוצג הכיתוב undetermined (לא נקבע).
אינדקס	הרצף index1 מתוך גיליון הדגימה. השדה ריק אם קריאה היא בעלת קצה יחיד או אם ערך מזהה הדגימה הוא undetermined (לא נקבע).
index2	הרצף index2 מתוך גיליון הדגימה. השדה ריק אם קריאה היא בעלת קצה יחיד או אם ערך מזהה הדגימה הוא undetermined (לא נקבע).

דוח ברקודים לא ידועים מובילים

דוח הברקודים הלא ידועים המובילים מכיל את 100 האינדקסים המובילים, או צמדי האינדקסים לכל מסלול, שלא זוהו בגיליון הדגימה על-פי מספר אי-ההתאמות המותר. אם ישנם מספר ערכי אינדקס במקום ה-100 בספירת האינדקסים המובילים, כל ערכי האינדקס שכוללים את אותה ספירה יופקו בפלט בתור הערך ה-100.

המידע הבא נכלל:

ממד	תיאור
מסלול	המסלול בתא הזרימה שבו הדגימה רוצפה.
אינדקס	הרצף עבור כל אינדקס לא ידוע בקריאת אינדקס 1. אם לא נמצאים אינדקסים לא ידועים, השדה ריק.
index2	הרצף עבור כל אינדקס לא ידוע בקריאת אינדקס 2. אם ההפעלה הייתה עם קריאה יחידה, או אם לא נמצאו אינדקסים לא ידועים, השדה ריק.
מס' קריאות	מספר הקריאות עבור הדגימה במסלול שצוין.

דוחות QC של Illumina DRAGEN

עבור כל הצינורות, DRAGEN FastQC יוצר תרשימי QC כברירת מחדל. תוצאות ה-QC שקובצו מאוחסנות בתיקייה `AggregatedFastqcMetrics` והתוצאות לפי דגימה מאוחסנות בתיקייה `<sample_name>`. אם מספר הדגימות גבוה מ-512, דוחות QC אינם מופקים. מסופקים תרשימי ה-QC הבאים.

תרשים QC	תיאור
adapter_content	אחוז הרצפים עבור כל אחד מצמדי הבסיסים.
positional_mean_quality	ציון איכות בסיס ממוצע על-פי סולם Phred עבור כל מיקום קריאה.
gc_content	אחוז תוכן ה-GC עבור כל אחת מקריאות הריצוף.
positional_quality.read_1	ערך איכות ממוצע של בסיסים, על-פי סולם Phred, עם נוקלאוטיד ספציפי ובמיקום נתון בקריאה 1.
gc_quality	
positional_quality.read_2	ערך איכות ממוצע של בסיסים, על-פי סולם Phred, עם נוקלאוטיד ספציפי ובמיקום נתון בקריאה 2.
n_content	
read_length	אורך הרצף עבור כל קריאה.
positional_base_content.read_1	מספר הבסיסים של כל נוקלאוטיד ספציפי במיקומים נתונים בקריאה 1.
read_quality	ציון איכות ממוצע על-פי סולם Phred עבור כל קריאת רצף.
positional_base_content.read_2	מספר הבסיסים של כל נוקלאוטיד ספציפי במיקומים נתונים בקריאה 2.

מבנה תיקיות פלט של ניתוח משני ב-DRAGEN

כברירת מחדל, DRAGEN יוצר קובצי פלט בתיקיית הפלט שנבחרה בכרטיסייה Settings (הגדרות). עבור כל זרימת עבודה, DRAGEN יוצר דוח מסכם בקובץ `.report.html`.

נתונים

`report.html`

`report_files`

AggregateFastQCPlots

`*.png`

`*stderr_.txt`

`*stdout_.txt`

`dragen_prev_48_hrs.log`

`d1m_prev_48_hrs.log`

`SampleSheet.csv`

קבצי קלט הפעלה (למשל קבצי BED, GTF)

sample_name

enrich_caller, germline_seq, dna_amplicon_seq, rna_seq, or scrna_seq

sample_name

`*.png`

`dragen_*.log`

`sample_name.*.metrics.csv`

[DNA] `sample_name.*.vcf.gz`

[DNA] `sample_name.*.gvcf.gz` –לא זמין עבור צינור Amplicon (סומטי) של

פלטפורמת DRAGEN Bio-IT.

`sample_name.*.bam or sample_name.*.cram`

Logs

[RNA] `sample_name.fusion_candidates.filter_info`

[RNA] `sample_name.fusion_candidates.final`

[RNA] `sample_name.quant.genes.sf`

[RNA] `sample_name.quant.sf`

`sample_name.metrics.json`

```

[scRNA] sample_dragen-scRNA-report.*.html
[scRNA] sample_name.scRNA.barcodeSummary.tsv
[Germline] sample_name.roh_metrics.csv
[Germline] sample_name.roh.bed
[Germline] sample_name.cyp2d6.tsv
sample_name.fastqc_metrics.csv
sample_name.trimmer_metrics.csv
[RNA] DifferentialExpression
    Comparison1
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv
Control_vs_Comparison.genes.disp.pdf
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.pdf
Control_vs_Comparison.genes.ma.pdf
Control_vs_Comparison.genes.pca.pdf
Control_vs_Comparison.genes.res.csv
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv
    ComparisonN
        logs
            *.txt
            *.csv
        .true—fastq זמין רק אם KeepFastq מוגדר כ-true
            *.fastq.gz
        .dragen—ora_fastq זמין רק אם FastqCompressionFormat מוגדר כ-dragen
            *.fastq.ora
RunInstrumentAnalyticsMetrics
    0001
        dataset.json
        fastqc_metrics.csv
    0002
        dataset.json

```

fastqc_metrics.csv

Adapter_Metrics.csv

Demultiplex_Stats.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Reports

Demultiplex_Stats.csv

RunInfo.xml

Trim_Metrics.csv

fastq_list.csv

SampleSheet.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Top_Unknown_Barcodes.csv

Read1InstrumentAnalyticsMetrics**0001**

dataset.json

0002

dataset.json

Adapter_Metrics.csv

Demultiplex_Stats.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Read1Metrics

Adapter_Metrics.csv

Index_Hopping_Counts.csv

תחזוקה

סעיף זה מתאר את ההליכים הנדרשים לתחזוקה תקינה של המערכת. למד כיצד להתקין עדכוני תוכנה, להחליף את מסנן האוויר ולבצע הליכי תחזוקה תקופתיים אחרים. שמירה על עדכניות תוכנת הבקרה תבטיח שבמערכת יותקנו התכונות ותיקוני הבאגים החדשים ביותר, כדי להשיג את הביצועים המיטביים.

פינוי שטח בדיסק הקשיח

הפעלת ריצוף מצריכה כ-200 GB של שטח בכוון הקשיח המקומי. כשהשטח מועט, מוצגת הודעת אזהרה. בצע את השלבים הבאים כדי לפנות שטח על-ידי מחיקה של הפעלות שהושלמו וגנומי ייחוס מותקנים מתיקיית הפעלה זמנית.

⚠ מחק הפעלות רק באמצעות תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000, ולא באופן ידני דרך מערכת ההפעלה. מחיקה ידנית של הפעלות עלולה להשפיע באופן שלילי על תוכנת הבקרה.

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Disk Management** (ניהול דיסק).
2. המסך **Disk Management** (ניהול דיסק) מופיע, יחד עם רשימת הפעלות וגנומי ייחוס שנשמרו בכוון הקשיח המקומי.
3. בחר באפשרות **Delete Run** (מחק הפעלה) עבור ההפעלה שברצונך למחוק.
4. מחיקת הפעלה מוחקת את תיקיית ההפעלה המקומית. תיקיית הפלט, שהיא עותק של תיקיית ההפעלה, נשמרת.
5. בתיבת הדו-שיח, בחר **Yes, Delete Run** (כן, מחק הפעלה) כדי לאשר את מחיקת ההפעלה.
6. חזור על שלבים 2 ו-3 עבור כל הפעלה שברצונך למחוק.
7. בחר באפשרות **Delete Genome** (מחק גנום) עבור הגנום שברצונך למחוק.
8. בתיבת הדו-שיח בחר באפשרות **Yes, Delete Genome** (כן, מחק גנום).
9. חזור על שלבים 5 ו-6 עבור כל גנום שברצונך למחוק.
10. בסיום סגור את החלון **Disk Management** (ניהול דיסק) כדי לחזור למסך הבית.

