

# NextSeq 1000 및 2000

## 시퀀싱 시스템 가이드

ILLUMINA PROPRIETARY

문서 번호: 1000000109376 v05 KOR

2021년 8월

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

이 문서와 이 문서에 기술된 내용은 Illumina, Inc. 및 그 계열사(통칭 "Illumina")의 소유이며, 이 문서에 명시된 제품의 사용과 관련하여 오직 고객의 계약상의 제품 사용만을 위해 제공되므로 그 외의 목적으로는 사용할 수 없습니다. 이 문서와 이 문서에 기술된 내용은 Illumina의 사전 서면 동의 없이 어떤 방식으로든 다른 목적으로 사용하거나 배포할 수 없으며, 전달, 공개 또는 복제할 수 없습니다. Illumina는 이 문서를 통해 특허, 상표, 저작권 또는 관습법상의 권리 혹은 타사의 유사한 권리에 따라 어떠한 라이선스도 양도하지 않습니다.

이 문서에 명시된 제품의 올바르게 안전한 사용을 보장하기 위해 이 문서의 지침은 반드시 적절한 교육을 받고 자격을 갖춘 관계자가 엄격하고 정확하게 준수해야 합니다. 제품 사용 전 이 문서의 모든 내용을 완전히 읽고 숙지해야 합니다.

이 문서에 포함된 모든 지침을 완전히 읽지 않거나 정확하게 따르지 않으면 제품 손상, 사용자나 타인의 부상, 기타 재산 피해가 발생할 수 있으며, 이 경우 제품에 적용되는 모든 보증은 무효화됩니다.

Illumina는 이 문서에 명시된 제품(해당 제품의 부품 또는 소프트웨어 포함)의 부적절한 사용에서 비롯된 문제에 대해 어떠한 책임도 지지 않습니다.

© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다. 특정 상표 정보는 [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html)을 참조하십시오.

# 개정 이력

문서 번호	날짜	개정 내용
1000000109376 v05	2021년 8월	NextSeq 1000/2000 P1 시약 정보 추가. NextSeq 1000/2000 Control Software 버전 번호를 v1.3 또는 이후로 업데이트. 소프트웨어 업데이트 설치 관련 지침에 추가 단계가 포함되도록 업데이트. 일관성을 위해 NextSeq 2000 P3 시약에 대한 시약 명명 규칙 업데이트. '하드 드라이브 용량 확보하기'에 기술된 하드 드라이브 권장 용량을 최대 사용 가능 용량으로 변경. NextSeq 2000 P3 Reagents Kit의 300 Cycles 카트리지의 가능한 사이클 횟수 명시.
1000000109376 v04	2021년 4월	Baseline 파일을 불러오는 방법 추가. DRAGEN DNA Amplicon 워크플로우 추가. NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3의 기능 추가. 프록시 서버 선택 지침 추가. RSB with Tween 20 배송 및 보관 온도 업데이트. Differential expression을 포함하도록 DRAGEN RNA 워크플로우 업데이트. 시퀀싱 결과 폴더 구조 업데이트. Sample Sheet v2 권장 형식 업데이트.
1000000109376 v03	2020년 11월	카탈로그 번호 수정. 신규 사용자 추가 방법 추가.

문서 번호	날짜	개정 내용
1000000109376 v02	2020년 10월	<p>NextSeq 2000 P3 Reagents Kit 추가.  DRAGEN Single Cell RNA 워크플로우 추가.  DRAGEN Enrichment 워크플로우 추가.  FASTQ 압축 옵션 추가.  DRAGEN 파이프라인 및 라이선스 업데이트 설치 지침 추가.  맞춤형 참조 유전체 불러오는 방법 추가.  라이브러리 종류별 로딩 볼륨 및 농도 업데이트.  라이브러리 희석 지침 업데이트.  시약 카트리지가 자동 제거 방법 추가.  지원되는 사이클 횟수 관련 정보 업데이트.  기기 맞춤 설정 옵션 업데이트.  Instrument Run Setup 사용 지침 업데이트.  DRAGEN 시퀀싱 결과 폴더 구조 업데이트.  DRAGEN QC 보고서 관련 정보 추가.  하드 드라이브에서 맞춤형 참조 유전체 제거하는 방법 추가.  시스템 검사를 수행하는 방법 추가.  Sample Sheet V2 설정 업데이트.</p>

문서 번호	날짜	개정 내용
1000000109376 v01	2020년 6월	NextSeq 1000/2000 Control Software에 대한 소프트웨어 설명 업데이트. Cloud, Hybrid, Local, Standalone Mode 간의 명확한 차이 설명. 카트리지 보관 및 해동 지침 업데이트. 지원되는 사이클 횟수에 대한 정보 업데이트. 2차 분석 준비 지침 업데이트. 시약 키트 카탈로그 번호 업데이트. 시퀀싱 프로토콜 다이어그램 업데이트. 네트워크 드라이브를 기본 결과 폴더로 지정하는 지침 업데이트. 지원되는 라이브러리 종류를 정리한 표 업데이트. 맞춤형 참조 유전체를 불러오는 지침 추가. 커스텀 Index Kit와 커스텀 Library Prep Kit를 사용한 런 준비 지침 추가. 사용자 계정 및 비밀번호 요구 사항 업데이트. DRAGEN 결과 폴더 구조에 대한 세부 사항 추가. 사용한 시약을 카트리지에서 제거하는 명확한 지침 제공. Q-Table에 관한 배경 정보 추가. Control Software 업데이트 파일 설치 지침 업데이트. 런 분석 재수행 지침 추가. DRAGEN 파이프라인 및 라이선스 업데이트 지침 추가. 기기 맞춤 설정 지침 추가. 새 라벨을 반영하여 그림 업데이트. 문에서 바이저로 용어 변경. 두 개의 이더넷 포트에 관한 설명 추가.
1000000109376 v00	2020년 3월	최초 발행.

# 목차

- 시스템의 개요 ..... 1
  - 추가 리소스 ..... 1
  - 기기 하드웨어 ..... 2
  - 통합 소프트웨어 ..... 5
  - Process Management ..... 6
  - 시퀀싱 프로토콜 다이어그램 ..... 7
  - 시퀀싱 단계 ..... 7
  
- 시스템 구성 ..... 10
  - 사용자 계정 요구 사항 ..... 10
  - BaseSpace Sequence Hub 및 Proactive Support 설정하기 ..... 12
  - 기본 결과 폴더 위치 지정하기 ..... 13
  - 맞춤형 참조 유전체 불러오기 ..... 16
  - Noise Baseline 파일 불러오기 ..... 17
  - 런 모드 설정하기 ..... 18
  - 기기 맞춤 설정 ..... 19
  
- 소모품 및 장비 ..... 21
  - 시퀀싱용 소모품 ..... 21
  - 기타 소모품 ..... 24
  - 기타 장비 ..... 26
  
- 프로토콜 ..... 28
  - 시퀀싱 고려 사항 ..... 28
  - BaseSpace Sequence Hub를 통한 시퀀싱 런 계획하기 ..... 29
  - 패키지 상태의 카트리지와 플로우 셀 해동하기 ..... 37
  - 라이브러리 희석하기 ..... 39
  - 카트리지에 소모품 로딩하기 ..... 41
  - 시퀀싱 런 시작하기 ..... 43
  
- 시퀀싱 결과 ..... 55
  - Real-Time Analysis의 개요 ..... 55
  - Real-Time Analysis의 워크플로우 ..... 58
  - 시퀀싱 결과 파일 ..... 62
  - DRAGEN 2차 분석 결과 파일 ..... 63
  - DRAGEN 2차 분석 결과 폴더 구조 ..... 71

<b>유지 관리</b> .....	<b>75</b>
하드 드라이브 용량 확보하기 .....	75
소프트웨어 업데이트 .....	75
DRAGEN 워크플로우 및 라이선스 업데이트 .....	77
에어 필터 교체하기 .....	78
<b>문제 해결</b> .....	<b>81</b>
오류 메시지 해결 방법 .....	81
소모품 재보관하기 .....	82
런 취소하기 .....	82
런 재분석하기 .....	83
기기 종료 후 재시작하기 .....	83
시스템 검사 실행하기 .....	84
초기 설정값으로 복원하기 .....	85
설치 이미지 캡처하기 .....	85
캡처된 이미지 복원하기 .....	85
<b>리소스 및 참고 자료</b> .....	<b>86</b>
Sample Sheet v2 설정 .....	86
다크 사이클 시퀀싱 .....	99
색인 .....	101
<b>기술 지원</b> .....	<b>104</b>

# 시스템의 개요

Illumina® NextSeq™ 1000 시퀀싱 시스템과 Illumina® NextSeq™ 2000 시퀀싱 시스템은 표적화된 NGS<sup>1</sup> 접근법을 제시합니다. NextSeq 2000 시퀀싱 시스템은 Illumina의 시퀀싱 기술과 비용 대비 효율적인 데스크톱 기기를 결합한 애플리케이션 중심의 시스템으로, 다음과 같은 기능을 제공합니다.

- 접근성 및 신뢰성 – NextSeq 1000/2000은 로컬 DRAGEN 분석 기능과 온보드 변성(denaturation) 및 희석(dilution) 기능을 갖추고 있습니다. 시스템에는 이미징 모듈이, 소모품에는 유체(fluidics) 부품이 내장되어 있어 기기 유지 관리 절차가 간소화됩니다.
- 간단한 원스텝 소모품 로딩 – 1회의 런(run)에 필요한 모든 시약이 일회용 카트리지에 이미 충전되어 있습니다. 라이브러리와 플로우 셀을 카트리지에 로딩한 후 기기에 카트리지를 로딩하면 됩니다. 또한 통합 식별 체계를 적용해 정확한 추적이 가능합니다.
- NextSeq 1000/2000 소프트웨어 – 통합 Software Suite을 사용해 기기의 작동 제어, 이미지 처리, 베이스 콜(base call) 생성이 가능합니다.
  - Cloud Mode – BaseSpace Sequence Hub에서 Instrument Run Setup을 통해 런을 계획할 수 있습니다. 선택한 분석 워크플로우는 클라우드에서 자동으로 시작됩니다. 런 데이터와 분석 결과 또한 클라우드에서 제공됩니다.
  - Hybrid Mode – BaseSpace Sequence Hub에서 Instrument Run Setup을 통해 런을 계획할 수 있습니다. 선택한 분석 워크플로우는 기기에 탑재된 DRAGEN을 통해 시작됩니다.
  - Local Mode – Sample Sheet v2 파일 형식으로 로컬 런을 계획할 수 있습니다. 선택한 분석 워크플로우는 기기에 탑재된 DRAGEN을 통해 자동으로 시작됩니다.
  - Standalone Mode – 샘플 시트 없이 런을 계획할 수 있습니다.

이 섹션에서는 NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템의 하드웨어, 소프트웨어, 데이터 분석에 관한 정보 등 전반적인 개요를 제공합니다. 문서 전반에 걸쳐 사용된 주요 개념과 용어가 정리되어 있습니다. 자세한 사양, 데이터 시트, 애플리케이션, 기타 관련 제품에 관한 정보는 Illumina 웹사이트의 [NextSeq 1000/2000 Sequencing System Support 페이지](#)를 참조하시기 바랍니다.

## 추가 리소스

Illumina 웹사이트의 [NextSeq 1000/2000 Sequencing System Support 페이지](#)에서 시스템 관련 추가 리소스를 확인하실 수 있습니다. 추가 리소스는 소프트웨어, 교육, 호환 제품 및 아래 표의 문서로 구성됩니다. 항상 Support 페이지에서 최신 버전의 문서를 확인하시기 바랍니다.

---

<sup>1</sup>Next-generation sequencing: 차세대 시퀀싱

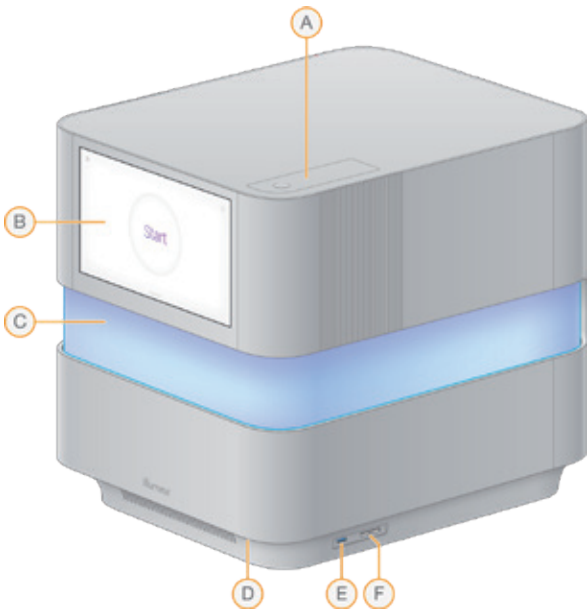


리소스	설명
<i>Custom Protocol Selector</i>	사용자의 라이브러리 준비 방식, 런 파라미터(run parameter)와 분석 방법에 맞춤형 엔드 투 엔드 지침 생성 및 정밀도 개선 옵션 제공.
<i>NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 안전 및 규정 준수 가이드(문서 번호: 1000000111928)</i>	작동 안전 고려 사항, 규정 준수 성명, 기기 라벨에 관한 정보 제공.
<i>RFID 리더 모듈 규정 준수 가이드 (문서 번호: 1000000002699)</i>	기기의 RFID 리더, 규정 준수 인증 및 안전 고려 사항에 대한 정보 제공.
<i>NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide(문서 번호: 1000000139235)</i>	시퀀싱 런을 위해 준비한 라이브러리의 변성 및 희석 지침과 선택 사항인 PhiX Control의 준비 지침 제공.
<i>NextSeq 1000 and 2000 Custom Primers Guide(문서 번호: 1000000139569)</i>	Illumina의 시퀀싱 프라이머에서 커스텀 시퀀싱 프라이머로의 교체에 관한 정보 제공.
<i>NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템 가이드(문서 번호: 1000000109376)</i>	기기 구성품에 관한 개요, 기기 작동 지침, 유지 관리 및 문제 해결 절차 제공.
<i>NextSeq 1000 및 2000 현장 준비 가이드(문서 번호: 1000000109378)</i>	검사실 요구 사항, 전기 요구 사항, 환경 및 네트워크 고려 사항 제공.
<i>BaseSpace help (help.basespace.illumina.com)</i>	BaseSpace™ Sequence Hub 및 사용 가능한 분석 옵션에 관한 정보 제공.
<i>Index Adapters Pooling Guide (문서 번호: 1000000041074)</i>	풀링 가이드라인 및 듀얼 인덱싱 전략 제공.
<i>Illumina Adapter Sequences (문서 번호: 1000000002694)</i>	Illumina Library Prep Kit의 어댑터 시퀀스 목록 제공.

## 기기 하드웨어

NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템은 전원 버튼, 모니터, 상태 표시 바, 소모품 장착부, USB 포트가 구성되어 있습니다.

그림 1 외부 시스템 구성 요소



- A. 에어 필터 장착부 - 에어 필터 교체 시 사용.
- B. 터치스크린 모니터 - Control Software의 인터페이스로, 기기 내 구성 및 기타 설정 가능.
- C. 상태 표시 바 - 시스템의 워크플로우 진행 상황을 각기 다른 색으로 표시. 파란색과 보라색 빛은 상호 작용 중임(예: 사전 런 검사(pre-run check))을, 복합색은 중요 시점 및 데이터(예: 시퀀싱 완료)를, 빨간색 빛은 치명적 오류를 의미.
- D. 전원 버튼 - 기기의 전원을 제어하는 버튼으로, 기기 전원 ON(밝음), 기기 전원 OFF(어두움), AC 전원에 연결되어 있으나 기기 전원 OFF(깜빡임) 상태를 표시.
- E. USB 3.0 포트 - 데이터 전송 시 휴대용 외장 드라이브 연결에 사용.
- F. USB 2.0 포트 - 마우스와 키보드 연결에 사용.

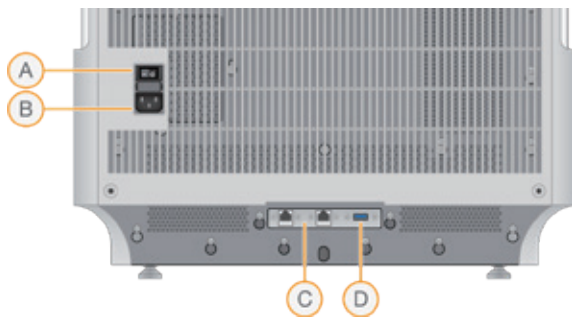
### 전원 및 보조 장치 연결 단자

기기를 조심스럽게 돌리면 기기의 뒷면에 위치한 전원 스위치, USB 포트, 보조 장치 연결 단자를 찾을 수 있습니다.

기기 뒷면에는 기기 전원을 제어하는 스위치와 입력 단자 그리고 이더넷 연결(선택 사항)을 위한 두 개의 이더넷 포트가 마련되어 있습니다. USB 3.0 포트는 데이터 전송에 필요한 휴대용 외장 드라이브를 연결하는 데 사용합니다(본 시스템은 Linux 기반 플랫폼으로, exFAT 미지원).

NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템은 향상된 용량과 유연성을 지원하기 위해 두 개의 이더넷 포트를 제공합니다. 예를 들어, 이더넷 포트 한 개는 내부 네트워크 드라이브와의 통신용으로, 나머지 한 개는 BaseSpace Sequence Hub 또는 Proactive Support 등과의 외부 통신용으로 사용할 수 있습니다.

그림 2 후면 패널 구성 요소

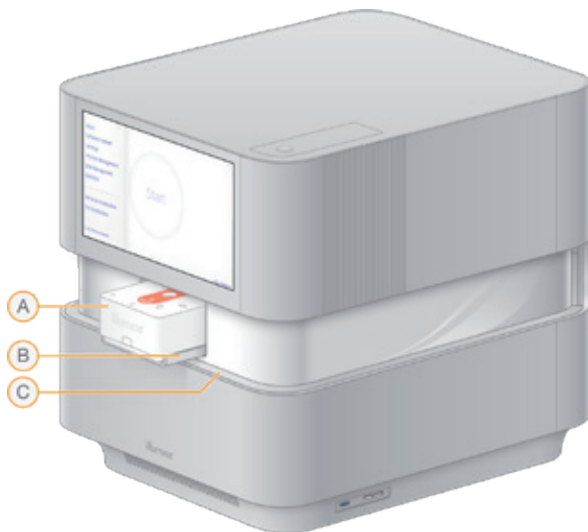


- A. 토글 스위치 - 기기의 전원을 켜고 끄는 데 사용.
- B. 전원 입력 단자 - 전원 코드를 연결하는 단자.
- C. 이더넷 포트 두 개 - 이더넷 케이블 연결에 사용(선택 사항).
- D. USB 3.0 포트 - 데이터 전송 시 외장 하드 드라이브 연결에 사용.

### 소모품 장착부

소모품 장착부에는 시퀀싱 런에 사용하는 플로우 셀과 희석된 라이브러리를 포함하는 카트리지가 들어갑니다.

그림 3 카트리지가 장착된 소모품 장착부



- A. 카트리지가 - 플로우 셀, 라이브러리 및 시약 포함. 런 수행 중 사용된 시약 보관.
- B. 트레이 - 시퀀싱 수행 시 카트리지가 고정.
- C. 바이저 - 소모품 장착부 접근을 위해 개방.

## 통합 소프트웨어

본 시스템 Software Suite에는 시퀀싱 런과 분석을 수행하는 애플리케이션이 통합되어 있습니다.

- NextSeq 1000/2000 Control Software – 기기의 작동을 제어하며, 시스템 구성, 시퀀싱 런 설정, 시퀀싱 진행 시 런 통계 자료 모니터링에 사용할 수 있는 인터페이스 제공.
- Real-Time Analysis(RTA3) – 런 수행 중 이미지 분석과 베이스 콜링(base calling) 수행. 자세한 정보는 [55페이지의 시퀀싱 결과](#) 섹션 참조.
- Universal Copy Service – 시퀀싱 결과 파일을 런 폴더에서 BaseSpace Sequence Hub(해당하는 경우) 및 접근 가능한 결과 폴더로 복사.

Control Software는 양방향 소프트웨어이며 자동화된 백그라운드 프로세스를 실행합니다. Real-Time Analysis와 Universal Copy Service는 백그라운드 프로세스만을 실행합니다.

### 시스템 관련 정보

왼쪽 상단에서 Control Software 메뉴를 선택해 About 섹션을 엽니다. About 섹션에서는 Illumina 연락처와 다음의 시스템 관련 정보를 찾을 수 있습니다.

- 기기 시리얼 번호
- 컴퓨터 이름
- 시스템 제품군 버전
- 이미지 OS 버전
- 총 런 횟수

### 알림 및 경보

알림 아이콘은 우측 상단에서 찾을 수 있습니다. 경고(Warning) 또는 오류(Error) 발생 시 우측 패널이 밀려나와 알림을 표시합니다. 언제든지 알림 아이콘을 선택해 현재(Current) 또는 과거(Historic) 경고와 오류 알림을 볼 수 있습니다.

- 경고는 주의를 요하는 알림으로, 확인 후 런을 중단하거나 추가 조치를 취할 필요는 없습니다.
- 오류는 알림 확인 후 런 시작 또는 진행 전 필요한 조치를 취해야 합니다.

### Control Software 최소화하기

다른 애플리케이션을 사용하기 위해서는 Control Software를 최소화해야 합니다. 예를 들어, 결과 폴더나 샘플 시트를 File Explorer(파일 탐색기)에서 검색하려면 다음과 같은 절차를 따릅니다.

1. Control Software 메뉴에서 Minimize Application을 선택합니다.  
Control Software가 최소화됩니다.
2. Control Software를 최대화하려면 툴바에서 NextSeq 1000/2000 Control Software를 선택합니다.