עדכוני תוכנה

עדכון התוכנה מוודא שהמערכת שלך כוללת את התכונות והתיקונים החדשים ביותר. עדכוני התוכנה מאוגדים בחבילת מערכת, אשר כוללת את התוכנות הבאות:

- תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000
- מתכונים של NextSeq 1000/2000
- Universal Copy Service
- ניתוח בזמן אמת



מודולי DRAGEN אינם נכללים בחבילת המערכת. התקן אותם בנפרד בהתאם לצורך. גש אל התוכנה של מודול DRAGEN מדפי התמיכה.

תצורת המערכת נקבעה כך שהמערכת תוריד עדכוני תוכנה בצורה אוטומטית או ידנית:

- **Automatic updates** (עדכונים אוטומטיים)—הורדת העדכונים מתבצעת אוטומטית מתוך BaseSpace Sequence Hub כדי שתוכל להתקיןם. אפשרות זו מחייבת חיבור לאינטרנט, אך אין צורך בחשבון BaseSpace Sequence Hub.
- **Manual updates** (עדכונים ידניים)—הורדת העדכונים מהאינטרנט מתבצעת ידנית, הם נשמרים מקומית או בכונן נייד ומותקנים מהמיקום שבו נשמרו. אפשרות זו לא מצריכה חיבור של המכשיר לאינטרנט.

התקנת עדכון תוכנה אוטומטי

1. ודא שבאותו רגע לא מתבצעים הפעלות ריצוף או ניתוח משני במכשיר.
2. התחבר אל ilmnadmin.
3. בחר **Software Update** (עדכון תוכנה) בתפריט תוכנת הבקרה.
מערכות שתצורתן נקבעה לעדכונים אוטומטיים מציגות התראה כשיש עדכון תוכנה זמין.
4. כדי לבדוק אם יש עדכון, בחר **Check Online for Software Update** (בדוק באופן מקוון אם יש עדכון תוכנה).
5. בחר **Update Now** (עדכן כעת) כדי להוריד את גרסת התוכנה החדשה.
כשההורדה תושלם, תוכנת הבקרה תיסגר ואשף ההתקנה יופיע.
תוכנת הבקרה מופעלת מחדש באופן אוטומטי. כל עדכון קושחה מתבצע אוטומטית לאחר ההפעלה מחדש.



לא ניתן לבטל עדכון אחרי שההתקנה החלה. תוכל לבטל עדכון רק במהלך ההורדה.

התקנת עדכון תוכנה ידני

1. התחבר אל ilmnadmin.
2. ודא שבאותו רגע לא מתבצעים הפעלות ריצוף או ניתוח משני במכשיר.
3. כשיש עדכון תוכנה זמין, הורד את תוכנית ההתקנה של החבילה (*tar.gz) מדף **התמיכה של מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000**. שמור את תוכנית ההתקנה בכונן מקומי או נייד.
4. אם שמרת את תוכנית ההתקנה בכונן נייד, חבר את הכונן לאחת מיציאות ה-USB 3.0 הממוקמות בצד ובגב המכשיר.
5. בחר **Software Update** (עדכון תוכנה) בתפריט תוכנת הבקרה.
6. בחר **Choose ...** (עיון) כדי לנווט אל תוכנית ההתקנה.
7. בחר **Update Now** (עדכן כעת) כדי להתחיל בהתקנה.
במהלך ההתקנה תוכנת הבקרה מציגה חיווי על כך שהמערכת מבצעת פעילות.
תוכנת הבקרה מופעלת מחדש באופן אוטומטי. כל עדכון קושחה מתבצע אוטומטית לאחר ההפעלה מחדש.



לא ניתן לבטל עדכון אחרי שההתקנה החלה. תוכל לבטל עדכון רק במהלך ההורדה.

עדכוני זרימת עבודה ורישיון של DRAGEN

רק מנהלי מערכת יכולים להתקין זרימות עבודה של DRAGEN ולחדש רישיון DRAGEN.

חידוש רישיון DRAGEN באופן מקוון

אם NextSeq 1000/2000 מחוברת לאינטרנט, עדכן את הרישיון שלך לפלטפורמת DRAGEN Bio-IT באופן הבא.

1. פנה לתמיכה הטכנית של Illumina כדי לקבל מפתח רישיון חדש.
2. המתן 24 שעות עד שהרישיון יעודכן אוטומטית, או עדכן את הרישיון מיידית באופן הבא.
 - a. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **DRAGEN**.
 - b. בחר **Check Online** (בדוק באופן מקוון) כדי לבדוק אם יש מפתח רישיון זמין חדש של DRAGEN.
 - c. אם זמין, בחר **Update** (עדכן).

חידוש רישיון DRAGEN באופן לא מקוון

אם NextSeq 1000/2000 אינה מחוברת לאינטרנט, עדכן את הרישיון שלך לפלטפורמת DRAGEN Bio-IT באופן הבא.

1. פנה לתמיכה הטכנית של Illumina כדי לקבל מפתח רישיון חדש. שמור את הקובץ `license.zip` בכונן מקומי או ניידי.
2. אם שמרת את קובץ ה-`zip`*. בכונן ניידי, חבר את הכונן לאחת מיציאות ה-USB 3.0 הממוקמות בצד ובגב המכשיר. הזז בעדינות את המכשיר לפי הצורך כדי לגשת לגבו.
3. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **DRAGEN**.
4. בחר באפשרות **Choose** (בחירה) כדי לנווט את קובץ ה-`zip`*. ולאחר מכן בחר **Open** (פתח).

התקנה מקוונת של זרימות עבודה של DRAGEN

אם ה-NextSeq 1000/2000 מחובר לאינטרנט, באפשרותך להתקין את זרימות העבודה של DRAGEN ישירות בתוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000. התקנת זרימות העבודה של DRAGEN באופן מקוון אפשרית רק בגרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000.

1. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **Process Management** (ניהול תהליך).
 2. ודא שבאותו רגע לא מתבצעים ניתוח משני או הפעלות ריצוף במכשיר.
 3. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **DRAGEN**.

תחת **Version** (גרסה), במקטע **Available Workflows** (זרימות עבודה זמינות) מפורטות זרימות העבודה שמותקנות כעת במערכת.
 4. כדי להתקין זרימות עבודה של DRAGEN בתוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000, בחר **Check Online** (בדוק באופן מקוון).
- לא כל הגרסאות זרימות העבודה של DRAGEN מתאימות להתקנה מקוונת. עבור זרימות עבודה אחרות יש להשתמש בהתקנה לא מקוונת.

5. סמן את תיבת הסימון של זרימות העבודה שברצונך להתקין. אם המרת BCL אינה מותקנת, הקפד להתקין את הגרסה העדכנית ביותר שלה תחילה.
- מידע על הגרסה העדכנית ביותר של זרימת עבודה מופיע בהערות המוצר.
6. בחר **Install** (התקן) כדי להתחיל בהתקנה.
7. הזן ilmnadmin עבור סיסמת המערכת, ולאחר מכן בחר **Authenticate** (אמת).

התקנה לא מקוונת של זרימות עבודה של DRAGEN

1. כאשר זמין עדכון לזרימת עבודה של DRAGEN, הורד את תוכנית ההתקנה (*tar.gz) מתוך [דף התמיכה של DRAGEN](#). שמור את תוכנית ההתקנה בכונן מקומי או נייד.
2. אם שמרת את תוכנית ההתקנה בכונן נייד, חבר את הכונן לאחת מיציאות ה-USB 3.0 הממוקמות בצד ובגב המכשיר. הזז בעדינות את המכשיר לפי הצורך כדי לגשת לגבו.
3. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **Process Management** (ניהול תהליך).
4. ודא שבאותו רגע לא מתבצעים ניתוח משני או הפעלות ריצוף במכשיר.
5. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **DRAGEN**.
6. תחת Version (גרסה), בחר **Browse for New Version** (עיין לאיתור גרסה חדשה) כדי לנווט אל תוכנית ההתקנה.
7. בחר **Install** (התקן) כדי להתחיל בהתקנה.
8. הזן ilmnadmin עבור סיסמת המערכת, ולאחר מכן בחר **Authenticate** (אמת).