## Process Management

Process Management 화면에서는 `/usr/local/illumina/runs`에 저장되어 있는 임시 런을 확인할 수 있습니다. 각 런은 Run date, Name, ID로 구분됩니다. 또한 런별로 Run, Secondary Analysis, Output Folder, Cloud의 상황도 표시됩니다. 런을 선택하면 Workflow, Average % Q30, Total Reads PF, Total Yield와 같은 추가 정보를 볼 수 있습니다. 런을 삭제하여 저장 공간을 확보하는 방법은 [75페이지의 하드 드라이브 용량 확보하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다. 기기 내 분석을 재수행하는 방법은 [83페이지의 런 재분석하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

### Status of Run

시퀀싱 런의 진행 상황을 보여줍니다.

- In Progress – 시퀀싱 런 진행 중.
- Complete – 시퀀싱 런이 완료됨.
- Stopped – 시퀀싱 런이 중지됨.
- Errored – 시퀀싱 런 중 오류 발생.

### Status of Secondary Analysis

기기 내 DRAGEN 2차 분석의 진행 상황을 보여줍니다. BaseSpace Sequence Hub에서 분석이 진행될 경우 N/A가 표시됩니다.

- Not Started – DRAGEN 분석 대기 중.
- In Progress – DRAGEN 분석 진행 중.
- Stopped – DRAGEN 분석이 중지됨.
- Errored – DRAGEN 분석 중 오류 발생.
- Complete – DRAGEN 분석이 완료됨.

### Status of Output Folder

결과 폴더(Output folder)로 복사되는 파일의 상태를 보여줍니다.

- In Progress – 결과 폴더로 파일 복사 중.
- Complete – 결과 폴더로 파일 복사 완료.

### Status of Cloud (BaseSpace Sequence Hub)

클라우드를 통해 BaseSpace Sequence Hub로 업로드되는 파일의 상태를 보여줍니다.

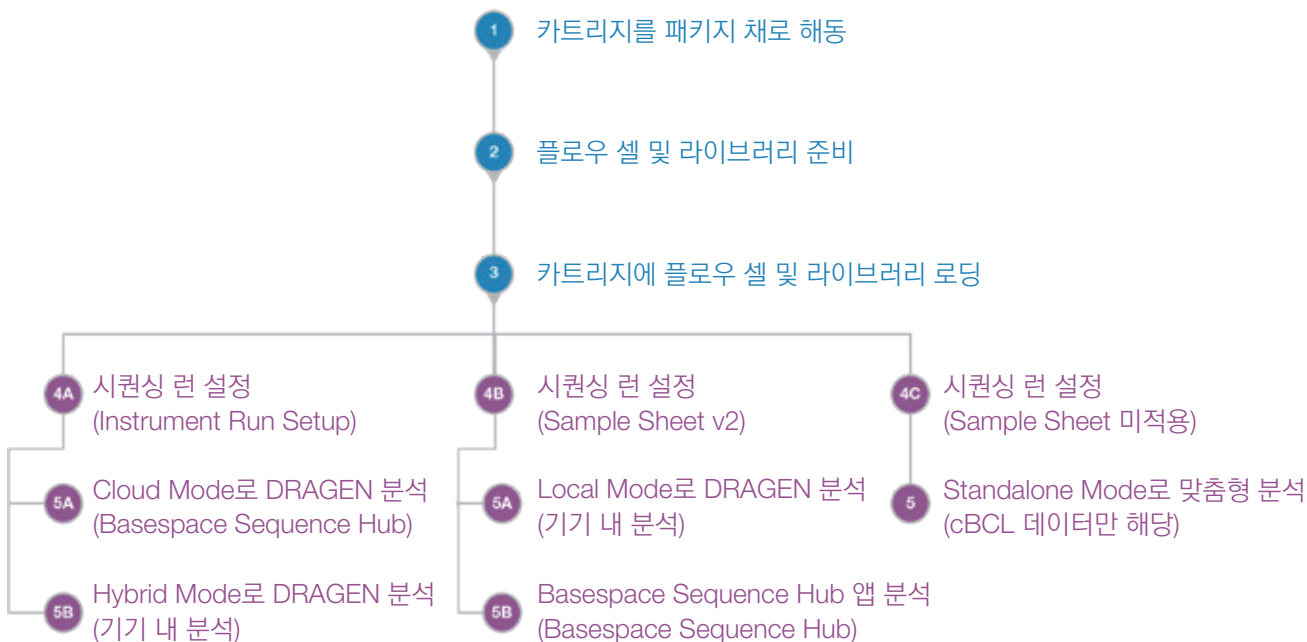
- In Progress – Control Software가 BaseSpace Sequence Hub에 파일 업로드 중.
- Complete – BaseSpace Sequence Hub에 파일 업로드 완료.

## Status 문제 해결

- 런이 진행 중인 경우 Process Management 화면을 닫고 5분 정도 기다렸다가 화면을 다시 엽니다.
- 진행 중인 런이 없다면 기기를 껐다 다시 켜 후 Process Management 화면을 다시 엽니다. 자세한 내용은 83페이지의 **기기 종료 후 재시작하기** 섹션을 참조하시기 바랍니다.

## 시퀀싱 프로토콜 다이어그램

아래의 다이어그램은 NextSeq 1000/2000을 사용한 시퀀싱 프로토콜을 나타냅니다.



## 시퀀싱 단계

클러스터(cluster) 생성, 시퀀싱, 분석 단계에서는 NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템으로 시퀀싱을 수행하게 됩니다. 각 단계는 시퀀싱 런 과정 중 자동으로 실행됩니다. 시스템 구성에 따라 런 완료 후에 기기 외에서 추가 분석이 실행되기도 합니다.

### 클러스터 생성

라이브러리<sup>1</sup>는 기기 내에서 단일 가닥(single strand)으로 자동 변성된 후 희석됩니다.

<sup>1</sup>Library: 시퀀싱을 위해 어댑터가 부착된 DNA 또는 RNA 샘플. 준비 방법 상이.

클러스터 생성 중 단일 DNA 분자가 플로우 셀의 표면에 결합된 후 증폭되어 클러스터<sup>1</sup>를 형성합니다. 클러스터 생성에는 약 4시간이 소요됩니다.

## 시퀀싱

4개의 뉴클레오티드에 대한 데이터를 인코딩하기 위해 2채널 기법(초록색 및 파란색 채널)을 적용하여 클러스터의 이미지를 획득합니다. 플로우 셀 타일 1개의 이미지를 획득 후 다음 타일로 넘어갑니다. 이 프로세스는 시퀀싱 사이클마다 반복(약 5분/사이클)됩니다. 이미지 분석 후 Real-Time Analysis 소프트웨어가 베이스 콜링<sup>2</sup>, 필터링, 품질 채점<sup>3</sup>을 수행합니다.

### 1차 분석

런이 진행됨에 따라 Control Software는 데이터 분석을 위해 자동으로 베이스 콜(\*.cbcl) 파일<sup>4</sup>을 지정된 결과 폴더로 전송합니다. 시퀀싱 런 중 Real-Time Analysis(RTA3) 소프트웨어는 이미지 분석, 베이스 콜링, 디멀티플렉싱<sup>5</sup>을 수행합니다. 시퀀싱이 완료되면 2차 분석이 시작됩니다. 2차 데이터 분석 방법은 선택한 애플리케이션 및 시스템 구성에 따라 차이가 있습니다.

### 2차 분석

BaseSpace Sequence Hub는 런 모니터링, 데이터 분석, 저장, 협업을 위해 구성된 Illumina의 클라우드 컴퓨팅 환경으로, 시퀀싱에 흔히 사용되는 분석 방법을 지원하는 DRAGEN과 BaseSpace Sequence Hub 앱을 호스팅합니다.

1차 시퀀싱 분석이 완료되면 DRAGEN이 분석 파이프라인 중 하나를 사용해 2차 분석을 수행합니다.

Cloud Mode 또는 Hybrid Mode에서는 DRAGEN이 BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup에서 샘플 시트, 참조 유전체, 런 입력 파일을 불러옵니다. Cloud Mode에서는 cBCL 데이터가 BaseSpace Sequence Hub로 자동 업로드되며, BaseSpace Sequence Hub는 DRAGEN 2차 분석을 시작합니다. Hybrid Mode에서는 기기 내 DRAGEN 2차 분석이 수행되며 분석 결과 파일은 지정된 폴더나 클라우드에 저장할 수 있습니다.

Local Mode에서는 DRAGEN이 샘플 시트, 참조 유전체, 런 입력 파일을 NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템에서 불러옵니다. 기기 내 DRAGEN 2차 분석이 수행되며 분석 결과 파일은 지정된 결과 폴더(Output folder)에 저장됩니다. Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 시퀀싱 완료 후 BaseSpace Sequence Hub 앱을 통해 분석이 시작될 수도 있습니다.

<sup>1</sup>Cluster: 한 개의 시퀀싱 리드를 생성하는 플로우 셀의 DNA 가닥의 클론 그룹(clonal group). 플로우 셀의 각 DNA 가닥은 클러스터가 수백 또는 수천 개의 카피(copy)로 이루어질 때까지 증폭되는 템플릿(template, 주형)으로 작용. (예: 10,000개의 클러스터로 구성된 플로우 셀은 10,000개의 싱글 리드(single-read) 또는 20,000개의 페어드 엔드 리드(paired-end read) 생성)

<sup>2</sup>Base calling: 특정 사이클에서 한 개의 타일 내 모든 클러스터의 베이스(A, C, G 또는 T)를 결정하는 작업.

<sup>3</sup>Quality scoring: 베이스 콜별로 여러 품질 예측 인자를 계산한 후 계산한 값을 바탕으로 Q-Score를 찾는 작업.

<sup>4</sup>Base call file: 각 시퀀싱 사이클의 클러스터별 베이스 콜 및 관련 품질 점수가 담긴 파일.

<sup>5</sup>Demultiplexing: 특정 풀(pool) 내에서 라이브러리별로 리드를 구별하는 분석 절차.

Standalone Mode에서는 샘플 시트 없이 런을 설정합니다. cBCL 데이터로 시작하는 맞춤형 분석 워크플로우로 권장합니다.

- BaseSpace Sequence Hub에 관한 자세한 정보는 [BaseSpace Sequence Hub Online Help](#)를 참조하시기 바랍니다.
- DRAGEN에 관한 자세한 정보는 [DRAGEN Bio-IT Platform Support 페이지](#)를 참조하시기 바랍니다.
- 각 앱의 개요는 [BaseSpace Apps](#)를 참조하시기 바랍니다.



# 시스템 구성

이 섹션은 소프트웨어 설정을 포함한 시스템 설정 지침을 제공합니다.

Control Software 설정 방법을 중점적으로 소개하며, 네트워크 및 OS 구성에 관한 정보도 일부 포함합니다.

**i** | 기기에서 Google Chrome 실행 시 로그인 키링 잠금 해제를 요청하는 메시지가 뜹니다. 이 메시지는 Cancel을 눌러 무시해도 됩니다.

## 사용자 계정 요구 사항

Linux OS에는 세 종류의 계정이 있습니다.

- root(슈퍼 관리자)
- ilmnadmin(관리자)
- ilmnuser(사용자)

관리자 계정은 오직 NextSeq 1000/2000 Control Software의 업데이트와 같은 시스템 업데이트를 적용하거나, IT 담당자가 영구 네트워크 드라이브를 마운트할 때만 사용해야 합니다.

시퀀싱을 포함하는 기타 모든 기능은 사용자 계정으로 수행합니다.

## 비밀번호 요구 사항

기기 설치가 완료되면, 필드 서비스 엔지니어가 세 계정의 비밀번호를 모두 변경합니다. 비밀번호는 화면의 안내에 따라 180일마다 변경하시기 바랍니다.

표 1 기본 비밀번호 정책

정책	설정
Enforce password history(비밀번호 기록 적용)	이전 비밀번호 5개 기억
Lockout threshold(계정 잠금 임계값)	로그인 시도 실패 10회
Minimum password length(최소 비밀번호 길이)	10자
Minimum character variety(최소 문자 종류 조합)	숫자, 영문 대문자, 영문 소문자, 특수 문자 각 3자
Maximum repeating characters(최대 반복 문자 수)	3자

정책	설정
Password must meet complexity requirements (비밀번호는 복잡성을 만족해야 함)	비활성화
Store passwords using reversible encryption (해독 가능한 암호화를 사용해 비밀번호 저장)	비활성화

## 신규 사용자 추가하기

- ilmnadmin 계정으로 로그인합니다.
- 전원 버튼을 선택한 후 ilmnadmin 드롭다운 목록을 엽니다.
- Account Settings를 선택합니다.
- Unlock을 선택한 후 ilmnadmin 계정의 비밀번호를 입력합니다.
- Add User를 선택합니다.
- 계정 유형(account type)으로 Standard를 선택한 후 새로운 사용자 이름(user name)을 입력합니다.
- Set password now를 선택한 후 비밀번호를 입력합니다.
- Add를 선택합니다.  
신규 사용자가 Users 목록에 추가됩니다.
- 다음과 같이 신규 사용자에게 NextSeq 1000/2000 Control Software 접근 권한을 부여합니다.
  - 터미널을 엽니다.
  - 다음을 입력합니다.  
\$ sudo usermod -a -G ilmnusers <new user name>
  - 프롬프트가 나타나면 ilmnadmin 계정의 비밀번호를 입력합니다.
- 다음 절차에 따라 사용자 접근 권한이 성공적으로 설정되었는지 확인합니다.
  - 신규 사용자의 계정으로 로그인합니다.
  - NextSeq 1000/2000 Control Software를 찾습니다.
  - Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
  - Default Output Folder 아래에서 결과 폴더 경로를 선택한 후 저장이 가능한지 확인합니다. 오류 없이 결과 폴더 경로를 선택하고 저장할 수 있다면 접근 권한이 성공적으로 설정된 것입니다.

## 비밀번호 재설정하기

이 섹션에서는 ilmnuser, ilmnadmin 또는 root 계정의 비밀번호를 재설정하는 방법을 설명합니다. 비밀번호는 복구는 지원되지 않습니다. 비밀번호를 재설정해도 잘못된 비밀번호로 로그인 시도 횟수를 초과하면 계정이 잠기는 것은 변함이 없습니다. 이 경우 비밀번호를 재설정하거나 다시 로그인을 시도하려면 10분 동안 기다려야 합니다.

### ilmnuser 계정 비밀번호 재설정하기

ilmnadmin 또는 root 계정의 비밀번호를 알고 있는 경우 ilmnuser 계정의 비밀번호를 재설정할 수 있습니다.

1. ilmnadmin 계정으로 로그인합니다.
2. 터미널을 엽니다.
3. `sudo passwd ilmnuser`를 입력합니다.
4. 프롬프트가 나타나면 ilmnadmin 계정의 비밀번호를 입력합니다.
5. 프롬프트가 나타나면 ilmnuser 계정의 새 비밀번호를 입력합니다.
6. 프롬프트가 나타나면 새 비밀번호의 확인을 위해 ilmnuser 계정의 새 비밀번호를 다시 입력합니다.

### ilmnadmin 계정 비밀번호 재설정하기

root 계정의 비밀번호를 알고 있다면 ilmnadmin 계정의 비밀번호를 재설정할 수 있습니다.

1. root 계정으로 로그인합니다.
2. 터미널을 엽니다.
3. ilmadmin 계정의 비밀번호를 변경하려면 `passwd ilmnadmin`을, ilmnuser 계정의 비밀번호를 변경하려면 `passwd ilmnuser`를 입력합니다.
4. 프롬프트가 나타나면 새 비밀번호를 입력합니다.
5. 프롬프트가 나타나면 새 비밀번호의 확인을 위해 새 비밀번호를 다시 입력합니다.

### root 계정 비밀번호 재설정하기

다음 옵션 중 하나를 선택해 root 계정의 비밀번호를 재설정할 수 있습니다.

- OS 이미지가 마지막으로 캡처된 시점의 비밀번호를 알고 있는 경우 마지막으로 저장된 해당 이미지로 복원.
- 비밀번호를 잊은 경우 Illumina 기술지원팀에 문의.

## BaseSpace Sequence Hub 및 Proactive Support 설정하기

다음 지침에 따라 시스템에서 BaseSpace Sequence Hub와 Proactive Support를 설정하시기 바랍니다. BaseSpace Sequence Hub 계정 설정 방법은 [BaseSpace Sequence Hub Online Help](#)를 참조하시기 바랍니다.

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. BaseSpace Sequence Hub and Proactive Support Settings에서 다음 옵션 중 하나를 선택합니다.

옵션	설명 및 요구 사항
Proactive Support Only*	더 신속한 문제 해결을 위해 Illumina에 기기 성능 데이터 전송. 인터넷 연결 필요.

옵션	설명 및 요구 사항
Proactive and Run Monitoring	원격 런 모니터링을 위해 BaseSpace Sequence Hub로 InterOp 파일 및 로그 파일 전송. 기본 설정값. BaseSpace Sequence Hub 계정과 인터넷 연결 필요.
Proactive, Run Monitoring and Storage	원격 모니터링과 분석을 위해 BaseSpace Sequence Hub로 InterOp 파일, 로그 파일, 런 데이터 전송. BaseSpace Sequence Hub 계정, 인터넷 연결, 샘플 시트 필요.
None	BaseSpace Sequence Hub 계정과 런의 연결 해제. Illumina Proactive Support를 위한 기기 성능 데이터 미전송.

\* Control Software 버전에 따라 소프트웨어 인터페이스에 실제 표시되는 명칭은 본 가이드에 명시된 명칭과 상이할 수 있음.

None 외의 옵션 선택 시 Proactive Support가 활성화됩니다. Proactive Support는 사용자가 MyIllumina 고객 대시보드에서 성능 데이터를 확인할 수 있도록 해 주는 무료 서비스로, Illumina의 서비스 팀이 더 신속하게 문제를 해결할 수 있도록 도와주는 역할을 합니다.

**i** | Proactive and Run Monitoring이 기본 설정값입니다. 서비스의 사용을 원하지 않을 경우 None을 선택합니다.

- 2단계에서 None을 선택했다면 Save를 눌러 설정을 마칩니다. 다른 옵션을 선택했다면 6단계까지 진행합니다.
- Hosting Location 목록에서 데이터를 업로드할 BaseSpace Sequence Hub 서버의 위치를 선택합니다. 본인의 지역 또는 가장 근접한 지역의 Hosting Location을 사용해야 합니다.
- Enterprise 구독자인 경우 BaseSpace Sequence Hub 계정에 사용 중인 도메인 이름(URL)을 입력합니다. 예: `https://yourlab.basespace.illumina.com`
- Save를 선택합니다.

## 기본 결과 폴더 위치 지정하기

아래의 지침에 따라 기본 결과 폴더(Output folder)의 위치를 선택합니다. 런 설정 시 런별로 결과 폴더를 변경할 수 있습니다. 소프트웨어는 cBCL 파일<sup>1</sup>과 기타 런 데이터를 결과 폴더에 저장합니다.

Proactive, Run Monitoring and Storage 옵션이 BaseSpace Sequence Hub에 적용된 경우를 제외하고는 결과 폴더가 필요합니다. 기본 결과 폴더로는 외장 하드 드라이브나 네트워크 드라이브만 사용해야 합니다. 기기 자체의 결과 폴더를 사용하면 시퀀싱 런에 부정적인 영향을 줄 수 있습니다.

<sup>1</sup>.cbcl 파일: 시퀀싱 사이클별 각 클러스터에 대한 베이스 콜 관련 Q-Score가 담긴 파일.

## 외장 하드 드라이브를 결과 폴더로 지정하기

다음 지침에 따라 휴대용 외장 하드 드라이브를 기본 결과 폴더로 지정합니다. 외부 전원이 필요 없는 NTFS 또는 GPT/EXTA 형식으로 변환된 드라이브의 사용을 권장합니다.

1. 기기 측면 또는 후면의 USB 3.0 포트에 휴대용 외장 하드 드라이브를 연결합니다. 이때 휴대용 외장 하드 드라이브에 쓰기(Write) 권한을 허용해야 합니다. 읽기 전용(Read Only)으로 설정할 경우 Control Software가 해당 드라이브에 데이터를 저장할 수 없습니다.
2. 휴대용 외장 하드 드라이브에 새 폴더를 생성합니다. 해당 폴더가 기본 결과 폴더의 위치입니다. NextSeq 1000/2000 Control Software가 해당 위치를 휴대용 외장 하드 드라이브로 인식하기 위해서는 최소 두 개의 중첩 폴더 레벨이 필요합니다.
3. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
4. Default Output Folder 아래에서 기존 폴더 경로를 선택한 후, 휴대용 외장 하드 드라이브에서 생성했던 새 폴더를 찾아 선택합니다.
5. [선택 사항] Run Mode 아래에서 Online Run Setup을 선택한 경우 Hosting Location 드롭다운 메뉴에서 옵션을 선택할 수 있습니다.
6. Save를 선택합니다.

## 네트워크 드라이브를 기본 결과 폴더로 지정하기

다음 지침에 따라 영구 네트워크 드라이브(persistent network drive)를 마운트하고 기본 결과 폴더 위치를 지정합니다. NextSeq 1000/2000에 네트워크 드라이브를 영구적으로 마운트할 수 있는 방법은 SMB(Server Message Block, 서버 메시지 블록)/CIFS(Common Internet File System, 공통 인터넷 파일 시스템)와 NFS(Network File System, 네트워크 파일 시스템)뿐입니다.

### SMB/CIFS 마운트하기

1. NextSeq 1000/2000 Control Software가 실행 중인 경우 Minimize Application을 선택합니다.
2. ilmnadmin 계정으로 로그인합니다.
3. Applications를 선택합니다.
4. Favorites 아래에서 Terminal을 선택합니다.
5. `sudo touch /root/.smbcreds`를 입력한 후 Enter를 누릅니다.
6. 비밀번호 입력 요청 메시지가 나타나면 ilmnadmin 계정의 비밀번호를 입력합니다. ilmnadmin 계정의 비밀번호는 sudo 명령어를 사용할 때마다 입력해야 합니다.
7. `sudo gedit /root/.smbcreds`를 입력한 후 Enter를 눌러 smbcreds라는 이름의 텍스트 파일을 엽니다.
8. .smbcreds text 파일이 열리면 아래와 같은 형식으로 네트워크 로그인 정보를 입력합니다.