החלפת מסנן האוויר

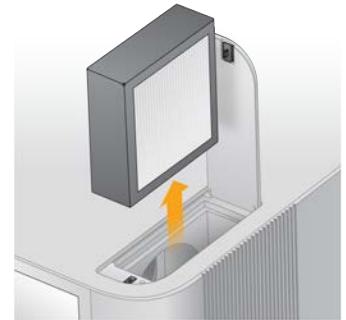
- בכל 6 חודשים, השתמש בהוראות הבאות כדי להחליף מסנן אוויר שתוקפו פג.
- מסנן האוויר הוא מחסנית מלבנית לשימוש חד-פעמי אשר מכסה את המאוורר שבצדו הימני של המכשיר. הוא מבטיח צינון מתאים ומונע חדירת לכלוך למערכת. המכשיר מגיע עם מסנן אוויר אחד שמוחקן בו ועוד אחד נוסף. חלקי חילוף נוספים נכללים בחוזה שירות תקף של מכשיר, או שניתן לרכוש אותם בנפרד מ-Illumina.
1. בחלק העליון של המכשיר, לחץ על הצד הימני של הפנל העליון כדי לבצע ניתוק, כפי שמוצג באיור הבא.



2. פתח את הפנל.

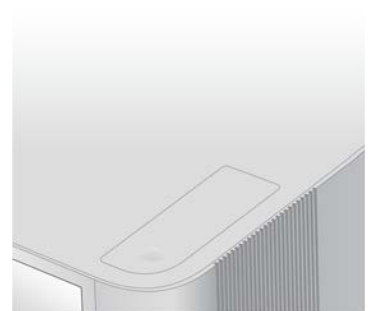


3. לחץ כדי לשחרר את מחסנית מסנן האוויר, הוצא אותו ממרכז הפנל והשלך אותו.



4. הכנס מסנן אוויר חדש למכל ולחץ עליו כדי לאבטחו.

5. סגור את הפנל העליון ולחץ עליו עד שיוחזר למקומו.



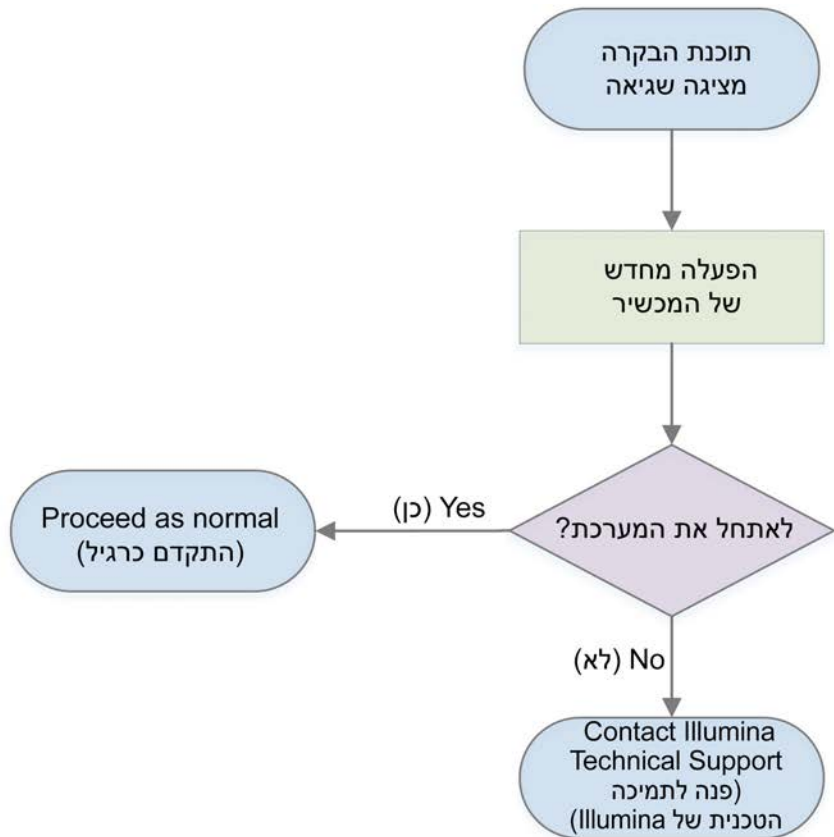
6. החזר את המכשיר למיקום המקורי.

פתרון בעיות

סעיף זה מספק הוראות מפורטות על ביטול הפעלה, הפעלה מחדש של המכשיר, והליכי פתרון בעיות אחרים.

טיפול בהודעות שגיאה

נספח זה כולל הוראות מפורטות על שלבי פתרון בעיות שונים. תרשים הזרימה הבא מציג סקירה כללית על פתרון של הודעות שגיאה שמופיעות במהלך אתחול, הגדרת הפעלה או ריצוף, ושאינן נפתרות על-ידי ניסיון מחדש. ניתן לפתור שגיאות רבות באמצעות הפעלה מחדש: כיבוי של המכשיר והדלקה שלו לאחר מכן. ראה [הפעלה מחדש של המכשיר בעמוד 74](#) לקבלת מידע נוסף על הפעלה מחדש.



החזרת חומרים מתכלים לאחסון

השתמש בהוראות הבאות כדי לאחסן מחסנית ותא זרימה שהופשרו, במקרה שהתגלתה שגיאה במכשיר במהלך בדיקה לפני הפעלת המכשיר, לפני בדיקת הפלואאידיקה.

1. הפרד את תא הזרימה מהמחסנית.

2. הוצא את הספרייה שדוללה מהמכל (עד 18 מ"ל בערך) והשלך אותה.

! הכן דילול חדש של אותה ספרייה עבור ההפעלה הבאה, כדי להימנע מזיהום צולב של דגימות עם שאריות הספרייה שבמכל.

3. הצב את המחסנית באחסון בטמפרטורה של 2°C עד 8°C כך שהתווית תפנה כלפי מעלה ותתאפשר זרימת אוויר בכל הצדדים.

אל תחרוג מ-72 שעות. אם המחסנית הופשרה במקרר 12 שעות במהלך הלילה, אין לחרוג מ-60 שעות.

4. החזר את תא הזרימה לאריזת האלומיניום הכסופה המקורית, יחד עם סופח לחות.

5. סגור את אריזת האלומיניום בסרט דביק ושים אותה באחסון בטמפרטורה של 2°C עד 8°C. אל תחרוג מ-72 שעות.

ביטול הפעלה

1. בחר **End Run** (סיום הפעלה).

2. כדי לרוקן אוטומטית את מחסנית המגיב, סמן את תיבת הסימון **Purge Reagent Cartridge** (רוקן מחסנית מגיב).

הבחירה שנקבעה כברירת מחדל מוגדרת בהגדרות תוכנת הבקרה NextSeq 1000/2000.

3. בחר **Yes, end the sequencing run** (כן, עצור את הפעלת הריצוף).

ביטול הפעלה הוא סופי. התוכנה לא יכולה לחדש את ההפעלה ואין אפשרות לעשות שימוש חוזר בחומרים המתכלים אחרי שלב בדיקת המכשיר של הבדיקות לפני הפעלה.

4. בחר **Eject Cartridge** (הוצא מחסנית) כדי לפתוח את כיסוי המגן ולהוציא את המגש.

5. הסר את המחסנית מהמגש.

6. אחסן את המחסנית או השלך אותה, בתלות במועד בו התרחש הביטול:

מופע	נסיבות
ראה החזרת חומרים מתכלים לאחסון בעמוד 72 .	ביטול לפני או במהלך הבדיקה שלפני הפעלה של המכשיר וברצונך לעשות שימוש חוזר בחומרים המתכלים.
ראה פריקת חומרים מתכלים בעמוד 47 .	כל שאר הנסיבות.

7. בחר **Close Door** (סגור דלת) כדי לטעון מחדש את המגש ולחזור למסך הבית. החיישנים מאשרים שהמחסנית הוסרה.

הצבת הפעלה בתור מחדש

אם מוצגת שגיאה עבור Status of Secondary Analysis (סטטוס ניתוח משני) ב-Process Management (ניהול תהליך), באפשרותך להציב את ההפעלה בתור מחדש כדי לבצע ניתוח DRAGEN במכשיר פעם נוספת על קובצי ה-cBCL שהופקו. לצורך פונקציונליות ההצבה בתור מחדש, הכרחי שתקייט ההפעלה המקומית עדיין תימצא

במכשיר. השימוש בפונקציות זז של הצבה בתור מחדש אינה מציבה פעולות בתור מחדש ב-BaseSpace Sequence Hub. כדי לבצע הצבה בתור מחדש ב-BaseSpace Sequence Hub, ראה "תיקון גיליון דגימה" במרכז העזרה של BaseSpace Sequence Hub.