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

사용자 이름, 비밀번호, 도메인 정보 입력 시 활화살 괄호는 제외하고 입력합니다. 도메인 정보는 원격 계정이 도메인에 속한 경우에만 필요합니다.

9. Save를 선택한 후 파일을 닫습니다.
10. SMB/CIF 서버의 서버 이름(Server name)과 공유 이름(Share name)을 확인합니다.  
Server name과 Share name은 아래의 예제와 같이 공백이 없어야 합니다.  
Server name: 192.168.500.100 또는 Myserver-myinstitute-03  
Share name: /share1
11. 터미널에 `sudo chmod 400 /root/.smbcreds`를 입력한 후 Enter를 눌러 `.smbcreds text` 파일에 대한 읽기 권한을 부여합니다.
12. `sudo mkdir /mnt/<local name>`을 입력합니다.  
<local name>은 선택한 네트워크 드라이브에 새로 생성된 디렉토리의 이름으로, 공백을 포함할 수 있습니다. 기기에 해당 디렉터리가 표시됩니다.
13. Enter를 누릅니다.
14. `sudo gedit /etc/fstab`를 입력한 후 Enter를 누릅니다.
15. fstab 파일이 열리면 다음 내용을 파일의 끝부분에 입력한 후 Enter를 누릅니다.  

```
//<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. Save를 선택한 후 파일을 닫습니다.
17. 터미널에 `sudo mount -a -vvv`를 입력한 후 Enter를 누릅니다.  
네트워크 드라이브가 `/mnt/<local name>`에 마운트됩니다.
18. 네트워크 드라이브가 성공적으로 마운트되었는지 확인하려면 `<df | grep <local name>>`을 입력한 후 Enter를 누릅니다.  
fileshare의 이름이 표시됩니다.
19. 로컬 디렉토리 내에 하위 폴더를 생성하기 위해 `sudomkdir /mnt/<local name>/<output directory>`를 입력합니다. <output directory>는 기본 결과 폴더의 위치를 의미합니다.  
NextSeq 1000/2000 Control Software가 해당 위치를 마운트된 네트워크 드라이브로 인식하기 위해서는 최소 두 개의 중첩 폴더 레벨이 필요합니다.
20. 기기를 종료한 후 재시작합니다. 자세한 내용은 [83페이지의 기기 종료 후 재시작하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
21. 영구적으로 마운트된 네트워크 드라이브를 기본 결과 폴더로 설정합니다. 자세한 내용은 [16페이지의 영구 네트워크 드라이브를 기본 결과 폴더로 지정하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

## NFS 마운트하기

1. NextSeq 1000/2000 Control Software가 실행 중인 경우 Minimize Application을 선택합니다.
2. ilmadmin 계정으로 로그인합니다.
3. NFS 서버의 서버 이름(Server name)을 확인합니다.  
Server name은 아래의 예제와 같이 공백이 없어야 합니다.  
Server name: 192.168.500.100 또는 Myserver-myinstitute-03

4. Applications를 선택합니다.
5. Favorites 아래에서 Terminal을 선택합니다.
6. `sudo mkdir /mnt/<local name>`을 입력한 후 Enter를 누릅니다.  
<local name>은 선택한 네트워크 드라이브에 새로 생성된 디렉토리의 이름입니다.
7. `sudo gedit /etc/fstab`를 입력한 후 Enter를 누릅니다.
8. fstab 파일이 열리면 다음 내용을 입력한 후 Enter를 누릅니다.  