1. עדכן את גיליון הדגימה v2, ולאחר מכן שמור את גיליון הדגימה בכונן רשת נייד או שנטען.
2. אם שמרת את גיליון הדגימה בכונן נייד, חבר את הכונן לאחת מיציאות ה-USB 3.0 הממוקמות בצד ובגב המכשיר. הזז בעדינות את המכשיר לפי הצורך כדי לגשת לגבו.
3. בחר את תפריט תוכנת הבקרה ואז בחר **Process Management** (ניהול תהליך).
4. ודא שבאותו רגע לא מתבצעים ניתוחים משניים או הפעלות ריצוף במכשיר.
5. בחר **Requeue** (הצב מחדש בתור) לצד ההפעלה שהושלמה כדי להציב בתור מחדש.
6. בחר באפשרות **Choose** (בחירה) כדי לנווט אל גיליון הדגימה שעודכן, ולאחר מכן בחר **Open** (פתח).
7. בחר **Start Requeue** (התחל הצבה מחדש בתור).

הפעלה מחדש של המכשיר

הפעלה מחדש של המכשיר מכבה את המערכת ומפעילה אותה מחדש בצורה בטוחה כדי לשחזר חיבור שאבד, ליישר מפרט או לפתור בעיה של כשל באתחול. הודעות תוכנה מציינות מתי הפעלה מחדש עשויה לפתור שגיאה או אזהרה.

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **Shut Down Instrument** (כבה מכשיר).
2. אם המערכת לא נכבית, לחץ לחיצה ארוכה על לחצן ההפעלה שבצד הימני של המכשיר עד שהאור יתעמעם.
3. כשלחצן ההפעלה יבהב, לחץ על צד הכיבוי (O) של המתג הדו-מצבי בפנל האחורי. לחצן ההפעלה עשוי להמשיך להבהב אחרי שאספקת החשמל הופסקה.

איור 8 מיקום המתג הדו-מצבי



4. המתן 30 שניות.
5. לחץ על צד ההפעלה (I) של המתג הדו-מצבי.

6. כשלחצן ההפעלה יהבהב, המתן 30 שניות ולחץ עליו.

איור 9 מיקום לחצן ההפעלה



7. המתן כ-5 דקות עד לטעינת מערכת ההפעלה. אחרי שמערכת ההפעלה תיטען, התחבר למערכת. תוכנת הבקרה מופעלת ומאתחלת את המערכת. המתן כ-5 דקות לאתחול המערכת. בתום האתחול מופיע מסך הבית.

ביצוע בדיקת מערכת

בדיקת מערכת אינה נדרשת עבור פעולה רגילה או תחזוקת מכשיר. עם זאת, נציג התמיכה הטכנית של Illumina עשוי לבקש ממך לבצע בדיקת מערכת לצורך פתרון בעיות. ארבע בדיקות מערכת-משנה, אשר נמשכות כ-58 דקות, מטפלות בשגיאות שהתקבלו בבדיקה לפני הפעלה ובבעיות אחרות. הבדיקות בודקות אם הרכיבים ערוכים ומתפקדים כהלכה. תוצאות הבדיקות מופקות כפלט לתיקייה `system-check`, הממוקמת ב-`usr/local/illumina/system-/`.
`check`.
 הקפד לפרוק את המחסנית לפני הפעלת בדיקות המערכת.

הפעלת בדיקת מערכת

1. בתפריט תוכנת הבקרה, בחר **System Checks** (בדיקות מערכת).
2. סמן את תיבות הסימון של כל אחת מבדיקות המערכת הבאות שאותן תרצה לבצע.
 - **Network Connectivity** (קישוריות רשת)—בודקת את סטטוס החיבור לרשת ואת ביצועיה.
 - **Enclosure** (מארז)—בודקת את ביצועי המערכת התרמית ואת מנגנון הרמת כיסוי המגן.
 - **Motion** (תנועה)—בודקת את מגבלות המעבר והביצועים של שלב Z ושלב XY.
 - **Optics** (אופטיקה)—בודקת את הביצועים של מודול ההדמיה.
3. בחר **Start** (הפעל).

שחזור להגדרות היצרן

שחזר את ברירות המחדל של היצרן במערכת כדי לבצע שדרוג יורד של התוכנה או להתאושש מתצורה לא רצויה. רק נציג Illumina אמור להשתמש בתכונה זו.

לכידת התמונה המותקנת

לכוד תמונה של המערכת כדי לגבות התקנה של תוכנה שפועלת בהצלחה. את תמונת המערכת הזו תוכל לשחזר במועד מאוחר יותר. מומלץ שתלכוד את תמונת המערכת מיד אחרי שהשלמת את ההתקנה הראשונית והחלפת את סיסמתך בעזרת נציג Illumina.

1. הפעל מחדש את Linux.
2. כשתונחה לבחור מערכת הפעלה, בחר **Capture Installed Image** (לכידת התמונה המותקנת). אפשרויות מערכת ההפעלה מופיעות לזמן קצר לפני ההתקדמות האוטומטית של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000.

i | הזכרון שומר תמונה אחת בלבד, ולכן פעולה זו תמחק את התמונה הקודמת שנלכדה.

3. המתן כ-30 דקות עד שהמערכת תלכוד את התמונה המותקנת כעת. הלכידה עשויה לכלול מספר אתחולים. כשהפעולה תושלם, המערכת תבצע אתחול עם התמונה המותקנת כעת, אשר מאוחסנת בזיכרון.

שחזור תמונה שנלכדה

שחזר את המערכת לתמונה הקודמת שנלכדה כדי להתאושש מתצורה לא רצויה.

1. הפעל מחדש את Linux.
2. כשתונחה לבחור מערכת הפעלה, בחר **Restore Installed Image** (שחזור התמונה המותקנת). אפשרויות מערכת ההפעלה מופיעות לזמן קצר לפני ההתקדמות האוטומטית של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000.

i | הסיסמאות קשורות לתמונת המערכת. לאחר השחזור, השתמש בסיסמת התמונה ששוחזרה כדי להתחבר למערכת.

3. המתן כ-30 דקות עד שיושלם השחזור. השחזור עשוי לכלול מספר אתחולים. כשהפעולה תושלם, המערכת תבצע אתחול עם התמונה ששוחזרה.

משאבים וחומר לעיון

הגדרות גיליון דגימה v2

אם אתה משתמש במצב מקומי, באפשרותך להשתמש בתבנית קובץ גיליון הדגימה v2 כדי לקבוע את הגדרות ההפעלה שלך. צור את גיליון הדגימה ב-Instrument Run Setup (הגדרת הפעלת המכשיר), או על-ידי עריכה של תבנית גיליון הדגימה v2 של מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000. בעת עריכת גיליון הדגימה, ודא שהמקטעים והשדות הבאים הכללים לפי הסדר המפורט ועומדים בדרישות. לאחר העריכה השתמש בכונן רשת שנטען או בכונן נייד כדי להעביר את גיליון הדגימה למערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000. כשאתה מנווט לגיליון הדגימה בתוכנת הבקרה, הוא מועתק אל תיקיית קדם-הפעלה במכשיר כדי שתתאפשר הסרה של הכונן הנייד.

ודא שהגדרות גיליון הדגימה v2 עומדות בדרישות הבאות:

- רצפי האינדקס שצוינו במקטע גיליון הדגימה BCLConvert_Data אמורים להיות תואמים לערכת האינדקס שנבחרה ב-NextSeq 1000/2000.
 - אם אתה משתמש בגרסה v1.2 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000, גרסת ה-DRAGEN שצוינה בגיליון הדגימה חייבת להיות מותקנת ופעילה במערכת. לקבלת מידע על ההתקנה ראה [עדכוני תוכנה בעמוד 67](#).
 - אם אתה משתמש בגרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000, גרסת ה-DRAGEN שצוינה בגיליון הדגימה חייבת להיות מותקנת במערכת. תוכנת הבקרה מזהה אוטומטית את הגרסה של DRAGEN מתוך גיליון הדגימה, ולפי הצורך תנחה אותך להחליף את הגרסאות הפעילות. לקבלת מידע על ההתקנה ראה [עדכוני תוכנה בעמוד 67](#).
- אם אתה משתמש ב-DRAGEN, תצטרך לקבוע הגדרות נוספות. לקבלת מידע נוסף ראה [הגדרות גיליון דגימה של DRAGEN בעמוד 80](#)
- הורד את תבנית גיליון הדגימה v2 מתוך Product Files (קובצי המוצר) בדף התמיכה של מערכות הריצוף NextSeq 1000 ו-NextSeq 2000. אם יצרת גיליון דגימה באמצעות Instrument Run Setup, שינוי גיליון הדגימה לאחר ההורדה ההתחלתית עלול לגרום לכשל בניתוח. שמות קבצים לא יכולים להכיל תווים מיוחדים.

דרישות [Header]

הסעיף [Header] כולל מידע כללי על ההפעלה שלך. להלן שדות ה-[Header] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
FileFormatVersion	כן	גרסת גיליון הדגימה. הזן 2 עבור הערך.

שדה	נדרש	תיאור
RunName	לא	שם הפעלה ייחודי על-פי העדפתך. שם ה-RunName יכול להכיל תווים אלפאנומריים, מקפים תחתונים, מקפים ונקודות. אם שם ה-RunName מכיל תווי רווח או תווים מיוחדים, הניתוח ייכשל.
RunDescription	לא	תיאור ההפעלה.
InstrumentPlatform	לא	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	לא	NextSeq 1000/2000

דרישות [Reads]

הסעיף [Reads] מתאר את מספר מחזורי הריצוף שבהם נעשה שימוש עבור קריאות 1 ו-2 של אינדקס וגנום. להלן שדות ה-[Reads] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Read1Cycles	כן	מספר המחזורים בקריאה הראשונה. הערך חייב להיות מספר שלם הגדול מ-0.
Read2Cycles	לא	מספר המחזורים בקריאה השנייה.
Index1Cycles	לא	מספר המחזורים בקריאת האינדקס הראשונה. נדרש כאשר מרצפים יותר מדגימה אחת. המספר המרבי הוא 10 מחזורים.
Index2Cycles	לא	מספר המחזורים בקריאת האינדקס השנייה. המספר המרבי הוא 10 מחזורים.

דרישות [Sequencing_Settings]

השתמש בסעיף [Sequencing_Settings] כדי לציין את ערכת הכנת הספרייה שבה אתה משתמש.

שדה	נדרש	תיאור
LibraryPrepKits	לא	ערכת הכנת הספרייה שלך. מותרת ערכת הכנת ספרייה אחת בלבד. בגרסה v1.3 של תוכנת הבקרה של NextSeq 1000/2000, המתכון המותאם אישית הנדרש נבחר אוטומטית כאשר הערכה Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus או הערכה Illumina Stranded mRNA Prep מוגדרות כערכת הכנת הספרייה. הזן אחד מהערכים הבאים. <ul style="list-style-type: none"> הערכה Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus— ILMNStrandedTotalRNA הערכה Illumina Stranded mRNA Prep—ILMNStrandedmRNA

דרישות המרת BCL

סעיפי המרת ה-BCL מספקים מידע על המרת הנתונים שלך מ-BCL ל-FASTQ. אפשרויות המרת ה-BCL כוללות שני סעיפים נפרדים: [BCLConvert_Settings] ו-[BCLConvert_Data]. סעיפי המרת ה-BCL מצריכים מידע על רצפי מתאם האינדקס. כדי לזהות את רצף המתאם המתאים עבור כל קריאה ואינדקס, ראה רצפי מתאם של Illumina (מסמך מס' 1000000002694).

להלן שדות ה-[BCLConvert_Settings] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
SoftwareVersion	כן	הגרסה של תוכנת DRAGEN שמוקנת כעת במערכת. השתמש בכל שלושת המספרים השלמים הכלולים בשם הגרסה. לדוגמה, 3.5.7.
BarcodeMismatchesIndex1	לא	המספר המותר של מצבי אי-התאמה בין קריאת האינדקס הראשונה ורצף האינדקס. הערכים יכולים להיות 0,1 או 2. ערך ברירת המחדל הוא 1.
BarcodeMismatchesIndex2	לא	המספר המותר של מצבי אי-התאמה בין קריאת האינדקס השנייה ורצף האינדקס. הערכים יכולים להיות 0,1 או 2. ערך ברירת המחדל הוא 1.
FastqCompressionFormat	לא	כדי להפיק קובצי FASTQ כקובץ *.gz, הזן gzip. כדי לשמור קובצי FASTQ כקובץ *.ora ולהשתמש בהם עם ביטול דחיסה ב-DRAGEN, הזן dragen.
AdapterRead1	לא	הרצף לקיצור או להסוואה מהקצה של קריאה 1. רצף מתאם של קריאה 1 כולל את הערכים A, C, G, או T. כברירת מחדל, AdapterRead1 מקצר מחזורים.
AdapterRead2	לא	הרצף לקיצור או להסוואה מהקצה של קריאה 2. רצף מתאם של קריאה 2 כולל את הערכים A, C, G, או T. כברירת מחדל, AdapterRead2 מקצר מחזורים.

שדה	נדרש	תיאור
OverrideCycles	לא	מחרוזת המשמשת לציון מחזורים של מזהי UMI ולהסוות מחזורים של קריאה. להלן הערכים המותרים: <ul style="list-style-type: none"> • N—מציין מחזורים שיש להתעלם מהם. • Y—מציין מחזורי ריצוף. • I—מציין מחזורי אינדקס. • U—מציין מחזורים של מזהי UMI שיש לקצדם. בין הרכיבים מפרידים סימני נקודה-פסיק. להלן דוגמאות לקלט OverrideCycles U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

להלן שדות ה-[BCLConvert_Data] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Sample_ID	כן	מזהה הדגימה. מזהה הדגימה יכול להכיל עד 20 תווים אלפאנומריים, מקפים ומקפים תחתונים. המזהה הוא תלוי-רישיות. הפרד בין המזהים באמצעות מקף או מקף תחתון. לדוגמה, Sample1-DQB1-022515.
אינדקס	לא	רצף האינדקס המשויך לדגימה. רק הערכים A, C, T, G מותרים. נדרש כאשר מרצפים יותר מדגימה אחת.
Index2	לא	רצף האינדקס השני המשויך לדגימה. רק הערכים A, C, T, G מותרים. ודא שרצפי המתאם של האינדקס השני (i5) פונים קדימה. DRAGEN מבצע השלמה לאחור אוטומטית של אינדקסי i5 במהלך ניתוח משני.
מסלול	לא	המסלול של תא הזרימה. המסלולים מיוצגים באמצעות ערך מספר שלם אחד.

הגדרות גיליון דגימה של DRAGEN

סעיף זה מתאר את דרישות גיליון הדגימה עבור כל אחד מהצינורות של DRAGEN. הוסף את הגדרות הצינור של DRAGEN שלך בתור הסעיף האחרון בגיליון הדגימה שלך. באפשרותך להשתמש בצינור DRAGEN אחד בלבד. כל אחד מצינורות ה-DRAGEN כולל סעיפים נפרדים עבור הגדרות ונתונים.

דרישות צינור שורת נבט של DRAGEN

להלן שדות ה-[DragenGermline_Settings] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
SoftwareVersion	כן	הגרסה של תוכנת DRAGEN שמותקנת כעת במערכת. השתמש בכל שלושת המספרים השלמים הכלולים בשם הגרסה. לדוגמה, 3.5.7. על גרסת התוכנה להיות תואמת לגרסה שצוינה בסעיף BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	כן	שם גנום הייחוס. לדוגמה, hg19_alt_aware. השתמש בשם גנום הייחוס הממוקם ב- usr/local/illumina/genomes/ בגנום ייחוס מותאם אישית, עיין בעזרה המקוונת של היישום Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0.
MapAlignOutFormat	לא	העיצוב של קובץ הפלט. הערכים המותרים הם bam או cram. אם לא יצוין אף ערך, ברירת המחדל תהיה ללא עיצוב.
KeepFastq	לא	כדי לשמור קובצי פלט FASTQ, הזן true. כדי להסיר קובצי פלט FASTQ, הזן false.