```
Server name:/share //mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0
```
9. Save를 선택한 후 파일을 닫습니다.
10. 터미널에 `sudo mount -a -vvv`를 입력한 후 Enter를 누릅니다.  
네트워크 드라이브가 <local name> 폴더 내 /mnt/directory에 마운트됩니다.
11. <local name> 폴더 안에 <sub folder>를 새로 생성합니다. 해당 하위 폴더는 기본 결과 폴더의 위치를 의미합니다.  
NextSeq 1000/2000 Control Software가 해당 위치를 마운트된 네트워크 드라이브로 인식하기 위해서는 최소 두 개의 중첩 폴더 레벨이 필요합니다.
12. 기기를 종료 후 재시작합니다. 자세한 내용은 [83페이지의 기기 종료 후 재시작하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
13. 영구적으로 마운트된 네트워크 드라이브를 기본 결과 폴더로 설정합니다. 자세한 내용은 [16페이지의 영구 네트워크 드라이브를 기본 결과 폴더로 지정하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

## 영구 네트워크 드라이브를 기본 결과 폴더로 지정하기

1. ilmnuser 계정으로 로그인합니다.
2. NextSeq 1000/2000 Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
3. Default Output Folder 아래에서 /mnt/<localname>/<output directory>에 있는 영구 네트워크 드라이브 마운트를 선택합니다.
4. [선택 사항] Run Mode 아래에서 Online Run Setup을 선택한 경우 Hosting Location 드롭다운 메뉴에서 옵션을 선택할 수 있습니다.
5. Save를 선택합니다.

## 맞춤형 참조 유전체 불러오기

새로운 맞춤형 참조 유전체는 관리자 계정을 이용해서만 불러올 수 있습니다. 호환 가능한 참조 유전체의 목록은 NextSeq 1000/2000 Product Compatibility 페이지를 참조하시기 바랍니다.

1. Reference Builder for Illumina Instruments BaseSpace Sequence Hub 앱을 이용해 참조 유전체를 생성합니다.  
자세한 내용은 *Reference Builder for Instruments v1.0.0 App Online Help*를 참조하시기 바랍니다.
2. Control Software 메뉴를 선택한 후 Process Management를 선택합니다.
3. 이때 진행 중인 시퀀싱 런이나 기기 내 2차 분석이 없어야 합니다.
4. Control Software 메뉴에서 Minimize Application을 선택합니다.
5. ilmnadmin 계정으로 로그인합니다.

6. Control Software 메뉴를 선택한 후 DRAGEN을 선택합니다.
7. Genome 섹션에서 View Installed Genomes를 선택합니다. 현재 설치되어 있는 Illumina 및 맞춤형 유전체의 목록을 확인할 수 있습니다.
8. 열려 있는 창을 닫습니다.
9. Import New Reference Genomes 아래에서 Choose를 선택한 후 휴대용 드라이브 또는 마운트된 네트워크 드라이브에서 참조 유전체 파일(\*.tar.gz)을 찾아 Open을 선택합니다.
10. Import를 선택합니다.

## Noise Baseline 파일 불러오기

Somatic Mode에서 DRAGEN Enrichment 워크플로우를 사용하는 경우, 시퀀싱 또는 system noise(시스템 노이즈)를 제거하기 위해 Noise Baseline(노이즈 베이스라인) 파일을 사용할 수 있습니다. [Illumina 웹사이트의 Support 페이지](#)에서 일반적인 맞춤형 Noise 파일을 다운로드하거나 Noise Baseline 파일을 맞춤 생성할 수 있습니다.

### Noise Baseline 파일 맞춤 생성하기

Somatic Mode를 사용하는 경우 Noise Baseline 파일을 맞춤 생성할 수 있습니다. Noise Baseline 파일은 해당 샘플에서 유래한 subject와 일치하지 않는 정상(normal) 샘플을 사용하여 만들어집니다. 권장되는 정상 샘플의 수는 50개입니다.

다음 중 한 가지 방법을 선택해 Noise Baseline 파일을 맞춤 생성합니다.

- DRAGEN Bio-IT Platform 서버를 사용합니다. 자세한 사용 방법은 *DRAGEN Bio-IT Platform Online Help*를 참조하시기 바랍니다.
- BaseSpace Sequence Hub에서 DRAGEN Baseline Builder 앱을 사용합니다. BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup에서 BCL Convert Pipeline을 사용하여 FASTQ 파일을 생성합니다. 시퀀싱 런이 완료된 후 이용 가능한 샘플이 50개라면, FASTQ 파일을 DRAGEN Baseline Builder 앱에 업로드합니다.

### 사용자 인터페이스를 사용하여 Baseline 파일 불러오기

Baseline 파일을 불러온 후 Somatic Mode에서 DRAGEN Enrichment 워크플로우를 이용해 시퀀싱 런을 설정할 수 있습니다.

1. [Illumina 웹사이트의 Support 페이지](#)에서 일반적인 Baseline 파일을 다운로드하거나, DRAGEN 서버 또는 DRAGEN Baseline Builder 앱에서 맞춤 생성한 Baseline 파일을 다운로드합니다.
2. Control Software 메뉴에서 Minimize Application을 선택합니다.
3. ilmnadmin 계정으로 로그인합니다.
4. Applications를 선택한 후 Favorites를 선택합니다.
5. +Other Locations를 선택한 후 Computer를 선택합니다.
6. usr를 더블클릭한 후 local을 더블클릭합니다.
7. illumina를 더블클릭한 후 aux\_files를 더블클릭합니다.
8. Noise Baseline 파일을 aux\_files로 드래그합니다.



## 터미널을 사용하여 Baseline 파일 불러오기

Baseline 파일을 불러온 후 Somatic Mode에서 DRAGEN Enrichment 워크플로우를 이용해 시퀀싱 런을 설정할 수 있습니다.

1. [Illumina 웹사이트의 Support 페이지](#)에서 일반적인 Baseline 파일을 다운로드하거나, DRAGEN 서버 또는 DRAGEN Baseline Builder 앱에서 맞춤 생성한 Baseline 파일을 다운로드합니다.
2. Control Software 메뉴에서 Minimize Application을 선택합니다.
3. ilmnadmin으로 로그인합니다.
4. Applications를 선택합니다.
5. Favorites 아래에서 Terminal을 선택합니다.
6. 다음 명령어를 입력합니다.

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

## 런 모드 설정하기

런 모드는 모든 런에 적용되며, 런 파라미터의 입력 위치와 데이터 분석 방법을 결정합니다.

### Cloud/Hybrid Mode

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support 아래에서 Online Run Setup을 선택합니다.
3. 필요할 경우 다음을 추가 설정할 수도 있습니다.
  - a. Proactive and Run Monitoring 또는 Proactive, Run Monitoring and Storage 선택.
  - b. 드롭다운 메뉴에서 Hosting Location 선택.
  - c. [선택 사항] Private Domain Name 입력.
4. Save를 선택합니다.

### Local/Standalone Mode

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support 아래에서 Local Run Setup을 선택합니다.
3. 필요할 경우 다음을 추가 설정할 수도 있습니다.
  - a. Proactive Support Only, Proactive and Run Monitoring, Proactive, Run Monitoring and Storage 또는 None 선택.

- i** | BaseSpace Sequence Hub는 Proactive, Run Monitoring and Storage가 선택된 경우에만 Requeue (런 분석 재수행) 기능의 사용을 허용합니다. 샘플 시트가 유효하지 않은 경우 사용자가 샘플 시트를 수정하고 디멀티플렉싱 분석을 재수행하는 작업을 허용합니다. 기기 내 분석 재수행 기능에 관한 정보는 [83페이지의 런 재분석하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
- b. 드롭다운 메뉴에서 Hosting Location 선택.
  - c. [선택 사항] Private Domain Name 입력.
4. Save를 선택합니다.

## Local/Standalone Mode에서 샘플 시트 선택 시 고려 사항

DRAGEN 분석 수행 시 반드시 Sample Sheet v2 파일 형식을 선택해야 합니다. Sample Sheet v2 파일 형식은 DRAGEN을 설정하지 않은 BaseSpace Sequence Hub 앱과도 호환이 가능합니다. v2 파일 형식으로 샘플 시트를 생성하는 방법은 [86페이지의 Sample Sheet v2 설정](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

## 기기 맞춤 설정

이 섹션은 기기의 맞춤 설정 방법을 제공합니다. 기본 결과 폴더를 설정하는 방법은 [13페이지의 기본 결과 폴더 위치 지정하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

### 기기명 설정하기

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. Instrument Nickname을 선택한 후 원하는 기기명을 입력합니다.  
입력한 기기명은 각 화면의 상단에 표시됩니다.
3. Save를 선택합니다.

### 변성 및 희석 환경 설정하기

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. 기기 내에서 라이브러리를 자동으로 변성(denaturation)하고 희석(dilution)할지 선택합니다. 이전 런에서 선택했던 옵션이 기본값으로 설정됩니다.
  - 기기 내에서 라이브러리를 자동으로 변성하고 희석하려면 Denature and Dilute On Board 체크 박스를 선택합니다.
  - 라이브러리를 수동으로 변성하고 희석하려면 Denature Dilute On Board 체크 박스를 선택 해제합니다. 라이브러리의 수동 변성 및 희석 지침은 *NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide* (문서 번호: 1000000139235)를 참조하시기 바랍니다.

### 자동 시약 제거 환경 설정하기

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.

2. 런 완료 후 폐시약 처리 과정을 간소화하기 위해 시스템이 각 런 수행 후 사용하지 않은 시약을 사용한 시약 수거함으로 자동으로 제거할지 여부를 선택합니다.
  - 자동 제거 옵션을 사용하려면 Purge Reagent Cartridge 체크 박스를 선택합니다.
  - 자동 제거 옵션을 사용하지 않으려면 Purge Reagent Cartridge 체크 박스를 선택 해제(기본 설정값)합니다. 사용하지 않은 시약을 제거하면 워크플로우 시간이 최대 2시간 증가합니다.
3. Save를 선택합니다.

## 소프트웨어 업데이트 설정하기

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. 시스템의 소프트웨어 업데이트 자동 확인 여부를 설정합니다.
  - 자동 확인 옵션을 사용하려면 Autocheck for software updates 체크 박스를 선택합니다.
  - 수동 확인 옵션을 사용하려면 Autocheck for software updates 체크 박스를 선택 해제합니다.

시스템이 소프트웨어 업데이트를 자동으로 확인하려면 인터넷 연결이 필요합니다. 소프트웨어 업데이트 설치에 관한 자세한 정보는 [75페이지의 소프트웨어 업데이트](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

3. Save를 선택합니다.

## LCD 밝기 조정하기

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. LCD 밝기 슬라이더를 움직여 원하는 %로 밝기를 조절합니다.
3. Save를 선택합니다.

## 프록시 서버 설정하기

프록시 서버(proxy server)는 NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전에서만 지원됩니다.

1. Control Software 메뉴에서 Settings를 선택합니다.
2. 현재 프록시 설정을 선택하여 Proxy Settings 화면을 엽니다.
3. Enable Proxy 체크 박스를 선택한 후 서버 IP 포트 주소를 입력합니다.
4. [선택 사항] 프록시 서버에서 인증을 요구하는 경우 Requires Username and Password 체크 박스를 선택한 후 사용자 이름과 비밀번호를 입력합니다.
5. Save를 선택하여 프록시 정보를 저장하고 인증합니다.
6. 다음 옵션 중 하나를 선택합니다.
  - Yes, I'm Finished를 선택하여 시스템을 재시작하고 새로운 프록시 설정값을 적용합니다.
  - No, Take Me Back을 선택하여 Settings 화면으로 돌아갑니다. 새로운 프록시 설정값은 저장만 되고 시스템을 다시 시작할 때까지는 적용되지 않습니다.

# 소모품 및 장비

이 섹션은 시약 키트의 구성품과 보관 조건을 설명합니다. 또 프로토콜 완료, 유지 관리 및 문제 해결을 위해 반드시 구입해야 하는 기타 소모품과 장비에 대한 정보를 제공합니다.

## 시퀀싱용 소모품

NextSeq 1000/2000 시스템으로 시퀀싱을 수행하려면 일회용 Illumina NextSeq 1000/2000 P1 Reagents Kit, 일회용 Illumina NextSeq 1000/2000 P2 Reagents Kit 또는 일회용 Illumina NextSeq 2000 P3 Reagents Kit가 한 개 필요합니다. NextSeq 1000/2000 P1 Reagents Kit는 한 가지 사이클 옵션(300 Cycles)을 지원하며, NextSeq 1000/2000 P2 Reagents Kit는 세 가지 사이클 옵션(100 Cycles, 200 Cycles, 300 Cycles)을 지원합니다. NextSeq 2000 P3 Reagents Kit는 네 가지 사이클 옵션(50 Cycles, 100 Cycles, 200 Cycles, 300 Cycles)을 지원합니다.

NextSeq 2000 P3 Reagents Kit는 NextSeq 2000 시퀀싱 시스템에만 호환 가능합니다.

Reagents Kit는 시퀀싱에 필요한 카트리지와 플로우 셀을 제공합니다. Reagents Kit 수령 시 다음 절차를 따르시기 바랍니다.

- 제품의 성능 보장을 위해 수령 즉시 구성품을 명시된 온도로 보관하도록 합니다.
- 알루미늄 포일 패키지는 지시가 있을 때까지 개봉하지 않습니다.
- 알루미늄 포일 패키지가 찢어지거나 구멍이 생기는 것을 방지하기 위해 카트리지를 원래 포장 패키지에 넣어 보관합니다.
- 카트리지 보관 시 화살표가 위를 향하도록 합니다.

**!** | 카트리지 라벨이 위를 향하지 않으면 시퀀싱 데이터에 부정적인 영향을 줄 수 있습니다.

표 2 키트 구성품

소모품	수량	보관 온도	규격
카트리지	1	-25~-15°C	29.2 cm × 17.8 cm × 12.7 cm
플로우 셀	1	2~8°C*	21.6 cm × 12.7 cm × 1.9 cm
RSB with Tween 20*	1	2~8°C	4 cm x 6.6 cm x 5 cm

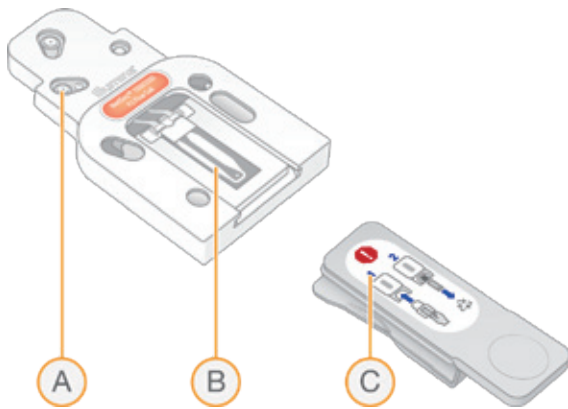
\*실온 상태로 배송.

소모품에는 추적 및 호환성 보장을 목적으로 식별자가 적용되어 있습니다. 카트리지와 플로우 셀은 RFID<sup>1</sup>를 사용합니다.

<sup>1</sup>Radio-frequency identification: 무선 주파수 식별

## 플로우 셀

해당 플로우 셀은 패턴화된 단일 레인 플로우 셀(single-lane flow cell)입니다. 플라스틱 카트리지가 유리 기반의 플로우 셀을 감싸고 있습니다. 안전한 취급을 위해 플로우 셀은 돌출된 회색 탭으로 덮여 있습니다.

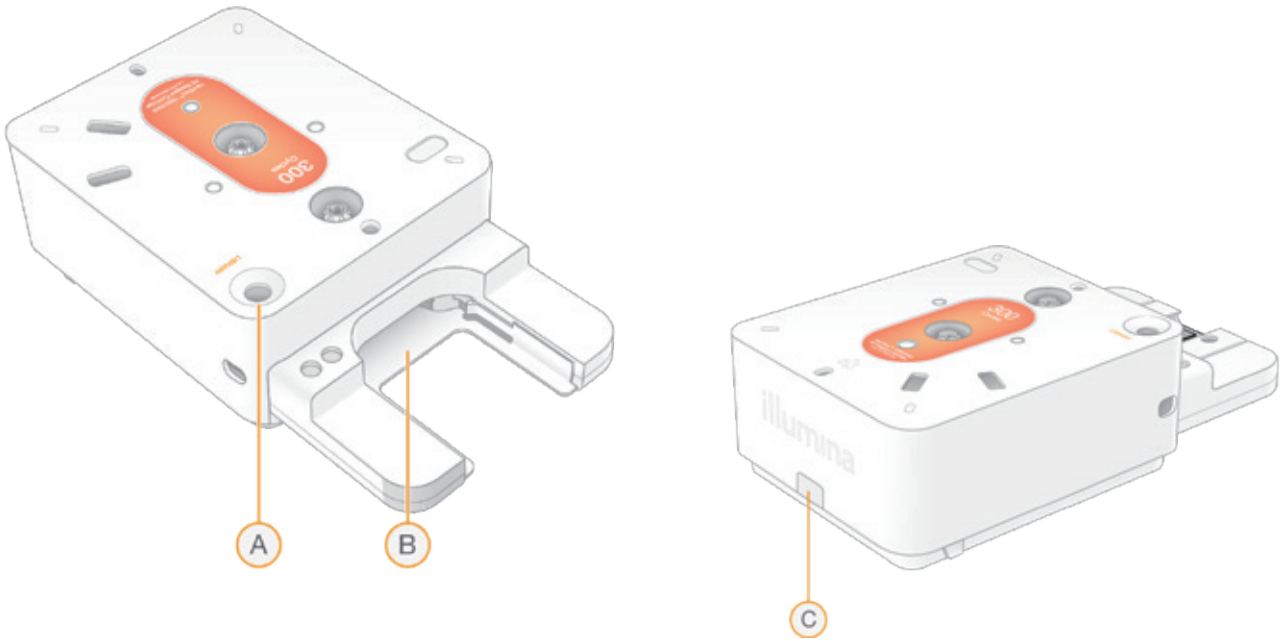


- A. 플라스틱 카트리지
- B. 플로우 셀
- C. 회색 탭

플로우 셀의 내부 표면은 수백만 개의 나노웰(nanowell)로 덮여 있습니다. 나노웰에서 클러스터가 생성되면 시퀀싱 반응이 일어납니다. 나노웰의 패턴화된 배열로 더 많은 양의 리드(read)와 데이터를 얻을 수 있습니다.

## 카트리지

시퀀싱 시약 카트리지에는 클러스터링(clustering), 시퀀싱, 페어드 엔드(paired-end) 및 인덱싱(indexing) 시약이 충전되어 있습니다. 포일로 밀봉되어 있는 저장소(reservoir)는 라이브러리용이며, 전면의 슬롯은 플로우 셀용입니다.



- A. 라이브러리 저장소
- B. 플로우 셀 슬롯
- C. 배출 플러그

카트리지에는 런 수행에 필요한 모든 소모품(시약, 라이브러리, 플로우 셀)이 들어 있습니다. 라이브러리와 플로우 셀을 해당된 카트리지에 로딩한 후 기기에 카트리지를 로딩하면 됩니다. 런이 시작되면 시약과 라이브러리가 카트리지에서 플로우 셀로 자동으로 전달됩니다.

카트리지는 사용된 시약을 수거하는 하단의 저장소를 비롯해 시스템에 필요한 펌프, 밸브, 모든 유체를 포함하고 있습니다. 런 완료 후 카트리지는 폐기되므로 기기 워시(wash)는 따로 필요하지 않습니다.





### 가능한 사이클 횟수

카트리지 라벨에 표시된 숫자는 수행 사이클 횟수가 아니라 분석 사이클 횟수입니다. 플로우 셀은 모든 사이클 횟수 및 모든 종류의 리드와 호환이 가능합니다.

모든 카트리지에는 38회의 사이클이 추가로 포함되어 있습니다. 다만, Illumina NextSeq 2000 P3 Reagents Kit의 카트리지 중 300 Cycles 카트리지에는 27회의 사이클이 추가로 포함되어 있습니다. Illumina NextSeq 1000/2000 P2 Reagents Kit의 200 Cycles 카트리지에는 최대 238회의 시퀀싱 사이클이 가능한 시약이 들어 있습니다. 적정 시퀀싱 사이클 횟수에 관한 정보는 [29페이지의 리드당 사이클 횟수](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

### 기호 설명

아래 표는 소모품이나 소모품 포장지에 표시되어 있는 기호를 설명합니다.

기호	설명
	소모품의 유효 기간. 정확한 결과를 위해 표시된 날짜 이전 소모품 사용 권장.
	제조사(Illumina)를 나타내는 기호.
	연구 전용(Research Use Only, RUO) 제품.
	소모품 식별용 파트(part) 번호.
	소모품의 제조 배치(batch)/로트(lot) 식별용 배치 코드.
	건강 유해성을 나타내는 기호.
	보관 온도(섭씨) 범위. 표시된 온도에서 소모품 보관.

## 기타 소모품

다음의 시퀀싱 및 유지 관리용 소모품을 구입해 두시기 바랍니다.

## 시퀀싱용 소모품

표 3 시퀀싱용 소모품

소모품	공급 업체	용도
일회용 장갑(powder-free)	일반 실험기자재 공급 업체	범용.
NextSeq 1000/2000 P1 Reagents Kit	Illumina 카탈로그 번호: 20050264(300 Cycles)	듀얼 인덱싱(dual-indexing)과 시퀀싱을 위한 시약을 키트로 제공(최대 100M개의 싱글 리드). NextSeq 1000/2000 Reagent Cartridge, NextSeq 1000/2000 P1 Flow Cell 및 RSB with Tween 20 포함. v3 시약을 기반으로 하는 시약 키트. NextSeq 1000 및 NextSeq 2000에 호환 가능.
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (v3) Kit	Illumina: 카탈로그 번호 20046811(100 Cycles) 카탈로그 번호 20046812(200 Cycles) 카탈로그 번호 20046813(300 Cycles)	듀얼 인덱싱과 시퀀싱을 위한 시약을 키트로 제공(최대 400M개의 싱글 리드). NextSeq 1000/2000 Reagent Cartridge, NextSeq 1000/2000 P2 Flow Cell 및 RSB with Tween 20 포함. NextSeq 1000 및 NextSeq 2000에 호환 가능.
NextSeq 2000 P3 Reagents kit	Illumina: 카탈로그 번호 20046810(50 Cycles) 카탈로그 번호 20040559(100 Cycles) 카탈로그 번호 20040560(200 Cycles) 카탈로그 번호 20040561(300 Cycles)	듀얼 인덱싱과 시퀀싱을 위한 시약을 키트로 제공(최대 1.2B개의 싱글 리드). NextSeq 2000 Reagent Cartridge, NextSeq 2000 P3 Flow Cell 및 RSB with Tween 20 포함. v3 시약을 기반으로 하는 시약 키트. NextSeq 2000에만 호환 가능.



소모품	공급 업체	용도
1.5 ml 마이크로튜브	Fisher Scientific(카탈로그 번호: 14-222-158) 또는 동일 사양의 튜브 (low-bind)	라이브러리를 로딩 농도로 희석할 때 사용.
10 µl 피펫 팁	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리 희석에 사용.
20 µl 피펫 팁	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리 희석 및 로딩에 사용.
200 µl 피펫 팁	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리 희석에 사용.
1000 µl 피펫 팁	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리 저장소 포일에 구멍을 낼 때 사용.
[선택 사항] PhiX Control v3	Illumina(카탈로그 번호: FC-110-3001)	PhiX 단독 런 수행 혹은 PhiX Control의 spike-in에 사용.
[선택 사항] 종이 타월	일반 실험기자재 공급 업체	카트리지를 향한 수조에서 꺼낸 후 건조할 때 사용.

### 유지 관리용 소모품

표 4 유지 관리용 소모품

소모품	공급 업체	용도
일회용 장갑(powder-free)	일반 실험기자재 공급 업체	범용.
NextSeq 1000/2000 Air Filter Replacement*	Illumina(카탈로그 번호: 20029759)	6개월 주기로 에어 필터 교체 시 사용.

\* 기기에 설치된 에어 필터 1개 외에 예비 에어 필터 1개가 함께 배송됩니다. 품질 보증 기간이 지나면 교체품은 사용자가 준비해야 합니다. 사용 전까지는 포장된 상태 그대로 보관하시기 바랍니다.

## 기타 장비

아래 표의 시퀀싱용 장비를 구입해 두시기 바랍니다.

품목	공급 업체	용도
-25~-15°C 냉동고	일반 실험기자재 공급 업체	카트리지 보관에 사용.
얼음통	일반 실험기자재 공급 업체	시퀀싱 전까지 라이브러리를 담아둘 때 사용.
10 µl 피펫	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리를 로딩 농도로 희석할 때 사용.

품목	공급 업체	용도
20 µl 피펫	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리를 로딩 농도로 희석하고 라이브러리를 카트리지에 로딩할 때 사용.
200 µl 피펫	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리를 로딩 농도로 희석할 때 사용.
2~8°C 냉장고	일반 실험기자재 공급 업체	플로우 셀을 보관하거나 카트리지를 해동할 때 사용.
[선택 사항] 다음 온도 조절 가능 항온 수조 중 1개 또는 25°C에서 온도 유지가 가능한 동일 사양의 제품	<ul style="list-style-type: none"> <li>Thermo Fisher Scientific (카탈로그 번호: TSCIR 35)</li> <li>Shel Lab (카탈로그 번호: SWBC22)</li> </ul>	카트리지 해동에 사용.
<ul style="list-style-type: none"> <li>Thermo Scientific Precision 35L Circulating Water Bath (카트리지 5개 동시 해동)</li> <li>SHEL LAB 22L Digital Circulating Water Bath (카트리지 3개 동시 해동)</li> </ul>		

# 프로토콜

이 섹션은 소모품 준비, 라이브러리 희석, 시퀀싱 런 설정을 위해 각 런 모드(총 4개의 런 모드 중 Cloud, Hybrid 및 Local Mode는 DRAGEN 또는 BaseSpace Sequence Hub를 사용하며, Standalone Mode는 맞춤형 분석 워크플로우를 통한 cBCL 데이터 생성을 위해 독립적인 런만을 수행)에 적용되는 단계별 지침을 제공합니다.

시약과 기타 화학물질을 취급할 때는 보안경, 실험 가운, 장갑(powder-free)을 착용해야 합니다. 필수 소모품과 장비는 프로토콜 시작 전 미리 준비해 둡니다. 자세한 내용은 [21페이지의 소모품 및 장비](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

명시된 볼륨, 온도, 시간을 준수해 표시된 순서대로 프로토콜을 따릅니다.

## 시퀀싱 고려 사항

프로토콜 시작 전 라이브러리 희석 및 런 설정 준비를 위해 다음 정보를 확인하시기 바랍니다. 성공적인 시퀀싱과 분석을 위해서는 최적의 로딩 농도를 찾는 것이 중요합니다. 올바른 사이클 횟수를 리드에 적용해야 최적의 데이터를 얻을 수 있습니다.

### 로딩 볼륨 및 농도

로딩 볼륨은 20  $\mu$ l입니다. 로딩 농도는 라이브러리 종류에 따라 다릅니다.

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

그 밖에 다른 종류의 라이브러리는 우선 650 pM의 로딩 농도로 시작할 것을 권장합니다. 이후 몇 회의 런을 통해 로딩 농도를 최적화하여 일관되게 원하는 사양에 부합하는 데이터를 도출하는 로딩 농도로 찾도록 합니다.

**i** | 로딩 농도의 최적화에는 런 완료 후 생성되는 `PrimaryAnalysisMetrics.csv` 파일의 % Loading Concentration 메트릭(metric)을 사용할 수 있습니다. % Loading Concentration값이 < 95%이면 몇 회의 런을 통해 로딩 농도를 100 pM씩 높이도록 합니다.

## 리드당 사이클 횟수

리드마다 최소 26회의 사이클에서 최대 151회의 사이클을 적용해야 데이터 품질을 보장할 수 있습니다. 정확한 사이클 횟수는 실험에 따라 다릅니다. NextSeq 1000/2000 Control Software는 Read 1에 최소 1회의 사이클을 요구하지만, Read 1의 사이클 횟수가 26 미만인 경우 경고 메시지를 표시합니다.

Read 1, Index 1, Index 2 및 Read 2의 총 사이클 횟수는 100 Cycles 키트와 200 Cycles 키트의 경우 키트가 지원하는 사이클 횟수에 38을 더한 수를 초과하면 안 되고, P3 300 Cycles 키트의 경우 키트가 지원하는 사이클 횟수에 27을 더한 수를 초과하면 안 됩니다. NextSeq 1000/2000 Control Software는 Index 1 및 Index 2의 사이클 횟수가 6 미만일 경우 경고 메시지를 표시합니다. Index 1 또는 Index 2의 사이클 횟수가 0인 경우에는 경고 메시지가 표시되지 않습니다.

최소/최대 사이클 횟수는 추가 사이클 횟수를 포함한 숫자입니다. 페이징(phasing) 및 프리페이징(prephasing)의 영향을 보정하기 위해 항상 원하는 리드 길이(read length)에 사이클 1회를 더하도록 합니다. 리드 길이는 Read 1 및 Read 2의 시퀀싱 사이클 횟수로, 추가 사이클과 인덱스 사이클 횟수를 포함하지 않습니다. 자세한 내용은 [58페이지의 Real-Time Analysis의 워크플로우](#) 섹션 내 페이징 보정을 참조하시기 바랍니다.

### 런 설정 예시

- 리드 길이가 35(싱글 리드)인 경우 Read 1 필드에 36 입력.
- 리드(페어드 엔드)당 리드 길이가 150인 경우 Read 1 필드에 151, Read 2 필드에 151 입력.

## BaseSpace Sequence Hub를 통한 시퀀싱 런 계획하기

런 설정값 생성 및 구성에는 BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup 기능을 이용합니다. Cloud Mode 또는 Hybrid Mode에서 런을 설정하는 경우 Planned Runs 탭에서 해당 BaseSpace Sequence Hub 계정의 계획된 런 목록에 런 설정값을 적용하도록 합니다. Planned Runs 탭은 NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템을 통해 시퀀싱이 가능한 런의 목록을 보여줍니다. Local Mode에서 런을 설정하는 경우 v2 형식의 샘플 시트 생성 및 내보내기에 Instrument Run Setup을 이용합니다. BaseSpace Sequence Hub를 사용하지 않고 템플릿을 선택해 샘플 시트를 생성하려면 [86페이지의 Sample Sheet v2 설정](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup 기능은 최대 1536개의 샘플을 지원하며 그 이상은 지원하지 않습니다.

## 런 설정하기

1. BaseSpace Sequence Hub로 이동합니다.
2. 이메일 주소와 BaseSpace Sequence Hub 비밀번호를 입력한 후 Sign in을 선택합니다.
3. Runs 탭을 선택한 후 New Run 드롭다운 목록을 선택합니다.
4. NextSeq 1000/2000을 선택합니다.
5. 해당 런을 다른 런과 구별하기 위해 원하는 이름을 Run Name 필드에 입력합니다.  
Run Name 필드에는 영문자, 숫자, 공백, 대시(-), 밑줄(\_)을 포함해 최대 225자까지 입력할 수 있습니다.
6. 다음 중 하나의 분석 위치를 선택합니다.
  - BaseSpace – 클라우드에서 시퀀싱 데이터 분석.
  - Local – 기기 내 시퀀싱 데이터 분석 또는 Local Mode 또는 Hybrid Mode에서 Sample Sheet v2 생성.
7. 분석 유형과 버전을 선택합니다.  
2차 분석에 관한 자세한 정보는 [63페이지의 DRAGEN 2차 분석 결과 파일](#) 섹션 또는 BaseSpace Sequence Hub 앱 문서를 참조하시기 바랍니다. DRAGEN Single Cell RNA 분석 선택 시 NextSeq 1000/2000 Products Files 페이지에서 타사 Single Cell RNA Library Prep Kit와의 호환 여부를 확인하시기 바랍니다.
 

**i** | 기기 내 분석 시, 선택한 버전과 기기에 설치된 DRAGEN의 버전이 서로 일치해야 합니다. 기기에 설치된 DRAGEN의 버전을 확인하는 방법은 [77페이지의 DRAGEN 워크플로우 및 라이선스 업데이트](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
8. [선택 사항] 커스텀 Index Kit를 다음과 같은 순서로 설정합니다.  
두 개 이상의 라이브러리를 사용할 경우 모든 라이브러리의 인덱스 리드 길이가 동일해야 합니다.
  - a. Index Adapter Kit 드롭다운 목록 아래에서 Add Custom Index Adapter Kit를 선택합니다.
  - b. 템플릿 종류를 선택한 후, 키트 이름, 어댑터 시퀀스, 인덱스 전략, 인덱스 시퀀스를 입력합니다.  
Index 2(i5)의 어댑터 시퀀스가 정방향(forward orientation)인지 확인합니다.
  - c. Create New Kit를 선택합니다.
9. [선택 사항] 커스텀 Library Prep Kit를 다음과 같은 순서로 설정합니다.
  - a. Library Prep Kit 드롭다운 목록 아래에서 Add Custom Library Prep Kit를 선택합니다.
  - b. 커스텀 Library Prep Kit의 이름, 리드 종류, 기본 리드 사이클, 호환 가능한 인덱스 어댑터 키트를 입력합니다.
  - c. Create New Kit를 선택합니다.
10. 다음의 기기 설정값을 입력합니다. Library Prep Kit에 따라 권장 옵션이 자동으로 선택됩니다. 일부 Library Prep Kit에는 변경이 불가능한 하드코딩된 인덱스 리드 개수와 리드 종류가 적용되어 있습니다.
  - Library prep kit

- Index adapter kit
- Number of index reads
- Read type
- Number of sequencing cycles per read

**i** | Library prep kit 옵션을 Not Specified로 설정하는 경우 Sample Data 섹션에 인덱스 시퀀스를 입력할 때까지 Number of index reads값은 업데이트되지 않습니다.

11. 다음 중 한 가지 옵션을 선택해 Sample Data 스프레드시트에 샘플 정보를 입력합니다. 후속 분석 중 데이터 집계를 위해 샘플을 그룹화하려면 Project열에 그룹명을 입력합니다.

- Import Data를 선택한 뒤 원하는 샘플 시트를 선택합니다. 샘플 시트의 형식이 요구 사항을 충족하는지 확인합니다. 자세한 내용은 [86페이지의 Sample Sheet v2 설정](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다. 최초 다운로드 후 샘플 시트를 변경하면 분석에 실패할 수도 있습니다.
- 외부 파일에서 샘플 ID를 비롯해 인덱스 플레이트의 웰 포지션(well position) 또는 i7 및 i5 인덱스 정보를 복사한 후 붙여넣습니다. 복사한 정보를 붙여넣기 전에 Rows 필드에 샘플 행의 수를 입력한 뒤 +를 선택합니다. 샘플 ID는 영문자, 숫자, 하이픈(-), 밑줄(\_)을 최대 20자까지 입력할 수 있습니다.

**i** | 고정 레이아웃 인덱스 플레이트(fixed-layout index plate)에 웰 포지션 입력값이 필요합니다. 인덱스가 고정 레이아웃이 아닌 경우 i7 및 i5 인덱스 입력값이 필요합니다. 이때 i5 인덱스 입력값은 반드시 정방향이어야 합니다.

- 샘플 ID와 해당 웰 포지션 또는 인덱스 정보를 직접 입력합니다. Library Prep Kit를 Not Specified로 설정하는 경우 Index 2(i5) 시퀀스 입력값은 정방향이어야 합니다.

12. Next를 선택합니다.

## 2차 분석 설정하기

런을 위해 선택한 분석 유형의 설정값을 입력합니다. DRAGEN 분석 워크플로우에 대한 자세한 내용은 [63페이지의 DRAGEN 2차 분석 결과 파일](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

### Illumina DRAGEN BCL Convert

다음 순서에 따라 Illumina DRAGEN BCL Convert 분석을 설정합니다.

1. 다음 설정(선택 사항)을 입력합니다.

설정 항목	설명
AdapterRead1	Read 1의 어댑터 시퀀스. Illumina Library Prep Kit 사용 시 AdapterRead1 필드는 공란 처리.
AdapterRead2	Read 2의 어댑터 시퀀스. Illumina Library Prep Kit 사용 시 AdapterRead2 필드는 공란 처리.

설정 항목	설명
BarcodeMismatchesIndex1	첫 번째 인덱스 리드와 인덱스 시퀀스 간 허용되는 미스매치(mismatch) 수. 기본 설정값은 1. 바코드가 6 bp인 경우 권장값은 0.
BarcodeMismatchesIndex2	두 번째 인덱스 리드와 인덱스 시퀀스 간 허용되는 미스매치 수. 기본 설정값은 1. 바코드가 6 bp인 경우 권장값은 0.
OverrideCycles	<p>UMI 사이클 설정 및 리드의 사이클 마스킹(masking)에 사용되는 스트링. 다음과 같은 입력값 허용.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• N – 무시할 사이클 설정.</li> <li>• Y – 시퀀싱 사이클 설정.</li> <li>• I – 인덱스 사이클 설정.</li> <li>• U – 트리밍(trimming)할 UMI 사이클 설정.</li> </ul> <p>세미콜론으로 값 구분. 다음의 OverrideCycles 입력값 예시 참조.</p> <pre>U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66</pre>

- FASTQ 파일 사본의 저장 여부를 선택합니다. FASTQ 파일은 FASTQ 파일 저장 옵션을 선택했을 때만 생성됩니다.
- 다음의 FASTQ 출력 형식 옵션 중 하나를 선택합니다.
  - gzip – FASTQ 파일을 gzip 형식으로 저장.
  - DRAGEN – FASTQ 파일을 ora 형식으로 저장.
- 런 설정을 마칩니다.
  - 런 설정값을 BaseSpace Sequence Hub 계정으로 전송하려면 Submit Run을 선택합니다. BaseSpace Sequence Hub로 전송된 런은 계획된 런 목록에서 확인 가능하며, Cloud/Hybrid Mode인 시스템에서 선택 가능합니다.
  - 런 설정값을 v2 파일 형식의 샘플 시트로 저장하려면 Submit Run 드롭다운 목록에서 Export Sample Sheet를 선택합니다. 시스템에서 Local Mode로 런을 시작하려면 샘플 시트가 필요합니다. 해당 옵션은 분석 위치로 Local이 선택된 경우에만 이용 가능합니다.

### Illumina DRAGEN Enrichment

다음 순서에 따라 Illumina DRAGEN Enrichment 분석을 설정합니다.

- 참조 유전체를 선택합니다. 되도록 alt aware가 있는 참조 유전체를 사용합니다.

2. 표적화하려는 영역이 들어있는 \*.bed 파일을 선택하거나 새로운 맞춤형 파일을 업로드합니다. BED 파일의 참조 유전체와 1단계에서 선택한 참조 유전체가 서로 일치하는지 확인합니다. 새로운 맞춤형 BED 파일을 업로드하는 경우 파일명은 name\_of\_panel\_versionNumber.referencegenome.bed 형식으로 입력합니다.
  - Local Mode – 1회의 런을 위해 파일을 업로드하는 경우 Select Custom File (Local), 반복 사용이 목적일 경우 Upload Custom File (BaseSpace) 선택.
  - Cloud/Hybrid Mode – Upload Custom File (BaseSpace) 선택. 맞춤형 BED 파일은 해당 파일이 업로드된 Workgroup(작업 그룹)에서만 이용 가능.
3. Germline Variant Caller 또는 Somatic Variant Caller를 선택합니다.
4. [선택 사항] Somatic Variant Caller를 사용하는 경우 Noise Baseline 파일을 선택합니다. 자세한 내용은 [17페이지의 Noise Baseline 파일 불러오기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
5. 매핑/정렬(Mapping/Alignment) 출력 형식을 선택합니다.
6. FASTQ 파일 사본의 저장 여부를 선택합니다. FASTQ 파일은 FASTQ 파일 저장 옵션을 선택했을 때만 생성됩니다.
7. 다음의 FASTQ 출력 형식 옵션 중 하나를 선택합니다.
  - gzip – FASTQ 파일을 gzip 형식으로 저장.
  - DRAGEN – FASTQ 파일을 ora 형식으로 저장.
8. 런 설정을 마칩니다.
  - 런 설정값을 BaseSpace Sequence Hub 계정으로 전송하려면 Submit Run을 선택합니다. BaseSpace Sequence Hub로 전송된 런은 계획된 런 목록에서 확인 가능하며, Cloud/Hybrid Mode인 시스템에서 선택 가능합니다.
  - 런 설정값을 v2 파일 형식의 샘플 시트로 저장하려면 Submit Run 드롭다운 목록에서 Export Sample Sheet를 선택합니다. 샘플 시트와 2차 분석 지원 파일은 \*.zip 폴더로 다운로드되며 Local Mode인 시스템에서 런을 시작할 때 필요합니다. 해당 옵션은 분석 위치로 Local이 선택된 경우에만 이용 가능합니다.

## Illumina DRAGEN Germline

다음 순서에 따라 Illumina DRAGEN Germline 분석을 설정합니다.

1. 참조 유전체를 선택합니다.  
되도록 alt aware가 있는 참조 유전체를 사용합니다.
2. 매핑/정렬 출력 형식을 선택합니다.
3. FASTQ 파일 사본의 저장 여부를 선택합니다. FASTQ 파일은 FASTQ 파일 저장 옵션을 선택했을 때만 생성됩니다.
4. 다음의 FASTQ 출력 형식 옵션 중 하나를 선택합니다.
  - gzip – FASTQ 파일을 gzip 형식으로 저장.
  - DRAGEN – FASTQ 파일을 ora 형식으로 저장.



## 5. 런 설정을 마칩니다.

- 런 설정값을 BaseSpace Sequence Hub 계정으로 전송하려면 Submit Run을 선택합니다. BaseSpace Sequence Hub로 전송된 런은 계획된 런 목록에서 확인 가능하며, Cloud/Hybrid Mode인 시스템에서 선택 가능합니다.
- 런 설정값을 v2 파일 형식의 샘플 시트로 저장하려면 Submit Run 드롭다운 목록에서 Export Sample Sheet를 선택합니다. 샘플 시트와 2차 분석 지원 파일은 \*.zip 폴더로 다운로드되며 Local Mode인 시스템에서 런을 시작할 때 필요합니다. 해당 옵션은 분석 위치로 Local이 선택된 경우에만 이용 가능합니다.

## Illumina DRAGEN RNA

다음 순서에 따라 Illumina DRAGEN RNA 분석을 설정합니다.

1. 참조 유전체를 선택합니다.  
되도록 alt aware가 없는 참조 유전체를 사용합니다.
2. 매핑/정렬 출력 형식을 선택합니다.
3. FASTQ 파일 사본의 저장 여부를 선택합니다. FASTQ 파일은 FASTQ 파일 저장 옵션을 선택했을 때만 생성됩니다.
4. 다음의 FASTQ 출력 형식 옵션 중 하나를 선택합니다.
  - gzip – FASTQ 파일을 gzip 형식으로 저장.
  - DRAGEN – FASTQ 파일을 ora 형식으로 저장.
5. [선택 사항] RNA Annotation 파일을 GTF(Gene Transfer Format) 형식으로 업로드합니다.
  - Local Mode – 1회의 런을 위해 파일을 업로드하는 경우 Select Custom File (Local), 반복 사용이 목적일 경우 Upload Custom File (BaseSpace) 선택.
  - Cloud/Hybrid Mode – Upload Custom File (BaseSpace) 선택. GTF 파일은 해당 파일이 업로드된 Workgroup(작업 그룹)에서만 이용 가능.

BaseSpace Sequence Hub Workgroup에 GTF 파일을 업로드한 후 드롭다운 메뉴에서 RNA Annotation 파일을 선택합니다.
6. Differential expression(차등 발현) 설정 여부를 선택합니다.
7. Differential expression을 설정한 경우 각 샘플의 대조(control)값 또는 비교(comparison)값을 선택합니다.  
이 경우 각 비교군에서 control이라고 표기된 샘플과 comparison이라고 표기된 샘플이 모두 비교됩니다. 샘플에 대조값이나 비교값이 없는 경우 na를 설정값으로 선택합니다.
8. 런 설정을 마칩니다.
  - 런 설정값을 BaseSpace Sequence Hub 계정으로 전송하려면 Submit Run을 선택합니다. BaseSpace Sequence Hub로 전송된 런은 계획된 런 목록에서 확인 가능하며, Cloud/Hybrid Mode인 시스템에서 선택 가능합니다.

- 런 설정값을 v2 파일 형식의 샘플 시트로 저장하려면 Submit Run 드롭다운 목록에서 Export Sample Sheet를 선택합니다. GTF 파일(선택 사항)이 업로드된 경우 샘플 시트와 2차 분석 지원 파일은 \*.zip 폴더로 다운로드되며 Local Mode인 시스템에서 런을 시작할 때 필요합니다. 해당 옵션은 분석 위치로 Local이 선택된 경우에만 이용 가능합니다.

## Illumina DRAGEN Single Cell RNA

다음 순서에 따라 Illumina DRAGEN Single Cell RNA 분석을 설정합니다.

1. 참조 유전체를 선택합니다.  
되도록 alt aware가 없는 참조 유전체를 사용합니다.
2. [선택 사항] RNA Annotation 파일을 GTF(Gene Transfer Format) 형식으로 업로드합니다.
  - Local Mode – 1회의 런을 위해 파일을 업로드하는 경우 Select Custom File (Local), 반복 사용이 목적인 경우 Upload Custom File (BaseSpace) 선택.
  - Cloud/Hybrid Mode – Upload Custom File (BaseSpace) 선택. GTF 파일은 해당 파일이 업로드된 Workgroup(작업 그룹)에서만 이용 가능.
 BaseSpace Sequence Hub Workgroup에 GTF 파일을 업로드한 후 드롭다운 메뉴에서 RNA Annotation 파일을 선택합니다.
3. 매핑/정렬 출력 형식을 선택합니다.
4. FASTQ 파일 사본의 저장 여부를 선택합니다. FASTQ 파일은 FASTQ 파일 저장 옵션을 선택했을 때만 생성됩니다.
5. 다음의 FASTQ 출력 형식 옵션 중 하나를 선택합니다.
  - gzip – FASTQ 파일을 gzip 형식으로 저장.
  - DRAGEN – FASTQ 파일을 ora 형식으로 저장.
6. 해당 Library Prep Kit의 종류와 동일한 Configuration을 선택합니다.  
예: Library Prep Kit로 Single Cell RNA Library Kit 1을 선택했다면 Configuration Type으로 Type 1을 선택.
7. Barcode read를 선택합니다.
8. [선택 사항] 바코드와 UMI의 베이스(base) 수를 수정합니다. 두 값은 앞서 선택한 Library Prep Kit 및 Configuration Type에 따라 자동으로 입력됩니다.
9. Strand orientation을 선택합니다.
10. [선택 사항] 해당 바코드 시퀀스가 담긴 파일을 선택하거나 새로운 맞춤형 파일을 업로드합니다.
11. Advanced/Custom Configuration Type을 사용하는 경우 Override Cycles의 횟수, Barcode Position, UMI Position을 입력합니다.
12. 런 설정을 마칩니다.

- 런 설정값을 BaseSpace Sequence Hub 계정으로 전송하려면 Submit Run을 선택합니다. BaseSpace Sequence Hub로 전송된 런은 계획된 런 목록에서 확인 가능하며, Cloud/Hybrid Mode인 시스템에서 선택 가능합니다.
- 런 설정값을 v2 파일 형식의 샘플 시트로 저장하려면 Submit Run 드롭다운 목록에서 Export Sample Sheet를 선택합니다. GTF 파일(선택 사항)이 업로드된 경우 샘플 시트와 2차 분석 지원 파일은 \*.zip 폴더로 다운로드되며 Local Mode인 시스템에서 런을 시작할 때 필요합니다. 해당 옵션은 분석 위치로 Local이 선택된 경우에만 이용 가능합니다.

## Illumina DRAGEN Amplicon

다음 순서에 따라 Illumina DRAGEN Amplicon 분석을 설정합니다.

1. 참조 유전체를 선택합니다.
2. 표적화하려는 영역이 들어있는 \*.bed 파일을 선택하거나 새로운 맞춤형 파일을 업로드합니다. BED 파일의 참조 유전체와 1단계에서 선택한 참조 유전체가 서로 일치하는지 확인합니다. 새로운 맞춤형 BED 파일을 업로드하는 경우 파일명은 `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed` 형식으로 입력합니다.
  - Cloud/Hybrid Mode – Upload Custom File (BaseSpace) 선택. 맞춤형 BED 파일은 해당 파일이 업로드된 Workgroup(작업 그룹)에서만 이용 가능.
  - Local Mode – 1회의 런을 위해 파일을 업로드하는 경우 Select Custom File (Local), 반복 사용이 목적일 경우 Upload Custom File (BaseSpace) 선택.
3. Germline Variant Caller 또는 Somatic Variant Caller를 선택합니다.
4. 매핑/정렬 출력 형식을 선택합니다.
5. [Local] FASTQ 파일 사본의 저장 여부를 선택합니다. FASTQ 파일은 FASTQ 파일 저장 옵션을 선택했을 때만 생성됩니다.