להלן שדות ה-[DragenGermline_Data] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Sample_ID	כן	מזהה הדגימה. מזהה הדגימה יכול להכיל עד 20 תווים אלפאנומריים. המזהה הוא תלוי-רישיות. הפרד בין המזהים באמצעות מקפים. לדוגמה, Sample1-DQB1-022515. הכרחי שמזהי הדגימות יהיו תואמים למזהים שצוינו בסעיף BCLConvert_Data.

דרישות צינור RNA של DRAGEN

להלן שדות ה-[DrogenRNA_Settings] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
SoftwareVersion	כן	הגרסה של תוכנת DRAGEN שמוקנת כעת במערכת. השתמש בכל שלושת המספרים השלמים הכלולים בשם הגרסה. לדוגמה, 3.5.7. על גרסת התוכנה להיות תואמת לגרסה שצוינה בסעיף BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	כן	שם גנום הייחוס. לדוגמה, hg38_noalt_with_decoy. השתמש בשם גנום הייחוס הממוקם ב- usr/local/illumina/genomes/ בגנום ייחוס מותאם אישית, עיין בעזרה המקוונת של היישום Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 כדי להשתמש
RnaGeneAnnotationFile	לא	הקובץ כולל ביאורי גן RNA. מותר להשתמש רק בתווים אלפאנומריים. אם לא יסופק קובץ ביאור, המערכת תשתמש כברירת מחדל בקובץ הביאור הכלול בגנום הייחוס שצוין.
MapAlignOutFormat	לא	העיצוב של קובץ הפלט. הערכים המותרים הם bam או cram. אם לא יצוין אף ערך, ברירת המחדל תהיה ללא עיצוב.
KeepFastq	לא	כדי לשמור קובצי פלט FASTQ, הזן true. כדי להסיר קובצי פלט FASTQ, הזן false.
DifferentialExpressionEnable	לא	כדי לאפשר ביטוי גן דיפרנציאלי, הזן true. כדי לא לכלול בניתוח את ביטוי הגן הדיפרנציאלי, הזן false.

להלן שדות ה-[DrogenRna_Data] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Sample_ID	כן	מזהה הדגימה. מזהה הדגימה יכול להכיל עד 20 תווים אלפאנומריים. המזהה הוא תלוי-רישיות. הפרד בין המזהים באמצעות מקפים. לדוגמה, Sample1-DQB1-022515. הכרחי שמזהי הדגימות יהיו תואמים למזהים שצוינו בסעיף BCLConvert_Data.

שדה	נדרש	תיאור
Comparison<N>	לא	ערך הבקרה או השוואה עבור כל דגימה. אם אין ערך בקרה או השוואה עבור הדגימה, הערך המוקצה לדגימה הוא <code>na</code> . כל הדגימות המסומנות בערך בקרה משוות לכל הדגימות המסומנות בערך השוואה. הערך <code>N</code> משקף את קבוצת השוואה של הדגימות.

דרישות צינור Enrichment של DRAGEN

להלן שדות ה-[`DragenEnrichment_Settings`] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
SoftwareVersion	כן	הגרסה של תוכנת DRAGEN שמוקנת כעת במערכת. השתמש בכל שלושת המספרים השלמים הכלולים בשם הגרסה. לדוגמה, 3.5.7. על גרסת התוכנה להיות תואמת לגרסה שצוינה בסעיף <code>BCLConvert_Settings</code> .
ReferenceGenomeDir	כן	שם גנום הייחוס. לדוגמה, <code>hg38_alt_aware</code> . גנומי הייחוס ממוקמים ב- <code>usr/local/illumina/genomes/</code> כדי להשתמש בגנום ייחוס מותאם אישית, עיין בעזרה המקוונת של <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
BedFile	כן	קובץ ה- <code>bed</code> המכיל את האזורים שבהם יש להתמקד.
GermlineOrSomatic	כן	כדי לבצע ניתוח שורת נבט ב- <code>Enrichment</code> , הזן <code>germline</code> . כדי לבצע ניתוח סומטי ב- <code>Enrichment</code> , הזן <code>somatic</code> .
KeepFastq	לא	כדי לשמור קובצי פלט <code>FASTQ</code> , הזן <code>true</code> . כדי להסיר קובצי פלט <code>FASTQ</code> , הזן <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	לא	העישוב של קובץ הפלט. הערכים המותרים הם <code>bam</code> או <code>cram</code> . אם לא יצוין אף ערך, ברירת המחדל תהיה ללא עישוב.
AuxNoiseBaselineFile	לא	השם של קובץ בסיס הרעש. באפשרותך להשתמש בתבניות הקובץ <code>*.txt</code> או <code>*.gz</code> . קובצי בסיס רעש זמינים רק כששתמשים במצב סומטי. לקבלת מידע נוסף ראה ייבוא קובצי בסיס רעש בעמוד 17 .

להלן שדות ה-[DragenEnrichment_Data] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Sample_ID	כן	מזהה הדגימה. מזהה הדגימה יכול להכיל עד 20 תווים אלפאנומריים. המזהה הוא תלוי-רישיות. הפרד בין המזהים באמצעות מקפים. לדוגמה, המזהים של Sample1-DQB1-022515.Sample חייבים להיות תואמים למזהים שצוינו בסעיף BCLConvert_Data.

דרישות צינור DNA Amplicon של DRAGEN

להלן שדות ה-[DragenAmplicon_Settings] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
SoftwareVersion	כן	הגרסה של תוכנת DRAGEN שמותקנת כעת במערכת. השתמש בכל שלושת המספרים השלמים הכלולים בשם הגרסה. לדוגמה, 3.5.7. על גרסת התוכנה להיות תואמת לגרסה שצוינה בסעיף BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	כן	שם גנום הייחוס. לדוגמה, hg38_alt_aware. גנום הייחוס ממוקמים ב- usr/local/illumina/genomes/ בגנום ייחוס מותאם אישית, עיין בעזרה המקוונת של היישום Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0.
DnaBedFile	כן	קובץ ה-bed המכיל את האזורים שבהם יש להתמקד. התבניות האפשריות של קובץ ה-bed המשמש כקלט הן *.txt או *.gz.
DnaGermlineOrSomatic	כן	כדי לבצע ניתוח שורת נבט ב-DNA Amplicon, הזן germline. כדי לבצע ניתוח סומטי ב-DNA Amplicon, הזן somatic.
KeepFastq	לא	כדי לשמור קובצי פלט FASTQ, הזן true. כדי להסיר קובצי פלט FASTQ, הזן false.
MapAlignOutFormat	לא	העיצוב של קובץ הפלט. הערכים המותרים הם bam או cram. אם לא יצוין אף ערך, ברירת המחדל תהיה ללא עיצוב.

להלן שדות ה-[DragenAmplicon_Data] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Sample_ID	כן	מזהה הדגימה. מזהה הדגימה יכול להכיל עד 20 תווים אלפאנומריים. המזהה הוא תלוי-רישיות. הפרד בין המזהים באמצעות מקפים. לדוגמה, המזהים של Sample1-DQB1-022515.Sample חייבים להיות תואמים למזהים שצוינו בסעיף BCLConvert_Data.
DnaOrRna	כן	סוג ניתוח ה-Amplicon שיש לבצע. עבור DRAGEN v3.8 נתמך ניתוח DNA בלבד. הזן dna.

דרישות צינור RNA של תא יחיד ב-DRAGEN

להלן שדות ה-[DragenSingleCellRNA_Settings] הזמינים ותיאוריהם. לקבלת מידע על תאימות לערכות של צדדים שלישיים, עיין בדף התמיכה על תאימות למוצרים של פלטפורמת DRAGEN Bio-IT.

ערכות ספריית תא יחיד 1 עד 5

הגדרות גיליון הדגימה הבאות מתייחסות לערכות הכנת ספרייה שהמבנה הגנטי שלהן זהה לזה של ערכות 1 עד 5 של ספריית תא יחיד ב-DRAGEN. כדי לאשר את המבנה הגנטי של הערכה שלך, השתמש בדף התמיכה על תאימות למוצרים של פלטפורמת DRAGEN Bio-IT.