6. FASTQ 파일 사본의 저장 여부를 선택합니다. FASTQ 파일은 FASTQ 파일 저장 옵션을 선택했을 때만 생성됩니다.
7. 다음의 FASTQ 출력 형식 옵션 중 하나를 선택합니다.
  - gzip – FASTQ 파일을 gzip 형식으로 저장.
  - DRAGEN – FASTQ 파일을 ora 형식으로 저장.
8. 런 설정을 마칩니다.
  - 런 설정값을 BaseSpace Sequence Hub 계정으로 전송하려면 Submit Run을 선택합니다. BaseSpace Sequence Hub로 전송된 런은 계획된 런 목록에서 확인 가능하며, Cloud/Hybrid Mode인 시스템에서 선택 가능합니다.
  - [Local] 런 구성을 v2 파일 형식의 샘플 시트로 저장하려면 Submit Run 드롭다운 목록에서 Export Sample Sheet를 선택합니다. 샘플 시트와 2차 분석 지원 파일은 \*.zip 폴더로 다운로드되며 Local Mode인 시스템에서 런을 시작할 때 필요합니다. 해당 옵션은 분석 위치로 Local이 선택된 경우에만 이용 가능합니다.

## 패키지 상태의 카트리지를 해동하기

이 단계에서는 미개봉 상태의 카트리지를 해동하고 플로우 셀을 준비하게 됩니다. 카트리는 패키지 채로 온도 조절 향온 수조, 냉장고 또는 실온에서 해동합니다. 카트리는 해동 후 재냉동하지 말고 바로 사용하도록 합니다. 해동 후 곧바로 카트리를 사용할 수 없는 경우 82페이지의 [소모품 재보관하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

그림 4 미개봉 상태의 카트리지





### 온도 조절 향온 수조에서 카트리지 해동하기

1. 새 장갑(powder-free)을 양손에 끼고 보관 중이던 카트리를 꺼냅니다.
2. 박스에서 카트리를 꺼내되 **알루미늄 포일 패키지는 개봉하지 않습니다.**
- ❗ | 찢어지거나 구멍이 생긴 패키지에 든 카트리를 향온 수조에 넣고 해동하면 시퀀싱에 실패할 수 있습니다. 이 경우 실온이나 냉장고에서 대신 해동하도록 합니다.
3. 카트리를 패키지 채로 25°C로 유지되는 향온 수조에서 6시간 동안 해동합니다.
  - 해동하는 카트리의 개수와 관계없이 수조 속 물의 깊이는 최소 9.5~10 cm를 유지합니다.
  - 향온 수조의 온도를 25°C로 설정합니다.
  - 패키지의 라벨이 위를 향하게 카트리를 수조에 넣되 완전히 물에 잠기지 않게 합니다.
  - ❗ | 카트리에 무게를 실어 억지로 물에 잠기게 하지 않습니다. 해동 중 패키지의 라벨이 위를 향하지 않거나 카트리가 뒤집히면 시퀀싱 데이터에 부정적인 영향을 줄 수 있습니다.
  - 카트리를 향온 수조에 8시간 넘게 방치하지 않습니다.


- 수조가 수용 가능한 개수보다 더 많은 카트리지를 동시에 해동하지 않습니다. 호환 가능한 수조의 목록은 [26페이지의 기타 장비](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
- 카트리지를 여러 개 겹쳐 해동하지 않습니다.

4. 수조에서 카트리지를 꺼내 종이 타월로 닦아 줍니다.

### 냉장고에서 카트리지 해동하기

1. 일회용 장갑(powder-free)을 양손에 끼입니다.
2. 런 수행일 하루 전 -25~-15°C에서 보관 중이던 카트리지를 꺼내 둡니다.
3. 박스에서 카트리지를 꺼내되 *알루미늄 포일 패키지는 개봉하지 않습니다.*
4. 카트리지를 라벨이 위를 향하게 실온에 두고 양쪽 측면과 윗면을 통해 공기가 통할 수 있도록 합니다.  
 패키지의 라벨이 위를 향하지 않으면 시퀀싱 데이터에 부정적인 영향을 줄 수 있습니다.
5. 실온에서 6시간 동안 해동합니다.
6. 카트리지를 라벨이 위를 향하게 2~8°C의 냉장고에 넣고 양쪽 측면과 윗면을 통해 공기가 통할 수 있도록 합니다.  
 패키지의 라벨이 위를 향하지 않으면 시퀀싱 데이터에 부정적인 영향을 줄 수 있습니다.
7. 냉장고에서 12시간 동안 해동합니다. 단, 72시간을 넘지 않도록 합니다.

### 실온에서 카트리지 해동하기

1. 일회용 장갑(powder-free)을 양손에 끼입니다.
2. -25~-15°C에서 보관 중이던 카트리지를 꺼냅니다.
3. 박스에서 카트리지를 꺼내되 *알루미늄 포일 패키지는 개봉하지 않습니다.*
4. 카트리지를 라벨이 위를 향하게 두고 양쪽 측면과 윗면을 통해 공기가 통할 수 있도록 합니다.  
 패키지의 라벨이 위를 향하지 않으면 시퀀싱 데이터에 부정적인 영향을 줄 수 있습니다.
5. 실온에서 9시간 동안 해동합니다. 단, 16시간을 넘지 않도록 합니다.

### 플로우 셀 및 카트리지 준비하기

1. 다음 절차에 따라 플로우 셀을 준비합니다.
  - a. 2~8°C에서 보관 중이던 새 플로우 셀을 꺼냅니다.
  - b. 결로 현상을 방지하기 위해 포장 상태의 플로우 셀을 10~15분간 실온에 둡니다. 이 시점에 플로우 셀을 준비해야 플로우 셀이 확실히 제시간에 실온에 도달할 수 있습니다.
2. 냉장고에서 해동할 경우

- a. 2~8°C에서 보관 중이던 해동된 카트리지를 꺼냅니다.
- b. 시퀀싱 시작 전 포장 상태의 카트리지를 최소 15분간 실온에 둡니다. 단, 1시간을 넘기지 않아야 합니다.

## 라이브러리 희석하기

온보드 변성 및 희석 옵션을 사용 중일 경우 이 단계를 통해 라이브러리를 적절한 로딩 농도로 희석할 수 있습니다. 선택 사항인 2% PhiX<sup>1</sup> spike-in은 추가적인 매트릭스(metrics), 베이스 다양성(base diversity) 또는 양성 대조군(positive control)을 제공합니다. PhiX spike-in의 %는 베이스 다양성이 낮은 라이브러리에서 높아질 수 있습니다.

라이브러리를 수동으로 변성 및 희석하는 방법은 *NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide*(문서 번호: 1000000139235)를 참조하시기 바랍니다. 이 단계는 오직 온보드 변성 및 희석에만 적용됩니다.

### 라이브러리를 2 nM의 농도로 희석하기

1. [선택 사항] -25~-15°C에서 보관 중이던 10 nM PhiX stock을 꺼냅니다.  
PhiX는 spike-in(선택 사항) 또는 PhiX 단독 런을 수행할 때만 필요합니다.
2. [선택 사항] PhiX를 실온에서 5분 동안 해동한 후 PhiX의 농도를 확인하기 위해 Qubit 등의 형광 기반 방법을 사용해 정량화합니다.  
정량화가 불가능한 경우 10 nM의 농도로 진행합니다.
3. 라이브러리 또는 PhiX를 짧게 교반한 후 1분 동안 280 × g로 원심분리합니다.
4. RSB with Tween 20을 희석액으로 사용해 최소 24 µl의 2 nM 라이브러리를 마이크로튜브(low-bind)에 넣어 준비합니다. PhiX spike-in 관련 지침은 [40페이지의 PhiX Control\(선택 사항\) 추가하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
5. 짧게 교반 후 1분 동안 280 × g로 원심분리합니다.

### 2 nM 라이브러리를 로딩 농도로 희석하기

1. 적절한 로딩 농도로 희석된 24 µl 라이브러리를 준비하기 위해 마이크로튜브(low-bind)에 다음을 넣어 혼합합니다.

라이브러리 종류*	로딩 농도(pM)	2 nM 라이브러리 볼륨(µl)	RSB with Tween 볼륨(µl)
Ampliseq for Illumina Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000	12	12

<sup>1</sup>PhiX: 균형 잡힌 뉴클레오티드 표현을 제공하는 바로 사용이 가능한 Illumina의 소형 라이브러리

라이브러리 종류*	로딩 농도(pM)	2 nM 라이브러리 볼륨(µl)	RSB with Tween 볼륨(µl)
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15
Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-Free	1000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1200	14.4	9.6
TruSeq DNA Nano 550	1500	18	6
TruSeq Stranded mRNA	1000	12	12
100% PhiX	650	7.8	16.2

\* 목록에 포함되지 않은 라이브러리의 경우 650 pM의 로딩 농도로 시작한 뒤 몇 회의 런을 통해 최적화 필요.

표의 로딩 농도는 예시로 제공된 것입니다. NextSeq 1000/2000은 모든 Illumina Library Prep Kit와 호환 가능합니다. 단, 최적 로딩 농도는 상이할 수 있습니다.

2. 짧은 교반 후 1분 동안 280 × g로 원심분리합니다.
3. 시퀀싱 준비가 완료될 때까지 희석한 라이브러리를 얼음 위에 올려 둡니다. 로딩 농도로 희석한 라이브러리는 희석 당일 시퀀싱합니다.
4. 다음 절차에 따라 진행합니다.
  - PhiX를 추가하는 경우 40페이지의 *PhiX Control(선택 사항) 추가하기* 섹션을 참조하시기 바랍니다.
  - PhiX를 추가하지 않거나 PhiX 단독 런을 수행하지 않는 경우 41페이지의 *카트리지에 소모품 로딩하기* 섹션을 참조하시기 바랍니다.

### PhiX Control(선택 사항) 추가하기

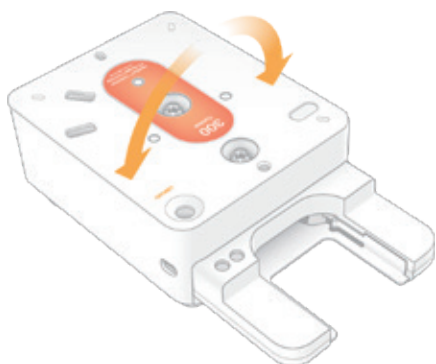
1. 20 µl의 1 nM PhiX를 준비하기 위해 마이크로튜브(low-bind)에 다음을 넣어 혼합합니다.
  - 10 nM PhiX(2 µl)
  - RSB with Tween 20(18 µl)
2. 짧은 교반 후 1분 동안 280 × g로 원심분리합니다.
3. 최종 로딩 농도로 희석된 24 µl의 라이브러리에 1 µl의 1 nM PhiX를 추가합니다. 해당 볼륨으로는 약 2%의 PhiX spike-in을 만들 수 있습니다. 실제 %는 라이브러리의 품질과 양에 따라 다를 수 있습니다.
4. 시퀀싱 준비가 완료될 때까지 PhiX spike-in을 추가한 라이브러리를 얼음 위에 올려 둡니다. PhiX spike-in을 추가한 라이브러리는 희석 당일 시퀀싱합니다.

## 카트리지에 소모품 로딩하기

이 단계에서는 미리 충전된 시약을 혼합하고 희석된 라이브러리와 플로우 셀을 로딩하여 다음 시퀀싱 단계에 사용할 카트리지를 준비합니다.

### 카트리지 준비하기

1. 카트리지 패키지 측면 상단의 절취홈을 따라 찢거나 가위로 잘라 개봉합니다.
2. 패키지에서 카트리지를 꺼냅니다. 패키지와 제습제는 폐기합니다.
3. 카트리지를 10회 앞뒤로 뒤집어 시약을 잘 혼합합니다.  
이때 내용물이 달그락거리는 소리가 날 수 있는데 이는 자연스러운 현상입니다.



### 플로우 셀 로딩하기

1. 알루미늄 포일 패키지 측면 상단의 절취부를 따라 찢거나 가위로 잘라 개봉합니다.  
플로우 셀을 곧바로 사용할 수 없는 경우 [82페이지의 소모품 재보관하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
2. 플로우 셀을 알루미늄 포일 패키지에서 당겨 빼냅니다.  
플로우 셀을 재보관해야 할 경우를 대비해 알루미늄 포일 패키지와 제습제는 따로 보관해 둡니다. 제습제는 알루미늄 포일 패키지 하단에 위치한 파우치에 들어 있습니다. 시퀀싱이 시작되면 알루미늄 포일 패키지와 제습제는 폐기합니다.



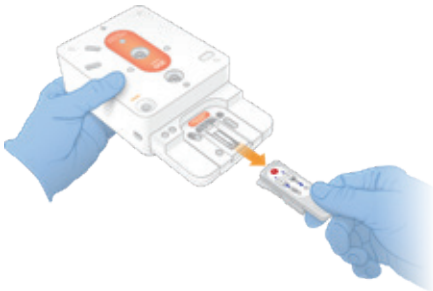
3. 플로우 셀의 희색 탭을 잡습니다. 이때 탭의 라벨이 위를 향하게 합니다.



4. 플로우 셀을 카트리지 정면에 위치한 슬롯에 밀어 넣습니다.  
"딸깍" 소리가 나면 플로우 셀이 제대로 결합된 것입니다. 로딩이 성공적일 경우 회색 탭이 카트리지 밖으로 길게 빠져나옵니다.



5. 회색 탭을 잡아당겨 제거하면 플로우 셀이 노출됩니다. 탭은 재사용됩니다.



### 라이브러리 분주하기

1. 새 P1000 피펫 팁으로 라이브러리 저장소에 구멍을 뚫고 알루미늄 포일을 가장자리까지 밀어 구멍을 넓힙니다.
2. 오염 방지를 위해 피펫 팁은 폐기합니다.

3. 20 µl의 희석된 라이브러리가 담긴 피펫 팁을 저장소에 천천히 밀어 넣어 피펫 팁이 저장소의 *바닥*에 가까워지면 라이브러리를 분주합니다. 이때 피펫 팁이 포일에 닿지 않도록 주의합니다.



## 시퀀싱 런 시작하기

이 단계에서는 네 가지 모드 중 하나를 선택해 시퀀싱 런을 시작하게 됩니다.

- Cloud Mode – NextSeq 1000/2000 Control Software의 계획된 런 목록에서 런을 선택합니다. 시퀀싱이 진행되는 동안 cBCL 데이터는 BaseSpace Sequence Hub로 업로드됩니다. 시퀀싱이 완료되면 BaseSpace Sequence Hub에서 DRAGEN이 자동 실행됨.
- Hybrid Mode – NextSeq 1000/2000 Control Software의 계획된 런 목록에서 런 선택. 시퀀싱이 완료되면 기기에서 분석이 자동으로 시작되며, cBCL 데이터와 DRAGEN 2차 분석 결과 파일은 선택한 결과 폴더에 저장됨.
- Local Mode – NextSeq 1000/2000 Control Software에서 v2 파일 형식의 샘플 시트를 수동으로 불러옴. 시퀀싱이 완료되면 기기에서 분석이 자동으로 시작되며, cBCL 데이터와 DRAGEN 2차 분석 결과 파일은 선택한 결과 폴더에 저장됨. Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 시퀀싱 완료 후 BaseSpace Sequence Hub 앱을 통해 분석이 시작될 수도 있음.
- Standalone Mode – cBCL 데이터를 생성하기 위해 NextSeq 1000/2000 Control Software의 지침에 따라 런 설정.

⚠ | 사전 런 검사나 런 수행 도중 바이저를 여는 행위는 런 실패를 초래할 수 있습니다.

⚠ | 부상 방지를 위해 바이저가 열리거나 닫히는 중에는 기기 근처에 손을 대지 않습니다.

## Cloud/Hybrid Mode로 런 시작하기

1. [18페이지의 런 모드 설정하기](#) 섹션을 참고해 런 모드를 설정합니다.
  2. Start를 선택합니다.
  3. BaseSpace Sequence Hub 로그인 정보를 입력한 후 Sign In을 선택합니다.
  4. Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 미리 BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup에서 생성했던 런이 들어있는 Workgroup을 선택합니다.
-  Workgroup은 오류를 방지하기 위해 선택하는 것입니다. 따라서 다음 단계를 진행하기 전 반드시 Workgroup을 선택하도록 합니다.
5. Next를 선택합니다.
  6. 런을 선택합니다.
  7. Analysis, Run Length 및 Secondary Analysis 버전 정보가 선택한 런의 정보와 일치하는지 확인합니다. BaseSpace Sequence Hub에서 분석이 수행된다는 것을 나타내기 위해 Analysis에 Cloud\_가 표시됩니다.
  8. Review를 선택합니다.
  9. [선택 사항] 커스텀 리드 프라이머(Read Primer)와 커스텀 인덱스 프라이머(Index Primer)의 위치를 입력합니다. 자세한 커스텀 프라이머 준비 및 추가 방법은 *NextSeq 1000 and 2000 Custom Primers Guide*(문서 번호: 1000000139569)를 참조하시기 바랍니다. Compatible Products 페이지에서 사용 중인 Library Prep Kit에 Illumina 커스텀 프라이머가 필요한지 확인하시기 바랍니다.
  10. [선택 사항] 맞춤형 레시피를 선택합니다. 자세한 내용은 [99페이지의 다크 사이클 시퀀싱](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.  
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전과 Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus Kit 또는 Illumina Stranded mRNA Prep Kit를 사용하는 경우 맞춤형 레시피가 자동으로 선택됩니다.
  11. [선택 사항] 라이브러리를 수동으로 변성하고 희석하려면 Denature and Dilute On Board 체크 박스를 선택 해제합니다. 자세한 내용은 *NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide*(문서 번호: 1000000139235)를 참조하시기 바랍니다.  
기본 선택값은 NextSeq 1000/2000 Control Software settings에 설정되어 있습니다.
  12. [선택 사항] 결과 폴더를 변경하려면 Output Folder 필드를 선택한 후 새 폴더 위치를 입력합니다.  
Output Folder 필드는 사용자의 기본 설정값을 바탕으로 자동 입력되며 Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우를 제외하고는 반드시 입력해야 합니다.  
Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 Save to BaseSpace Sequence Hub가 Enabled로 표시됩니다.  
Proactive and Run Monitoring을 선택한 경우 Save to BaseSpace Sequence Hub가 Disabled로 표시됩니다.
  13. 런 정보를 검토한 후 Prep을 선택합니다.

## Local Mode로 런 시작하기

1. [18페이지의 런 모드 설정하기](#) 섹션을 참고해 런 모드를 설정합니다.
2. Start를 선택합니다.
3. Proactive, Run Monitoring and Storage 또는 Proactive and Run Monitoring을 선택한 경우 BaseSpace Sequence Hub 로그인 정보를 입력한 후 Sign In을 선택합니다.

4. Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 런을 저장할 BaseSpace Sequence Hub Workgroup을 선택한 후 Next를 선택합니다.

**!** Workgroup은 오류를 방지하기 위해 선택하는 것입니다. 따라서 다음 단계를 진행하기 전 반드시 Workgroup을 선택하도록 합니다.

5. Start With Sample Sheet 아래에서 Choose...를 선택하고 NextSeq 1000/2000, 휴대용 드라이브 또는 마운트된 네트워크 드라이브에서 v2 형식의 샘플 시트를 검색해 선택합니다. 샘플 시트의 파일 이름은 특수 문자를 포함할 수 없습니다.

NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전은 샘플 시트에서 자동으로 DRAGEN 버전을 인식하며, 필요한 경우 버전을 전환하라는 메시지를 표시합니다. 반드시 시스템에 DRAGEN 버전이 설치되어 있어야 합니다. 자세한 설치에 관한 정보는 [75페이지의 소프트웨어 업데이트](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

- Instrument Run Setup Used – Sample Sheet v2와 지원 파일(해당하는 경우)이 들어있는 .zip 폴더를 선택합니다. 또는 Sample Sheet v2를 선택합니다.
- Instrument Run Setup Not Used – 2차 분석 지원 파일과 Sample Sheet v2가 동일한 디렉토리에 있어야 합니다.

**i** 선택한 샘플 시트는 v2 형식의 파일이어야 합니다. Sample Sheet v2는 BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup에서 기존의 샘플 시트를 다운로드하거나 NextSeq 1000/2000 Support 페이지에서 제공하는 Sample Sheet v2 Template을 편집해 생성할 수 있습니다. Sample Sheet v2의 형식 및 요구 사항에 관한 자세한 정보는 [86페이지의 Sample Sheet v2 설정](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다. 샘플 시트에 참조된 모든 파일이 샘플 시트와 같은 폴더에 들어 있는지 확인합니다.

6. Review를 선택합니다.

7. [선택 사항] 커스텀 리드 프라이머와 커스텀 인덱스 프라이머의 위치를 입력합니다.

자세한 커스텀 프라이머 준비 및 추가 방법은 *NextSeq 1000 and 2000 Custom Primers Guide*(문서 번호: 1000000139569)를 참조하시기 바랍니다. Compatible Products 페이지에서 사용 중인 Library Prep Kit에 Illumina 커스텀 프라이머가 필요한지 확인하시기 바랍니다.

8. [선택 사항] 맞춤형 레시피를 선택합니다. 자세한 내용은 [99페이지의 다크 사이클 시퀀싱](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전과 Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus Kit 또는 Illumina Stranded mRNA Prep Kit를 사용하는 경우 맞춤형 레시피가 자동으로 선택됩니다.

9. [선택 사항] 라이브러리를 수동으로 변성하고 희석하려면 Denature and Dilute On Board 체크 박스를 선택 해제합니다. 자세한 내용은 *NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide*(문서 번호: 1000000139235)를 참조하시기 바랍니다.

기본 선택값은 NextSeq 1000/2000 Control Software settings에 설정되어 있습니다.

10. [선택 사항] 결과 폴더를 변경하려면 Output Folder 필드를 선택한 후 새 폴더 위치를 입력합니다. Output Folder 필드는 사용자의 기본 설정값을 바탕으로 자동 입력되며 Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우를 제외하고는 반드시 입력해야 합니다.

Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 Save to BaseSpace Sequence Hub가 Enabled로 표시됩니다.

Proactive and Run Monitoring을 선택한 경우 Save to BaseSpace Sequence Hub가 Disabled로 표시됩니다.

11. 런 정보를 검토한 후 Prep을 선택합니다.

## Standalone Mode로 런 시작하기

1. [18페이지의 런 모드 설정하기](#) 섹션을 참고해 런 모드를 설정합니다.
  2. Start를 선택합니다.
  3. Proactive, Run Monitoring and Storage 또는 Proactive and Run Monitoring을 선택한 경우 BaseSpace Sequence Hub 로그인 정보를 입력한 후 Sign In을 선택합니다.
  4. Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 런을 저장할 BaseSpace Sequence Hub Workgroup을 선택한 후 Next를 선택합니다.
  5. Set Up New Run을 선택합니다.
  6. 해당 런을 다른 런과 구별하기 위해 원하는 이름을 Run Name 필드에 입력합니다.  
Run Name 필드에는 영문자, 숫자, 대시(-), 하이픈(-), 밑줄(\_)을 입력할 수 있습니다.
  7. Read Type 필드에는 수행할 시퀀싱 리드 수를 선택합니다.
    - Single Read – 한 개의 리드를 수행하는 비교적 빠르고 간단한 옵션.
    - Paired End – 두 개의 리드를 수행하여 공통(consensus) 리드로 더 높은 품질의 데이터를 생성하고 더 정확한 정렬(alignment)을 지원하는 옵션.
  8. 리드당 사이클 횟수를 입력합니다.  
인덱스 사이클 횟수의 제한은 없지만, 리드 사이클과 인덱스 사이클 횟수의 총합은 카트리지 라벨에 표시된 사이클 횟수에 27을 더한 수를 초과하면 안 됩니다.
    - Read 1 – 1~151회의 사이클 입력 가능.
    - Index 1 – Index 1(i7) 프라이머의 사이클 횟수 입력. PhiX 단독 런에서는 Index 1 및 Index 2 필드에 0 입력.
    - Index 2 – Index 2(i5) 프라이머의 사이클 횟수 입력.
    - Read 2 – 최대 151회의 사이클 입력 가능. 보통 Read 1 입력값과 동일.
  9. Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우 Choose...를 선택해 샘플 시트를 불러옵니다.  