שדה	נדרש	תיאור
SoftwareVersion	כן	הגרסה של תוכנת DRAGEN שמוקנת כעת במערכת. השתמש בכל שלושת המספרים השלמים הכלולים בשם הגרסה. לדוגמה, 3.5.7. על גרסת התוכנה להיות תואמת לגרסה שצוינה בסעיף BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	כן	שם גנום הייחוס. לדוגמה, hg38_alt_aware. גנומי הייחוס ממוקמים ב- usr/local/illumina/genomes/ בגנום ייחוס מותאם אישית, עיין בעזרה המקוונת של היישום Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0.
RnaLibraryType	לא	הזן אחד מהערכים הבאים: <ul style="list-style-type: none"> • SF—גדיל הפונה קדימה. SF הוא ערך ברירת המחדל. • SR—גדיל הפונה לאחור. • U—ללא גדיל.

שדה	נדרש	תיאור
RnaGeneAnnotationFile	לא	הקובץ כולל ביאורי גן RNA. מותר להשתמש רק בתווים אלפאנומריים. אם לא יסופק קובץ ביאור, המערכת תשתמש כברירת מחדל בקובץ הביאור הכלול בגנום הייחוס שצוין.
BarcodeRead	לא	המיקום בתוך הפעלת הריצוף של קריאת הברקוד, אשר מכיל גם את הברקוד וגם את מזהה ה-UMI. הערכים יכולים להכיל את Read1 או Read2. ערך ברירת המחדל הוא Read1.
BarcodePosition	כן	מיקום הבסיסים התואמים לברקוד בערך שהוזן עבור BarcodeRead. מיקומי הבסיסים מסודרים באינדקס החל ממיקום האפס. הזן את הערך של BarcodePosition בתבנית הבאה: <barcode end position>_0 לדוגמה, אם הברקוד מכיל 16 בסיסים, הערך הוא 15_0.
UmiPosition	כן	מיקום הבסיסים התואמים למזהה ה-UMI בערך שהוזן עבור BarcodeRead. הזן את הערך של UmiPosition בתבנית הבאה: <UMI start position>_<UMI end position> לדוגמה, אם מזהה ה-UMI כולל 10 בסיסים והברקוד כולל 16, הערך הוא 16_25.
BarcodeSequenceWhitelist	לא	שם הקובץ המכיל את רצפי הברקוד שיש לכלול. שם הקובץ יכול להכיל רק תווים אלפאנומריים, מקפים, מקפים תחתונים ונקודות.
KeepFastq	לא	כדי לשמור קובצי פלט FASTQ, הזן true. כדי להסיר קובצי פלט FASTQ, הזן false.
MapAlignOutFormat	לא	העיצוב של קובץ הפלט. הערכים המותרים הם bam או cram. אם לא יצוין אף ערך, ברירת המחדל תהיה ללא עיצוב.

להלן שדות ה-[DragenSingleCellRNA_Data] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Sample_ID	כן	מזהה הדגימה. מזהה הדגימה יכול להכיל עד 20 תווים אלפאנומריים. המזהה הוא תלוי-רישיות. הפרד בין המזהים באמצעות מקפים. לדוגמה, המזהים של Sample1-DQB1-022515. Sample חייבים להיות תואמים למזהים שצוינו בסעיף BCLConvert_Data.

ערכת ספריית תא יחיד 6

הגדרות גיליון הדגימה הבאות מתייחסות לערכות הכנת ספרייה שהמבנה הגנטי שלהן זהה לזה של ערכה 6 של ספריית תא יחיד ב-DRAGEN. כדי לאשר את המבנה הגנטי של הערכה שלך, השתמש בדף התמיכה על תאימות למוצרים של פלטפורמת DRAGEN Bio-IT.

שדה	נדרש	תיאור
SoftwareVersion	כן	הגרסה של תוכנת DRAGEN שמוקנת כעת במערכת. השתמש בכל שלושת המספרים השלמים הכלולים בשם הגרסה. לדוגמה, 3.5.7. על גרסת התוכנה להיות תואמת לגרסה שצוינה בסעיף BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	כן	שם גנום הייחוס. לדוגמה, hg38_alt_aware. גנומי הייחוס ממוקמים ב- usr/local/illumina/genomes/ בגנום ייחוס מותאם אישית, עיין בעזרה המקוונת של היישום Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0.
RnaLibraryType	לא	הזן אחד מהערכים הבאים: • SF—גדיל הפונה קדימה. • SR—גדיל הפונה לאחור. • U—ללא גדיל.
RnaGeneAnnotationFile	לא	הקובץ כולל ביאורי גן RNA. מותר להשתמש רק בתווים אלפאנומריים. אם לא יסופק קובץ ביאור, המערכת תשתמש כברירת מחדל בקובץ הביאור הכלול בגנום הייחוס שצוין.
BarcodeRead	לא	המיקום בתוך הפעלת הריצוף של קריאת הברקוד, אשר מכיל גם את הברקוד וגם את מזהה ה-UMI. הערכים יכולים להכיל את Read1 או Read2. ערך ברירת המחדל הוא Read1.

שדה	נדרש	תיאור
BarcodePosition	כן	<p>מיקום הבסיסים התואמים לברקודים בערך שהוזן עבור BarcodeRead. מיקומי הבסיסים מסודרים באינדקס החל ממיקום האפס. הזן את הערך BarcodePosition בתבנית הבאה:</p> <pre><first barcode end position>_0 <second barcode start position> +<second barcode end position> <third barcode start position> <third barcode end position>_</pre> <p>לדוגמה, המבנה הבא יוביל לקבלת הערך <code>0_8+21_0_29+43_51</code>:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 9 בסיסים בברקוד הראשון (0_8). • 12 בסיסים בין הברקודים הראשון והשני. • 9 בסיסים בברקוד השני (21_29). • 13 בסיסים בין הברקודים השני והשלישי. • 9 בסיסים בברקוד השלישי (43_51).
UmiPosition	כן	<p>מיקום הבסיסים התואמים למזהה ה-UMI ב-BarcodeRead שצוין. הזן את המחרוזת בתבנית הבאה:</p> <pre>UMI start position>_<UMI end> <position</pre> <p>לדוגמה, אם מזהה ה-UMI מכיל 8 בסיסים ומספר הבסיסים הכולל לפני מזהה ה-UMI הוא 51, הערך הוא <code>52_59</code>.</p>
BarcodeSequenceWhitelist	לא	שם הקובץ המכיל את רצף הברקוד שייכלל ברשימת הערכים המותרים. שם הקובץ יכול להכיל רק תווים אלפאנומריים, מקפים, מקפים תחתונים ונקודות.
KeepFastq	לא	כדי לשמור קובצי פלט FASTQ, הזן <code>true</code> . כדי להסיר קובצי פלט FASTQ, הזן <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	לא	העיצוב של קובץ הפלט. הערכים המותרים הם <code>bam</code> או <code>cram</code> . אם לא יצוין אף ערך, ברירת המחדל תהיה ללא עיצוב.

להלן שדות ה-[DragenSingleCellRNA_Data] הזמינים ותיאוריהם.

שדה	נדרש	תיאור
Sample_ID	כן	מזהה הדגימה. מזהה הדגימה יכול להכיל עד 20 תווים אלפאנומריים. המזהה הוא תלוי-רישיות. הפרד בין המזהים באמצעות מקפים. לדוגמה, המזהים של Sample1-DQB1-022515.Sample חייבים להיות תואמים למזהים שצוינו בסעיף BCLConvert_Data.

מחזור ריצוף חשוך

סעיף זה מתאר כיצד להשתמש במחזור ריצוף חשוך במתכון.

במחזור ריצוף חשוך משתמשים כדי להשלים רק את שלבי הכימיה של מחזור ריצוף. עיין בדף המוצרים התואמים של ערכת הכנת הספרייה שלך באתר התמיכה של Illumina כדי לבדוק אם נדרש מחזור ריצוף חשוך.

כדי לבצע מחזור ריצוף חשוך, פעל בהתאם לשלבים הבאים.

עריכת קובץ המתכון

1. הורד את קובץ ה-XML של המתכון מאתר התמיכה של Illumina.

2. ערוך את קובץ ה-XML של המתכון.

a. זהה את מקטע הפרוטוקול המתאים על-פי תצורת ריצוף הקריאה והאינדקס שלך. לכל מתכון מותאם אישית ישנם שישה פרוטוקולים אפשריים שונים שאותם ניתן לערוך.

לדוגמה, הפרוטוקול עבור קריאה 1 יחידה ללא תצורת ריצוף אינדקס יהיה `<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index">`

b. לפני `</"ReadRef ReadName="Read 1">` ו-`</"ReadRef ReadName="Read 2">`, הזן את שלב מחזור הריצוף החשוך הבא בשורה חדשה.

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

c. עבור כל מחזור ריצוף חשוך נדרש, הזן את שלב מחזור הריצוף החשוך בשורה חדשה.

3. שמור את קובץ ה-XML של המתכון.

להלן דוגמה למתכון עם מחזור ריצוף חשוך:

```
< "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
    ...

```

חיבור המתכון להפעלה

4. בהגדרות ההפעלה שבתוכנת הבקרה, בחר באפשרות **Choose** (בחירה) תחת Custom Recipe (התאמה אישית של מתכון).
5. נווט אל קובץ ה-XML של המתכון המעודכן.
6. בחר **Open** (פתיחה).
7. חזור אל [התחלת הפעלת ריצוף בעמוד 41](#).

אינדקס

א	%
אורכי קריאה 28	
אזהרות 74,6	53 PF%
אחריות 26	
איבוד חיבורים 74	
איכות נתונים 53	
אינדקס	
מחזורים 28	
אלגוריתם Phred 54	
אספקת חשמל AC	
שקע 4	
אריחים 49	
אתחול 76-74	
כשל 74	
	B
	1 BaseSpace Sequence Hub
	הגדרות 12
	תיעוד 12
	49 bcl2fastq2
	C
	49 CE
	L
	5 Local Run Manager
	P
	26 PhiX
	49 יישור
	25 PhiX Control v3
	R
	55 RunInfo.xml
	S
	51,49 Sequencing Analysis Viewer
	U
	67,5 Universal Copy Service
	W
	Windows
	74 התחברות

ב	
בדיקות מערכת 72	
בופר תרחוף חוזר 25	
ברירות המחדל של היצרן 76-75	

ג	
גודל הפעלה 67	

ד	
דילול ספריות 8	
דלתות	
סגירה 45	
דנטורציה 8	
דפי נתונים 54	
דפי תמיכה 67	

ה	
הגברה 8	
הגדרה בפעם הראשונה 76-75,70	
הגדרות קול 19	
הגדרות שמע 19	

ל

לחצן הפעלה 3, 74

מ

מאוררים 70
 מגיבים של NextSeq 1000/2000 25
 מגש ניקוז
 רפידות 26
 מחזורי קריאה 28
 מחזורים נוספים 28
 מחיקת הפעלות 6, 67
 מחסנית
 כיוון טעינה 45
 מטליות אלכוהול 26
 מטליות הלבנה 26
 מינוי Enterprise 12
 מיקום אירוח 12
 מיקום שרת 12
 מיקומי אשכולות 49, 55
 מנוע מחשוב 49
 מסלולים 50
 מסנן העברה (PF) 53
 מסנן טוהר 53
 מסנני אוויר
 מיקום 70
 רכיבים רזרביים 26
 מספור אריחים 50
 מספור משטחים 50
 מספר סידורי 5
 מספרי מחזורים 28
 מספרים קטלוגיים 25
 מעקב אחר חומרים מתכלים 1
 מערכת הפעלה 74
 מפרט מקפיא 26
 מפרט מקרר 26
 מצלמות 50
 מקלדות 4
 מתג דו-מצבי 4, 74
 מתכונים 67
 מתן שם
 שם המכשיר 19

הגדרת הפעלה

דוגמאות 28

הדמיה 49-50

הזהר 4

היעדר קשרים 51-52

המרת FASTQ 49

הפעלה מחדש 72

הפעלות

מדדים 49

התקנת תוכנה 67

התראות 67

ח

חבילת תוכנות 1, 5

חומרים מתכלים

מעקב 1

סריקה 45

חיבור לאינטרנט 12

חלקי מתכונים 5

ט

טבלאות איכות 54

י

יומני שגיאות 49

יישור מפרט 74

יציאות USB 4

יציאת Ethernet 4

יציאת תבנית 51

כ

כבל Ethernet 4

כבל חשמל 4

כונן D 67

כונן קשיח 6, 67

כוננים ממופים 44

כיבוי 74

כיבוי 19

כשלים ברישום 51

כתובת IP 5

פ	שם מחשב 5
	שם מכשיר 19
פאזה וקדם-פאזה 51	נ
פרמטרי הפעלה	נוקלאוטידים 52
עריכה 44	ניהול תהליך 67
	ניתוח
צ	שיטות 8,5
צג 3	ניתוח מבוסס-ענן 1
ציוני Q 53-54	ניתוח מקומי 1
	ניתוח תמונה 5
ק	ננו-פתחים 51
קובצי BCL 6	נתוני ביצועים 12
קובצי CBCL 53	נתוני ביצועים של מכשיר 12
קובצי InterOp 55,49	נתיבי UNC 44
קובצי יומן 49	ו
קובצי מסנן 49	סטטוס הפעלה 6
קובצי סינון 55	סיוע טכני 95
קובצי קישור בין בסיסים 55,49,8	סינון אשכולות 53
קישור בין בסיסים 5	סמלים 6
קצה משויך 44	ספירת הפעלות 5
קריאה יחידה 44	ספריות
	דנטורציה 8
ר	ע
ריצוף בשני ערוצים 52	עדכוני תוכנה ידניים 67
רכיבים חרביים 70	עדכונים אוטומטיים 67
רפידות 26	עוצמות אשכולות 51
ש	עזרה, טכנית 95
שגיאות 74,6	עכבר 4
הודעות 72	ענפים 50
הסתברות 54-53	ערוץ אדום 52
שדרוג לאחור של תוכנה 76-75	ערוץ ירוק 52
שורת מצב 3	עריכת פרמטרי הפעלה 44
שורת נוריות 3	ערכות 25
שטח דיסק 67,6	מספרים קטלוגיים 26
שם מחשב 5	ערכי עוצמות 51
	ערכת בדיקה 26

ת

תא חומרים מתכלים	3
תאריכי תפוגה	70
תוכנה	
התקנה	67
התראות עדכון	20
שדרוג לאחור	75-76
תוכנית התקנה של System Suite	67
תחום פרטי	12
תחומים	12
תחליף RSB	25
תיעוד	95
תיקייה להפעלה	67
תיקיית פלט	44, 67
תיקיית פלט המוגדרת כברירת מחדל	44
תמונות	49
תמונות ממוזערות	55
תמיכה בלקוחות	95
תמיכה של Illumina Proactive	13

סיוע טכני

לקבלת סיוע טכני פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.

אתר אינטרנט: www.illumina.com
 דואר אלקטרוני: techsupport@illumina.com

מספרי טלפון של התמיכה הטכנית של Illumina

אזור	מספר שיחת חינם	בינלאומי
אוסטריה	+43 800 006249	+43 1 9286540
אוסטרליה	+61 1800 775 688	
איטליה	+39 800 985513	+39 236003759
אינדונזיה		0078036510048
אירלנד	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
ארצות הברית	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
בלגיה	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
בריטניה	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
גרמניה	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
דנמרק	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
הודו	+91 8006500375	
הולנד	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
הונג קונג, סין	+852 800 960 230	
הפיליפינים	+63 180016510798	
וייטנאם	+84 1206 5263	
טייוואן, סין	+886 8 06651752	
יפן	+81 0800 111 5011	
מלזיה	+60 1800 80 6789	
נורבגיה	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
ניו זילנד	+64 800 451 650	
סין		+86 400 066 5835
סינגפור	1 800 5792 745	

אזור	מספר שיחת חינם	בינלאומי
ספרד	+34 800 300 143	+34 911 899 417
פינלנד	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
צרפת	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
קוריאה הדרומית	+82 80 234 5300	
קנדה	+1 800 809 4566	
שבדיה	+46 2 00883979	+46 8 50619671
שווייץ	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
תאילנד	+66 1800 011 304	

גיליונות בטיחות (SDS)—זמינים באתר האינטרנט של Illumina בכתובת support.illumina.com/sds.html.
 תיעוד מוצר—זמין להורדה מהאתר support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (מחוץ לאמריקה הצפונית)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

illumina®

לשימוש מחקרי בלבד. לא לשימוש בהליכי אבחון.

© Illumina, Inc. 2021 כל הזכויות שמורות.