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전은 샘플 시트에서 자동으로 DRAGEN 버전을 인식하며, 필요한 경우 버전을 전환하라는 메시지를 표시합니다. 반드시 시스템에 DRAGEN 버전이 설치되어 있어야 합니다.  
자세한 설치에 관한 정보는 [75페이지의 소프트웨어 업데이트](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
- i** | 선택한 샘플 시트는 v2 형식의 파일이어야 합니다. Sample Sheet v2는 BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup에서 기존의 샘플 시트를 다운로드하거나 NextSeq 1000/2000 Support 페이지에서 제공하는 Sample Sheet v2 Template을 편집해 생성할 수 있습니다. Sample Sheet v2의 형식 및 요구 사항에 관한 자세한 정보는 [86페이지의 Sample Sheet v2 설정](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다. 샘플 시트에 참조된 모든 파일이 샘플 시트와 같은 폴더에 들어 있는지 확인합니다.
10. [선택 사항] 커스텀 리드 프라이머와 커스텀 인덱스 프라이머의 위치를 입력합니다.

자세한 커스텀 프라이머 준비 및 추가 방법은 *NextSeq 1000 and 2000 Custom Primers Guide*(문서 번호: 1000000139569)를 참조하시기 바랍니다. Compatible Products 페이지에서 사용 중인 Library Prep Kit에 Illumina 커스텀 프라이머가 필요한지 확인하시기 바랍니다.

11. [선택 사항] 맞춤형 레시피를 선택합니다. 자세한 내용은 99페이지의 **다크 사이클 시퀀싱** 섹션을 참조하시기 바랍니다.
12. [선택 사항] 라이브러리를 수동으로 변성하고 희석하려면 Denature and Dilute On Board 체크 박스를 선택 해제합니다. 자세한 내용은 *NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide*(문서 번호: 1000000139235)를 참조하시기 바랍니다.  
기본 선택값은 NextSeq 1000/2000 Control Software settings에 설정되어 있습니다.
13. [선택 사항] 결과 폴더를 변경하려면 Output Folder 필드를 선택한 후 새 폴더 위치를 입력합니다. Output Folder 필드는 사용자의 기본 설정값을 바탕으로 자동 입력되며 Proactive, Run Monitoring and Storage를 선택한 경우를 제외하고는 반드시 입력해야 합니다.
14. Prep을 선택합니다.

### 기기에 소모품 로딩하기


1. 플로우 셀(회색 탭 제거된 상태)과 희석된 라이브러리를 로딩하기에 앞서, 카트리지를 올바르게 해동 후 10회 앞뒤로 뒤집어 잘 혼합되었는지 확인합니다.
2. Load를 선택합니다.  
NextSeq 1000/2000 Control Software를 통해 바이저가 열리고 트레이가 나옵니다.
3. 카트리지의 라벨이 위를 향하고 플로우 셀은 기기 안에 위치하도록 카트리지를 트레이 위에 올려 놓습니다.  
카트리지가 제대로 걸착되도록 밀어 넣습니다.



4. Close를 선택하면 카트리지가 들어가고 바이저가 닫힙니다.  
약 3분 후 NextSeq 1000/2000 Control Software가 스캔을 끝낸 소모품에 관한 정보를 표시합니다.
5. [선택 사항] 카트리지를 제거하려면 Eject Cartridge를 선택합니다.  
1분 후 바이저가 열리고 카트리지가 나옵니다.
6. Sequence를 선택합니다.

## 사전 런 검사

사전 런 검사(pre-run check)에는 기기 및 유체 검사가 포함됩니다. 유체 검사 시 카트리지의 밀봉 부분에 구멍을 내기 때문에 기기에서 3~4번 정도 툭툭 소리가 납니다. 이는 자연스러운 현상입니다. 이후 시약이 플로우 셀을 통과합니다.

 유체 점검이 시작되고 나면 소모품을 재사용할 수 없습니다.

1. 사전 런 검사가 완료될 때까지 약 15분간 기다립니다.  
검사가 성공적으로 완료되면 런이 자동으로 시작됩니다.
2. 기기 검사 중 오류가 발생하면 Retry를 선택해 재검사를 실시합니다.  
검사 진행 중에는 원형 진행률 표시줄이 나타납니다.
3. 반복적인 오류를 해결하는 방법은 [81페이지의 오류 메시지 해결 방법](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

## 런 진행 상황 모니터링하기

1. Sequencing 화면에 표시되는 런 진행 상황과 메트릭스를 모니터링합니다.
  - Estimated run completion – 런 완료 예상 일시를 나타내며, Estimated run completion 메트릭이 런 완료 시간을 정확하게 계산하려면 10회의 런을 수행한 정보 필요.
  - Average %Q30 – Q-score  $\geq 30$ 인 베이스 콜의 평균 백분율.
  - Projected Yield – 해당 런의 예상 베이스 콜 수.
  - Total Reads PF – 필터를 통과하는 페어드 엔드(해당하는 경우) 클러스터의 수(단위: M(백만)).
  - Real Time Demux – Read 1, Index 1 및 Index 2 사이클 이후 Read 2 시작 시점에서의 디멀티플렉싱 진행 상황. 인덱스 사이클이 수행되지 않아도 Status로 Complete가 표시됨. Cloud Mode로 런 수행 시 표시되지 않음.
  - Real Time Alignment – Read 1, Index 1 및 Index 2 사이클 완료 후 Read 2 시작 시점에서의 Read 1 정렬 상황. Cloud Mode로 런 수행 시 표시되지 않음.

Q30과 Yield 메트릭스는 26번째 사이클 후(즉, 런 시작 후 약 6시간 뒤)에 표시됩니다.
2. 런 프로세스를 모니터링하려면 Control Software 메뉴를 선택한 후 Process Management를 선택합니다.
3. 런을 취소하려면 End Run을 선택합니다. 자세한 런 취소 방법은 [82페이지의 런 취소하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
4. 기기에서 소모품을 언로딩합니다. 카트리지는 3일 내에 기기에서 제거하도록 합니다.

## 소모품 언로딩하기

1. 시퀀싱이 완료되면 Eject Cartridge를 선택합니다.  
소프트웨어가 사용된 카트리지를 기기 밖으로 밀어냅니다.
2. 트레이에서 카트리지를 제거합니다.
3. 카트리지에서 플로우 셀을 꺼냅니다.
4. 플로우 셀에는 전자 부품이 들어있으므로 해당 지역의 규정에 따라 폐기합니다.

5. [선택 사항] 안전한 장소(즉, 개수대나 유해 액체 폐기물 수거통)에서 카트리지 측면 Illumina 로고 밑에 위치한 배출 플러그를 잡고 얼굴을 반대 방향으로 돌린 채 아래 또는 수평 방향으로 당겨 제거합니다. 해당 지역의 규정에 따라 사용한 시약을 배출합니다. 자동 시약 제거 기능을 사용하지 않는 경우 배출 시간은 카트리지 크기에 따라 달라집니다.

**!** 해당 시약 세트는 잠재적 유해 화학물질을 함유하고 있으므로 흡입, 섭취, 피부 접촉, 눈 접촉 시 부상을 초래할 수 있습니다. 노출 위험이 있으므로 보안경, 장갑, 실험복 등 적합한 보호 장비를 착용하도록 합니다. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 국가 및 해당 지역 법률 및 규정에 따라 폐기합니다. 그 밖의 환경, 건강, 안전 관련 정보는 [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)의 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하시기 바랍니다.

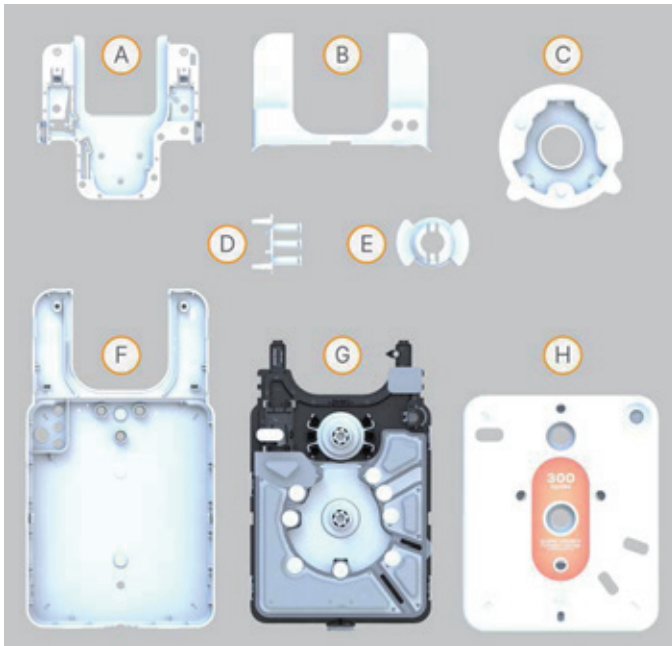
6. 카트리지 쉘(shell)은 재활용하고 시약 카트리지는 폐기합니다. 자세한 내용은 [49페이지의 카트리지 부품 재활용하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
7. 시약 카트리지를 폐기합니다.  
유체는 카트리지와 함께 폐기되므로 포스트런 워시(post-run wash)는 필요 없습니다.
8. Close Door를 선택하여 트레이를 다시 로딩하고 Home 화면으로 돌아갑니다.  
소프트웨어가 자동으로 트레이를 다시 로딩하고 센서는 카트리지 제거를 확인합니다.

### 카트리지 부품 재활용하기

카트리지의 플라스틱 부품은 지역 고체 폐기물 재활용 가이드라인에 따라 재활용이 가능할 수 있습니다. 자세한 정보는 해당 지역의 고체 폐기물 재활용 업체나 지방자치단체의 재활용 지침을 통해 확인하시기 바랍니다.

다음 절차에 따라 카트리지 쉘을 재활용합니다. 카트리지는 다음과 같은 부품으로 구성됩니다. 이 중 시약 웰 플레이트와 플로우 셀은 재활용이 불가능합니다.





- A. 플로우 셀 트레이(Flow cell tray)
- B. 플로우 셀 셸(Flow cell shell)
- C. 피어셔(Piercer)
- D. 밸브 조립부(Valve assembly)
- E. 로터 밸브 커버(Rotor valve cover)
- F. 하부 셸(Bottom shell)
- G. 시약 웰 플레이트(Reagent well plate)
- H. 상부 셸(Top shell)

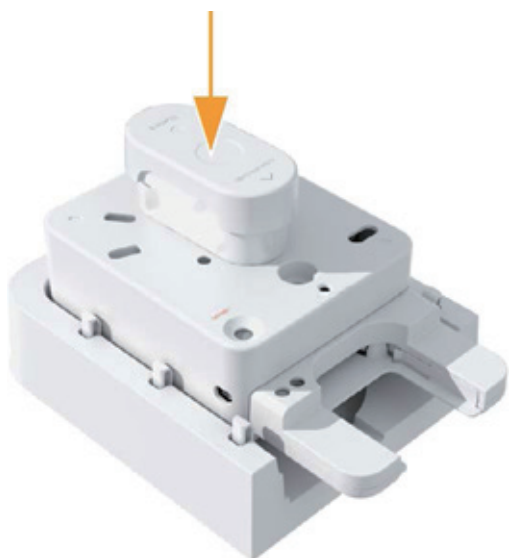
1. 먼저 카트리지가 비어 있는지 확인합니다.
2. 고정 장치에서 홀 펀칭기를 분리합니다.
3. 고정 장치의 넓은 가장자리를 작업대와 평행하게 위치시킵니다.
4. 카트리지를 고정 장치에 달린 바 위에 올려 놓습니다. 이때 힘을 주어 카트리지를 누를 필요는 없습니다.



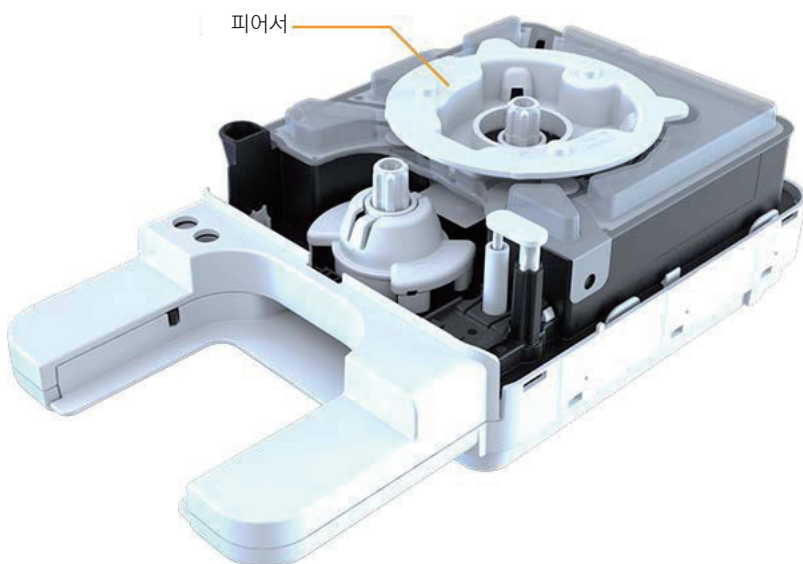
5. 카트리지가 뒤쪽 두 개의 바와 정렬되게 배치합니다.
6. 홀 펀칭기가 카트리지의 라벨과 정렬되게 배치합니다.



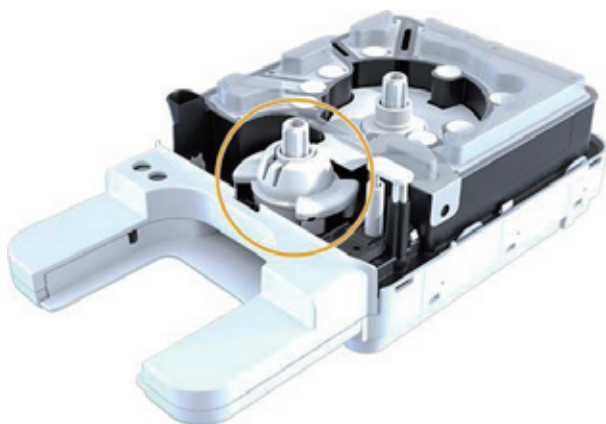
7. 홀 펀칭기를 강한 힘을 주어 재빠르게 눌러 카트리지의 셸을 분리합니다.  
충분한 힘이 가해지지 않으면 카트리지가 완전히 분리되지 않을 수도 있습니다. 카트리지가 부분적으로만 분리되는 경우, 카트리지를 고정 장치에서 빼고 카트리지의 셸을 담은 후 다시 힘을 주어 홀 펀칭기로 눌러 줍니다.



8. 피어서를 카트리지에서 제거합니다.

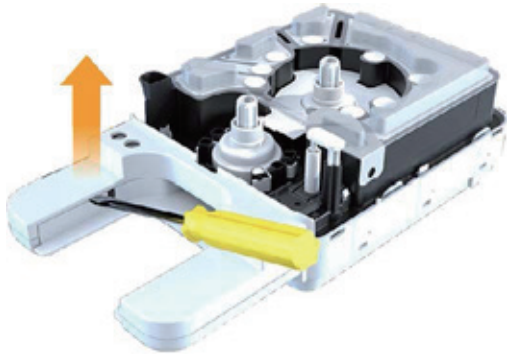


9. 앞쪽에 위치한 로터 밸브 조립부의 커버를 제거합니다.



10. 다음 중 하나의 방법을 사용하여 플로우 셀 셀을 분리합니다.

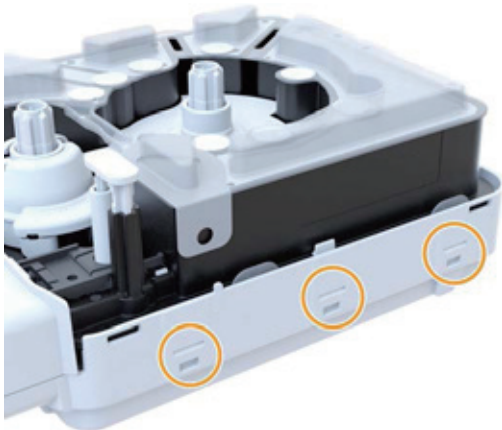
- 플로우 셀 셀과 하단 조립부 사이에 일자 드라이버를 삽입한 후 플로우 셀 셀을 들어올립니다.



- 플로우 셀 셀을 당겨 하단 조립부로부터 분리합니다.



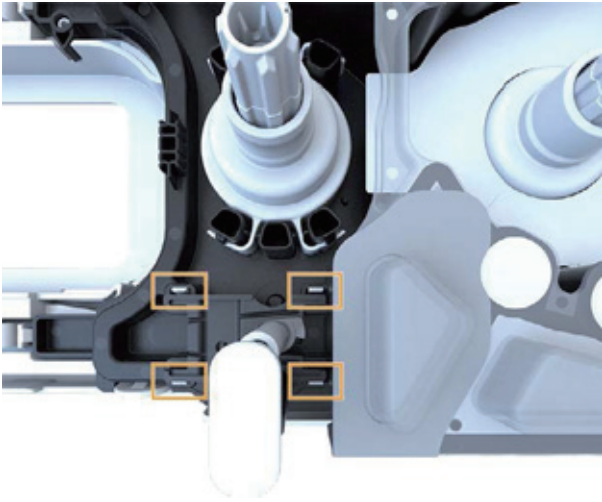
11. 하단 조립부의 한쪽 측면에 달린 래치 중 한 개를 열고 시약 웰 플레이트를 하단 조립부로부터 분리합니다.



12. 플로우 셀 트레이에 달린 두 개의 래치를 모두 열고 플로우 셀 트레이를 분리합니다.

13. 플로우 셀 셀에서 금속 스프링을 제거합니다.

14. 밸브 조립부에 달린 네 개의 래치를 시약 웰 플레이트 가장자리의 반대 방향으로 눌러 분리합니다.



15. 밸브 조립부의 밑면을 당겨 밸브 조립부를 분리합니다.
16. 시약 웰 플레이트는 사용하지 않은 시약을 포함할 수 있으므로 해당 지역의 규정에 따라 폐기합니다.

### 카트리지 트레이 청소하기

카트리지 트레이 청소는 시약이 카트리지 트레이로 흘러 들어온 경우에만 실시합니다.

1. 카트리지를 기기에서 꺼냅니다.
2. 새 장갑(powder-free)을 양손에 끼고 기타 보호 장비를 착용합니다.
3. 10% 표백제를 천에 분무합니다.
4. 천으로 카트리지 트레이를 닦은 후 곧바로 산업용 티슈로 표백제를 제거합니다.  
표백제를 곧바로 제거하지 않으면 카트리지 트레이에 얼룩이 생길 수 있습니다.
5. 카트리지 트레이에 70% 에탄올 용액을 분무한 후 곧바로 산업용 티슈로 용액을 제거합니다.
6. 카트리지 트레이를 다시 로딩 포지션에 배치합니다.

# 시퀀싱 결과

이 섹션은 베이스 콜링의 수행, 품질 점수 배정, 데이터 출력을 담당하는 Real-Time Analysis 소프트웨어에 대해 설명합니다. 다양한 종류의 결과 파일(Output File)과 런 완료 후 파일이 저장되는 위치에 대해 알아볼 수 있습니다.

## Real-Time Analysis의 개요

NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템은 기기의 Compute Engine(CE)에서 Real-Time Analysis 소프트웨어를 구현한 RTA3를 실행합니다. RTA3는 카메라가 전송한 이미지에서 빛의 강도를 추출하고, 베이스 콜링을 수행하며, 베이스 콜에 Q-score를 배정하고, PhiX에 대한 정렬을 실행하며, Control Software를 통한 데이터 검토를 위해 InterOp 파일 형식으로 데이터를 보고합니다.

RTA3는 처리 시간을 최적화하기 위해 메모리에 정보를 저장합니다. RTA3 종료 시 처리 작업은 재개되지 않으며 메모리에서 처리 중이던 런 데이터는 모두 손실됩니다.

### RTA3 입력 데이터

RTA3의 처리 작업에는 로컬 시스템 메모리에 있는 타일 이미지가 필요합니다. RTA3는 Control Software로부터 런 정보와 명령을 전달받습니다.

### RTA3 출력 데이터

각 색상 채널의 이미지는 타일 형식으로 메모리에서 RTA3로 전달됩니다. RTA3는 이러한 이미지를 바탕으로 Q-Score가 배정된 베이스 콜 파일과 필터 파일을 출력합니다. RTA3 출력 데이터 외의 다른 출력 데이터도 출력 파일을 지원합니다.

파일 종류	설명
베이스 콜 파일	각 분석 타일은 결합된 베이스 콜(*.cbcl) 파일에 포함되며 레인(lane)과 표면이 동일한 타일(tile)은 레인 및 표면별로 1개의 *.cbcl 파일로 취합.
필터 파일	파일마다 클러스터의 필터 통과 여부를 명시하는 필터(*.filter) 파일 생성.
클러스터 위치 파일	클러스터 위치(*.locs) 파일은 1개의 타일 내 모든 클러스터의 X 및 Y 좌표 포함. 런당 1개의 클러스터 위치 파일 생성.

해당 파일은 DRAGEN과 BaseSpace Sequence Hub의 후속 분석에 사용됩니다.

## 오류 처리

RTA3는 로그 파일을 생성하여 이를 Logs 폴더에 저장합니다. 오류는 텍스트 파일 형식(\*.log)으로 기록됩니다. 처리 완료 시 다음과 같은 로그 파일이 최종 출력 위치로 전송됩니다.

info\_00000.log 파일은 중요한 런 이벤트를 요약합니다.

error\_00000.log 파일은 런 수행 중 발생한 오류의 목록을 보여줍니다.

warning\_00000.log 파일은 런 수행 중 발생한 경고의 목록을 보여줍니다.

## 플로우 셀 타일

타일(Tile)이란 플로우 셀에 있는 작은 이미징 영역을 의미합니다. 카메라는 타일당 한 장의 이미지를 획득합니다.

NextSeq 1000/2000 P1 Flow Cell에는 총 32개의 타일이 들어 있습니다. NextSeq 1000/2000 P2 Flow Cell에는 총 132개의 타일이 들어 있습니다. NextSeq 2000 P3 Flow Cell에는 총 264개의 타일이 들어 있습니다.

표 5 플로우 셀 타일

플로우 셀 구성 요소	NextSeq 1000/2000 P1 Flow Cell	NextSeq 1000/2000 P2 Flow Cell	NextSeq 2000 P3 Flow Cell	설명
레인	1	1	2	시각적으로는 뚜렷이 구별되나, 유체적으로는 분리되지 않음.
표면	2	2	2	P1, P2 및 P3 Flow Cell의 이미지는 상단 표면과 하단 표면에서 획득되며, 타일 상단 표면의 이미지가 먼저 획득됨.
레인당 스와스 (Swath)	4	6	6	스와스는 플로우 셀 레인에 있는 컬럼을 의미함.
스와스당 타일	4	11	11	타일은 스와스의 일부분으로, 플로우 셀의 이미징 영역을 묘사함.
총 생성 타일	32	132	264	레인 × 표면 × 스와스 × 스와스당 타일 개수 = 총 타일 개수.

## 타일 이름

타일 이름은 플로우 셀 상의 타일 포지션을 나타내는 4자리 숫자입니다. 예를 들어 1205라는 타일 이름은 상단 표면, 2번 스와스, 05번 타일을 의미합니다.

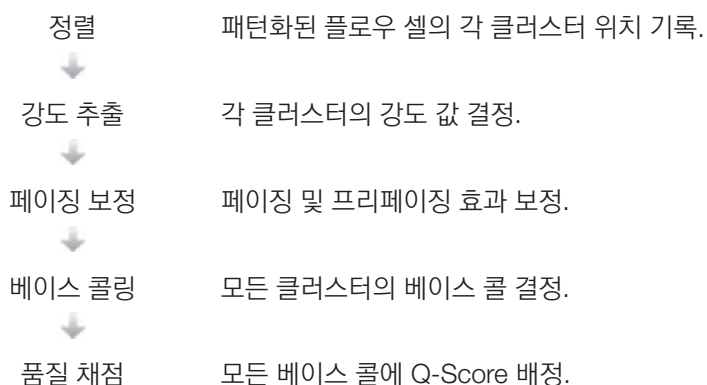
첫 번째 자리는 표면으로, 1은 상단 표면을, 2는 하단 표면을 나타냅니다.

두 번째 자리는 스와스 번호(1, 2, 3, 4, 5 또는 6)를 나타냅니다.

마지막 두 자리는 타일 번호를 나타냅니다. 1~4번 스와스의 경우 플로우 셀의 배출단에 01번을 부여하고 유입단에 11번을 부여합니다. 5~6번 스와스의 경우 플로우 셀의 유입단에 01번을 부여하고 배출단에 11번을 부여합니다.



## Real-Time Analysis의 워크플로우



### 정렬

정렬 단계에서는 이미지가 패턴화된 플로우 셀의 회전된 정사각형 나노웰 어레이에 정렬됩니다. 나노웰은 순서대로 배치되어 있기 때문에 1개의 타일 내 클러스터마다 X 및 Y 좌표가 미리 지정됩니다. 클러스터 포지션은 각 런의 클러스터 위치(s.locs) 파일에 쓰여집니다.

특정 사이클에서 이미지 정렬 실패가 발생하는 경우 해당 사이클에서는 관련 타일에 대한 베이스 콜이 생성되지 않습니다. Sequencing Analysis Viewer를 사용하면 정렬에 실패한 이미지를 확인하실 수 있습니다.

### 강도 추출

정렬 완료 후 강도(intensity) 추출 단계를 통해 해당 이미지를 바탕으로 각 나노웰의 강도가 계산됩니다. 정렬에 실패했을 경우 해당 타일의 강도는 추출되지 않습니다.

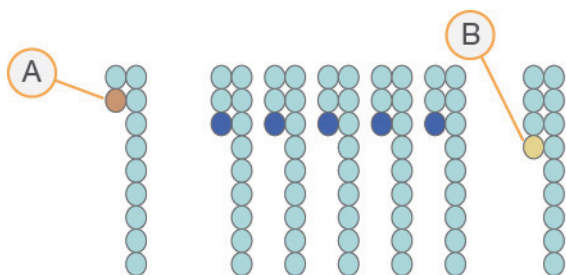
### 페이징 보정

시퀀싱 반응이 일어날 때 하나의 클러스터 내 DNA 가닥은 각각 사이클당 1 베이스만큼 연장됩니다. 페이징과 프리페이징은 현재의 포함(incorporation) 사이클에서 한 가닥이 역위상(out of phase)될 때 발생합니다.

페이징은 베이스가 뒤쳐질 때 발생합니다.

프리페이징은 베이스가 건너될 때 발생합니다.

그림 5 페이징과 프리페이징의 비교



- A. 리드에 베이스 페이징이 발생하는 경우
- B. 리드에 베이스 프리페이징이 발생하는 경우

RTA3는 페이징 및 프리페이징 효과를 보정하여 런 전반에 걸쳐 모든 사이클에서 데이터 품질을 극대화합니다.

### 베이스 콜링

베이스 콜링은 특정 사이클에서 1개의 타일 내 모든 클러스터에 대한 베이스(A, C, G 또는 T)를 결정하는 단계입니다.

NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템은 2채널 시퀀싱 기법을 사용하여 초록색 채널과 파란색 채널을 통해 획득하는 두 장의 이미지만으로 네 개의 DNA 베이스에 대한 데이터를 인코딩할 수 있습니다.

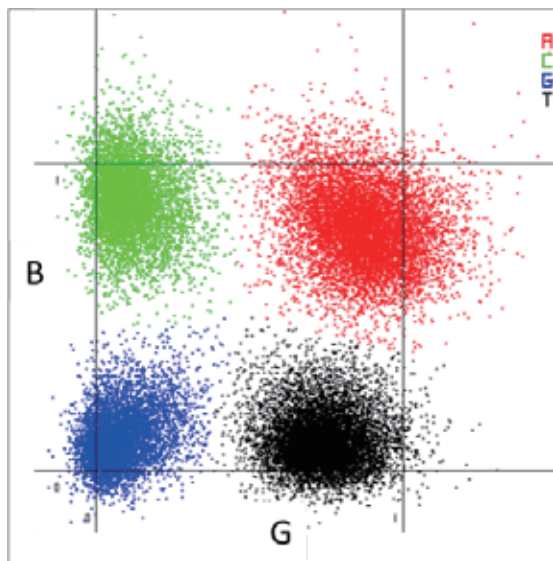
N은 콜이 없음(No call)을 의미합니다. 클러스터가 필터를 통과하지 않거나, 정렬이 실패하거나, 클러스터가 이미지 밖으로 나갈 경우 N이 표시됩니다.

초록색과 파란색 이미지에서 각 클러스터의 강도를 추출하고 비교하여 네 개의 집단(population)을 얻습니다. 각 집단은 1개의 베이스를 나타냅니다. 베이스 콜링 단계에서는 각 클러스터가 어떤 집단에 속하는지가 결정됩니다.

표 6 2채널 시퀀싱의 베이스 콜

베이스	초록색 채널	파란색 채널	결과
A	1(존재)	1(존재)	초록색과 파란색 채널에서 강도를 보이는 클러스터.
C	0(부재)	1(존재)	파란색 채널에서만 강도를 보이는 클러스터.
G	0(부재)	0(부재)	알려진 클러스터 위치에서 강도를 보이지 않는 클러스터.
T	1(존재)	0(부재)	초록색 채널에서만 강도를 보이는 클러스터.

그림 6 클러스터 강도의 시각화



**i** | 각 클러스터의 색상은 Sequence Analysis Viewer(SAV) 및 BaseSpace Sequence Hub에서 제공하는 Data by Cycle의 %Base 플롯을 나타내며, 초록색 및 파란색 채널과는 관련이 없습니다.

### 필터를 통과하는 클러스터

RTA3는 데이터 품질 임계값 미만의 리드를 제거하기 위해 런 수행 중 raw data를 필터링합니다. 이때 중복되는 저품질의 클러스터가 제거됩니다.

2채널 분석 시 RTA3는 집단 기반의 시스템을 사용해 특정 베이스 콜의 Chastity(신호 순도) 값을 파악합니다. 첫 25회의 사이클에서 한 개 이하의 베이스 콜이 고정 임계값 미만의 Chastity 값을 가질 때 클러스터가 필터를 통과(pass filter, PF)합니다. 포함되는 경우, 필터를 통과한 클러스터에 대해 26번째 사이클에서 타일의 부분집합을 대상으로 PhiX 정렬을 수행합니다. 필터를 통과하지 않는 클러스터는 베이스 콜링이나 정렬 단계를 거치지 않습니다.

### Q-Score

Q-Score(Quality Score, 품질 점수)는 부정확한 베이스 콜의 발생 확률을 예측한 값입니다. Q-Score가 높을수록 베이스 콜의 품질과 정확도가 높을 가능성이 큼니다. Q-Score가 결정된 후 채점 결과는 베이스 콜(\*.cbcl) 파일에 기록됩니다.

Q-Score는 사소한 오류가 발생할 확률을 간결하게 표시합니다. Q-Score는 Q(X) 형식으로 표시되며, (X)는 점수를 나타냅니다. 아래 표는 Q-Score와 오류 발생 확률의 상관관계를 보여줍니다.

Q-Score Q(X)	오류 발생 확률
Q40	0.0001(1/10,000)
Q30	0.001(1/1000)
Q20	0.01(1/100)
Q10	0.1(1/10)

### 품질 채점 및 보고

품질 채점 단계에서는 각 베이스 콜에 대한 여러 예측 인자를 계산한 뒤 계산된 값을 이용해 Q-Table(품질 표)에서 Q-Score를 찾습니다. 품질 표는 시퀀싱 플랫폼의 특정 구성 및 chemistry 버전에 따라 생성되는 런의 품질을 정확히 예측하기 위해 생성됩니다.

**i** | 품질 채점은 수정된 Phred 알고리즘 버전을 기반으로 합니다.

NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템의 Q-Table 생성을 위해 특정 예측 특징을 군집화하여 베이스 콜을 세 그룹으로 분류하였습니다. 이후 각 베이스 콜 그룹의 평균 오류율을 실증적으로 계산하고, 관련 Q-Score는 해당 그룹과 연관성이 있는 예측 특성과 함께 Q-Table에 기록하였습니다. 이와 같이 RTA3는 세 개의 Q-Score만을 제공하며 Q-Score는 그룹의 평균 오류율을 나타냅니다(62페이지의 *RTA3로 간소해진 품질 채점 체계* 참조). 이에 따라 품질 채점 체계가 간소화되면서 정확도는 매우 높아졌습니다. Q-Table의 세 그룹은 낮은 품질(< Q15), 보통 품질(~Q20), 높은 품질(> Q30)의 베이스 콜을 나타내며, 각각에 12, 23, 37이 점수로 지정됩니다. 베이스 콜이 없는 경우 무효에 해당하는 2가 점수로 지정됩니다. 이 Q-Score 보고 모델은 정확성이나 성능에는 영향을 주지 않으면서 필요한 저장 용량 및 대역폭은 줄여 줍니다.

그림 7 RTA3로 간소해진 품질 채점 체계



## 시퀀싱 결과 파일

파일 종류	파일 설명, 위치, 이름
결합된 베이스 콜 파일	각각의 분석된 클러스터가 하나로 결합된 베이스 콜 파일에 포함되며, 사이클, 레인 그리고 표면당 하나의 파일로 취합됨 취합된 파일은 모든 클러스터에 대한 결합된 베이스 콜과 인코딩된 품질 점수를 포함함. 결합된 베이스 콜 파일은 BaseSpace Sequence Hub 또는 bcl2fastq2에서 사용됨. Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, 예: L001_1.cbcl
클러스터 위치 파일	플로우 셀별로 바이너리 클러스터 위치 파일에 타일 내 클러스터의 X 및 Y 좌표가 포함됨. 플로우 셀의 나노웰 레이아웃과 일치하는 육각형 레이아웃이 해당 좌표를 사전 정의함. Data/Intensities s_[lane].locs
필터 파일	필터 파일은 클러스터의 필터 통과 여부를 명시하며, 25번 사이클의 데이터를 이용해 26번째 사이클에 생성됨. 타일별로 한 개의 필터 파일이 생성됨. Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter

파일 종류	파일 설명, 위치, 이름
InterOp 파일	바이너리 보고 파일은 Instrument Control Software를 사용해 기기에서 바로 검토하거나, SAV 또는 BaseSpace Hub를 사용해 다른 장치에서 검토 가능. InterOp 파일은 런 진행 중 지속적으로 업데이트됨. InterOp 폴더
런 정보 파일	런 이름, 리드당 사이클 횟수, 리드의 Index Read 여부, 플로우 셀의 스와스 및 타일 개수에 대한 정보를 포함함. 런 정보 파일은 런 시작 시점에 생성됨. [Root folder], RunInfo.xml

## DRAGEN 2차 분석 결과 파일

DRAGEN Bio-IT Platform은 다음 중 하나의 분석 파이프라인을 사용해 시퀀싱 결과를 기기에서 바로 분석합니다.

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

이 섹션은 각 DRAGEN 파이프라인과 결과 파일에 관한 정보를 제공합니다. DRAGEN은 파이프라인별로 파일을 따로 생성하며, 분석 매트릭스를 <sample\_name>.metrics.json 형식의 파일로 저장하고, [68페이지의 DRAGEN BCL Convert Pipeline](#) 섹션에 기술되어 있는 보고서를 제공합니다. DRAGEN에 관한 자세한 정보는 [DRAGEN Bio-IT Platform Support 페이지](#)를 참조하시기 바랍니다.

모든 DRAGEN 파이프라인은 입력된 BCL 파일의 압축 해제 및 출력된 BAM/CRAM 파일의 압축을 지원합니다.

결과 파일 관련 고려 사항

- 기기 내 분석을 실행하는 파이프라인인 Germline, RNA, Enrichment 및 DNA Amplicon의 경우 Proactive, Run Monitoring and Storage가 선택되어 있다면 BAM 파일이 BaseSpace Sequence Hub로 업로드되지 않습니다.

### DRAGEN Enrichment Pipeline

DRAGEN Enrichment Pipeline은 다음 기능을 지원합니다. DRAGEN 3.7 또는 이후 버전을 사용하는 경우 Germline Mode와 Somatic(Tumor Only) Mode가 모두 지원됩니다.

- 샘플 디멀티플렉싱(sample demultiplexing)
- 분류 및 중복 표시(duplicate marking)를 포함한 매핑 및 정렬(mapping/alignment)

- 작은 변이 검출(small variant calling)
- 구조적 변이 검출(structural variant calling)

변이를 검출하려면 \*.bed 파일이 샘플 시트에 포함되어 있거나 BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup에 명시되어 있어야 합니다. 구조적 변이 검출은 페어드 엔드 리드 및 Germline Mode일 경우에만 생성됩니다.

DRAGEN Enrichment 버전 3.8 또는 이후 버전을 사용하는 경우 Noise Baseline 파일을 추가하여 Somatic Mode에서 성능을 개선할 수 있습니다. 자세한 내용은 [17페이지의 Noise Baseline 파일 불러오기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

이 파이프라인은 다음과 같은 파일을 생성합니다.

구성 요소	형식	파일 이름
매핑/정렬	BAM 또는 CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.bam 또는</li> <li>• &lt;sample_name&gt;.cram</li> </ul>
작은 변이 검출	VCF 및 gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;sample_name&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>
구조적 변이 검출	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.sv.vcf.gz</li> </ul>

\* gVCF 파일은 Germline Mode에서만 생성됨.

### DRAGEN Germline Pipeline

DRAGEN Germline Pipeline은 다음 기능을 지원합니다.

- 샘플 디멀티플렉싱
- 분류 및 중복 표시를 포함한 매핑 및 정렬
- 작은 변이 검출
- 페어드 엔드 리드 대상 구조적 변이 검출
- 인간 유전체 유전자 복제수 변이(copy number variations, CNV) 검출
- 인간 유전체 반복 확장(repeat expansion)
- 인간 유전체 동질접합체(homozygosity) 영역
- [DRAGEN v3.8 또는 이후 버전] CYP2D6 검출

구조적 변이 검출(structural variant calling) 파일은 페어드 엔드 리드에 한해 생성됩니다.

이 파이프라인은 다음과 같은 파일을 생성합니다.

구성 요소	형식	파일 이름
매핑/정렬	BAM 또는 CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.bam 또는</li> <li>• &lt;sample_name&gt;.cram</li> </ul>
작은 변이 검출	VCF 및 gVCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;sample_name&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>
구조적 변이 검출	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.sv.vcf.gz</li> </ul>
유전자 복제수 변이	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.cnv.vcf.gz</li> </ul>
반복 확장	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.repeats.vcf.gz</li> </ul>
동질접합체의 영역	CSV 및 BED	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.roh_metrics.csv</li> <li>• &lt;sample_name&gt;.roh.bed</li> </ul>
CYP2D6 검출	TSV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.cyp2d6.tsv</li> </ul>

### DRAGEN DNA Amplicon Pipeline

DRAGEN DNA Amplicon Pipeline은 다음 기능을 지원합니다.

- 샘플 디멀티플렉싱
- 분류 및 중복 표시를 포함한 매핑 및 정렬
- Germline Mode 또는 Somatic Mode에서 작은 변이 검출

변이를 검출하려면 \*.bed 파일이 샘플 시트에 포함되어 있거나 BaseSpace Sequence Hub의 Instrument Run Setup에 명시되어 있어야 합니다.

이 파이프라인은 다음과 같은 파일을 생성합니다.

구성 요소	형식	파일 이름
매핑/정렬	BAM 또는 CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.bam 또는</li> <li>• &lt;sample_name&gt;.cram</li> </ul>
작은 변이 검출	VCF 및 gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;sample_name&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;sample_name&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>

\*gVCF 파일은 Germline Mode에서만 생성됨.

### DRAGEN RNA Pipeline

DRAGEN RNA Pipeline은 다음 기능을 지원합니다.

- 샘플 디멀티플렉싱
- 분류 및 중복 표시를 포함한 매핑 및 정렬
- 유전자 융합 검출(gene fusion detection)
- 전사물 정량(transcript quantification)



- [DRAGEN v3.8 또는 이후 버전] 차등 유전자 발현(differential gene expression)

파일 생성을 위해 샘플 시트에 GTF 파일을 명시하거나, 참조 유전체에 기본 파일인 `genes.gtf.gz` 파일이 있는지 확인합니다.

이 파이프라인은 다음과 같은 파일을 생성합니다.

구성 요소	형식	파일 이름	설명
매핑/정렬	BAM 또는 CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.bam</code> 또는</li> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.cram</code></li> </ul>	SAM 형식 표준을 충족하는 정렬 결과.
유전자 융합 검출	평문(Plain text)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.fusion_candidates.preliminary</code></li> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.fusion_candidates.final</code></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 필터 적용 전 fusion 후보.</li> <li>• 필터 적용 후 fusion 후보 (candidate).</li> </ul>
전사물 정량	평문	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <code>sample_name.quant.genes.sf</code></li> <li>• <code>sample_name.quant.sf</code></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유전자 수준에서의 전사물 정량화 결과.</li> <li>• 모든 전사물 정량화 결과.</li> </ul>
차등 발현	PNG	아래의 Differential expression 분석 결과 파일 표 참조.	해당 파일을 생성하려면 반드시 샘플 시트에 비교군이 설정되어 있어야 함.

Differential expression이 설정된 경우 다음과 같은 파일이 생성됩니다.

파일 이름	설명
<code>Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv</code>	Differential expression 분석 매트릭스를 포함하는 파일.
<code>Control_vs_Comparison.genes.counts.csv</code>	대조군 및 비교군의 샘플별로 각 유전자에 매핑된 리드의 수를 기술한 파일.

파일 이름	설명
Control_vs_ Comparison.genes.heatmap.png	대조군 및 비교군의 샘플에서 차등 발현된 유전자의 발현을 히트맵으로 표현한 파일. 히트맵은 보정된 P값 < .05을 갖는 차등 발현된 유전자만을 표현함. 존재하는 차등 발현 유전자의 수가 30개를 넘는 경우, 상위 30개의 차등 발현 유전자만을 사용함. DESeq1가 수렴에 실패하였거나 차등 발현 유전자가 존재하지 않는 경우 해당 파일은 생성되지 않음.
Control_vs_ Comparison.genes.ma.png	유전자 발현율의 변동을 평균 신호 강도의 함수로 정의한 파일. 두 샘플의 측정값 간 차이를 나타내는 데이터를 M(로그 비율) 및 A(평균) 척도로 변환하여 그래프에 표시함. MA 그래프는 각 샘플의 표준화된 개수의 평균에 대한 특정 변수에 기인하는 log2 fold change(배수 변화)를 보여줌. 보정된 P값이 0.1 미만이면 빨간색 점으로 표시되며, 화면 범위를 벗어나는 점은 사다리꼴로 표시됨. 정삼각형은 양의 log fold change를 나타내며, 역삼각형은 음의 log fold change를 나타냄.
Control_vs_ Comparison.genes.pca.png	최대 분산(variance)을 설명하는 상위 2개의 주성분을 보여주는 그래프.
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	평균 발현, log2(fold change), log2의 표준 오차, P값, 보정된 P값, 각 유전자의 발현 상태를 설명하는 DESeq2 분석 결과를 포함한 파일.
Control_vs_ Comparison.genes.rlog.csv	DESeq2를 통해 계산한 정규화된 로그 변환 개수(regularized log-transformed count)를 포함하는 파일.

## DRAGEN Single Cell RNA Pipeline

DRAGEN Single Cell RNA Pipeline은 다음 기능을 지원합니다.

- 샘플 디멀티플렉싱
- 분류 및 중복 표시를 포함한 매핑 및 정렬
- 세포 및 유전자 분류(cell and gene classification)

파일 생성을 위해 샘플 시트에 GTF 파일을 명시하거나, 참조 유전체에 기본 파일인 `genes.gtf.gz` 파일이 있는지 확인합니다.

이 파이프라인은 다음과 같은 파일을 생성합니다.

구성 요소	형식	파일 이름
매핑/정렬	BAM 또는 CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.bam</code></li> <li>• 또는</li> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.cram</code></li> </ul>
세포/유전자 분류	TSV, CSV 및 MTX	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.scRNA.barcodeSummary.tsv</code></li> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.scRNA.genes.tsv</code></li> <li>• <code>&lt;sample_name&gt;.scRNA.matrix.mtx</code></li> </ul>
분석 보고서	HTML	<code>&lt;sample_name&gt;.dragen.scrna-report.*.html</code>

### DRAGEN BCL Convert Pipeline

DRAGEN BCL Convert Pipeline은 시퀀싱 런 이후 생성된 BCL 데이터와 샘플 시트 정보를 바탕으로 샘플별 FASTQ 파일을 생성합니다. FASTQ 파일의 이름은 `<sample_name>.fastq.gz`입니다.

이 파이프라인은 다음과 같은 보고서를 생성합니다.

구성 요소	형식	파일 이름
디멀티플렉싱	CSV	• <code>Demultiplex_Stats.csv</code>
어댑터 매트릭스	CSV	• <code>Adapter_Metrics.csv</code>
인덱스 호핑	CSV	• <code>Index_Hopping_Counts.csv</code>
상위 알 수 없는 바코드	CSV	• <code>Top_Unknown_Barcodes.csv</code>

### Demultiplexing Statistics 보고서

Demultiplexing Statistics(디멀티플렉싱 통계) 보고서는 샘플 시트의 각 샘플에 지정되는 필터 통과(PF) 리드 수에 관한 정보를 제공합니다. 어느 샘플과도 명확한 연관성이 없는 리드는 모두 `undetermined`로 분류됩니다. 이 보고서는 각 샘플에 지정된 PF 리드 내 베이스의 Q-Score에 관한 정보도 담고 있습니다.

보고서에는 다음과 같은 정보가 포함됩니다.

메트릭	설명
Lane	샘플이 시퀀싱된 플로우 셀의 레인.
SampleID	샘플 시트 상의 샘플 ID. 리드가 샘플과 상응하지 않으면 해당 필드에는 <code>undetermined</code> 가 표시됨.

메트릭	설명
Index	샘플 시트상에서 하이픈으로 구분된 Index Read 1과 Index Read 2의 농도. 리드가 샘플과 상응하지 않으면 해당 필드에는 undetermined가 표시됨.
# Reads	명시된 레인 내 샘플을 위해 디멀티플렉싱된 PF 리드 수.
# Perfect Index Reads	샘플 시트에 명시되어 있는 통합된 인덱스 시퀀스와 완벽한 일치율을 보이는 리드의 수.
# One Mismatch Index Reads	샘플 시트에 명시되어 있는 통합된 인덱스 시퀀스에서 1회 오류를 허용한 리드의 수.
# of ≥ Q30 Bases (PF)	Q30 품질 임계값 이상의 리드에 상응하는 베이스(어댑터 포함)의 수.
Mean Quality Score (PF)	명시된 레인의 샘플에 상응하는 리드의 평균 Q-Score로, 어댑터 베이스를 포함한 값.

### Adapter Metrics 보고서

Adapter Metrics(어댑터 메트릭스) 보고서에는 각 리드와 연관성이 있는 어댑터 및 샘플 베이스의 수가 포함됩니다. 보고서에는 다음과 같은 정보가 포함됩니다.

메트릭	설명
Lane	샘플이 시퀀싱된 플로우 셀의 레인.
Sample_ID	샘플 시트 상의 샘플 ID. 리드가 샘플과 상응하지 않으면 해당 필드에는 undetermined가 표시됨.
index	샘플 시트 상의 index1 시퀀스. 샘플 시트에 해당 인덱스가 명시되지 않았거나 Sample ID값이 undetermined일 경우 해당 필드는 공란으로 표시됨.
index2	샘플 시트 상의 index2 시퀀스. 샘플 시트에서 index2가 명시되지 않았거나 Sample ID값이 undetermined일 경우 해당 필드는 공란으로 표시됨.
R1_AdapterBases	샘플 시트 상에서 AdapterRead1에 상응하는 베이스의 수.
R1_SampleBases	상응하는 레인 및 샘플에서 트리밍하거나 마스킹한 Read 1의 베이스 수.
R2_AdapterBases	샘플 시트 상에서 AdapterRead2에 상응하는 베이스의 수.

메트릭	설명
R2_SampleBases	상응하는 레인 및 샘플에서 트리밍하거나 마스킹한 Read 2의 베이스 수.
# Reads	명시된 레인 내 샘플의 리드 수.

### Index Hopping Counts 보고서

Index Hopping Counts(인덱스 호핑 수) 보고서는 듀얼 인덱스 런(dual index run)에서 예상 인덱스와 건너뛴 인덱스별 리드 수를 보여줍니다. 이 보고서는 어느 인덱스에서든 바코드 충돌이 감지되지 않는 레인별 고유한 듀얼 인덱스(unique dual index, UDI)만을 포함합니다. 특정 레인에 대한 index-hopping 메트릭스를 생성하려면 각 인덱스 내 모든 입력 페어의 해밍 거리(hamming distance)는  $2N + 1$  이상이어야 합니다. 이때 N은 해당 인덱스의 명시된 바코드 미스매치 허용 범위(barcode mismatch tolerance)를 의미합니다.

보고서에는 다음과 같은 정보가 포함됩니다.

인덱스가 없는 런, 단일 인덱스 런 또는 레인에 UDI가 없는 경우, 파일에는 헤더만이 포함됩니다.

메트릭	설명
Lane	샘플이 시퀀싱된 플로우 셀의 레인.
# Reads	명시된 레인 내 샘플의 리드 수.
SampleID	샘플 시트 상의 샘플 ID. 리드가 샘플과 상응하지 않으면 해당 필드에는 undetermined가 표시됨.
index	샘플 시트 상의 index1 시퀀스. 리드가 싱글 엔드(single-ended)이거나 Sample ID값이 undetermined일 경우 해당 필드는 공란으로 표시됨.
index2	샘플 시트 상의 index2 시퀀스. 리드가 싱글 엔드이거나 Sample ID값이 undetermined일 경우 해당 필드는 공란으로 표시됨.

### Top Unknown Barcodes 보고서

Top Unknown Barcodes(상위 알 수 없는 바코드) 보고서는 최대 허용되는 미스매치 수에 따라 샘플 시트에서 확인되지 않은 상위 100개의 인덱스 또는 레인별 인덱스 페어를 보여줍니다. 인덱스 수가 100위인 인덱스값이 복수로 존재할 경우, 인덱스 수가 동일한 인덱스값은 모두 100위로 출력됩니다.

보고서에는 다음과 같은 정보가 포함됩니다.

메트릭	설명
Lane	샘플이 시퀀싱된 플로우 셀의 레인.

메트릭	설명
index	인덱스 Read1에서 알 수 없는 인덱스별 시퀀스. 발견된 알 수 없는 인덱스가 없으면 해당 필드는 공란으로 표시됨.
index2	인덱스 Read 2에서의 알 수 없는 인덱스별 시퀀스. 싱글 리드 런이거나 발견된 알 수 없는 인덱스가 없으면 해당 필드는 공란으로 표시됨.
# Reads	명시된 레인 내 샘플의 리드 수.

### Illumina DRAGEN QC 보고서

DRAGEN FastQC는 모든 파이프라인에 대한 QC 플롯을 기본으로 생성합니다. 집계된 QC 결과는 `AggregatedFastqcMetrics` 폴더에 저장되며, 샘플별 결과는 `<sample_name>` 폴더에 저장됩니다.

샘플의 수가 512개를 넘으면 QC 보고서는 생성되지 않습니다.

다음과 같은 QC 플롯이 제공됩니다.

QC 플롯	설명
adapter_content	bp(base pair)별 시퀀스의 백분율.
positional_mean_quality	리드 포지션별 베이스에 대한 평균 Phred Q-Score.
gc_content	시퀀싱 리드별 GC 콘텐츠의 백분율.
positional_quality.read_1	특정 Read 1 위치에서 특정 뉴클레오티드가 있는 베이스에 대한 평균 Phred Q-Score.
gc_quality	
positional_quality.read_2	특정 Read 2 위치에서 특정 뉴클레오티드가 있는 베이스에 대한 평균 Phred Q-Score.
n_content	
read_length	리드별 시퀀스의 길이.
positional_base_content.read_1	특정 Read 1 위치에서 특정 뉴클레오티드별 베이스의 수.
read_quality	시퀀싱 리드별 평균 Phred Q-Score.
positional_base_content.read_2	특정 Read 2 위치에서 특정 뉴클레오티드별 베이스의 수.

## DRAGEN 2차 분석 결과 폴더 구조

DRAGEN은 기본적으로 Settings 탭에 선택되어 있는 결과 폴더에 결과 파일을 생성합니다. DRAGEN은 워크플로우별로 `report.html` 파일에 요약 보고서를 생성합니다.

 Data

- report.html
- report\_files
- AggregateFastQCPlots
  - \*.png
  - \*stderr\_.txt
  - \*stdout\_.txt
  - dragen\_prev\_48\_hrs.log
  - dml\_prev\_48\_hrs.log
  - SampleSheet.csv
  - 런 입력 파일 (예: BED, GTF 파일)
- sample\_name
  - enrich\_caller, germline\_seq, dna\_amplicon\_seq, rna\_seq 또는 scrna\_seq
    - sample\_name
      - \*.png
      - dragen\_\*.log
      - sample\_name.\*.metrics.csv
      - [DNA] sample\_name.\*.vcf.gz
      - [DNA] sample\_name.\*.gvcf.gz – DRAGEN Bio-IT Platform Amplicon(Somatic) 파이프라인 미지원.
      - sample\_name.\*.bam 또는 sample\_name.\*.cram
      - 로그
      - [RNA] sample\_name.fusion\_candidates.filter\_info
      - [RNA] sample\_name.fusion\_candidates.final
      - [RNA] sample\_name.quant.genes.sf
      - [RNA] sample\_name.quant.sf
      - sample\_name.metrics.json
      - [scRNA] sample\_dragen-scrna-report.\*.html
      - [scRNA] sample\_name.scRNA.barcodeSummary.tsv
      - [Germline] sample\_name.roh\_metrics.csv
      - [Germline] sample\_name.roh.bed
      - [Germline] sample\_name.cyp2d6.tsv

- sample\_name.fastqc\_metrics.csv
- sample\_name.trimmer\_metrics.csv
- [RNA] DifferentialExpression
  - Comparison1
    - Control\_vs\_Comparison.differential\_expression\_metrics.csv
    - Control\_vs\_Comparison.genes.counts.csv
    - Control\_vs\_Comparison.genes.disp.pdf
    - Control\_vs\_Comparison.genes.heatmap.pdf
    - Control\_vs\_Comparison.genes.ma.pdf
    - Control\_vs\_Comparison.genes.pca.pdf
    - Control\_vs\_Comparison.genes.res.csv
    - Control\_vs\_Comparison.genes.rlog.csv
  - ComparisonN
- logs
  - \*.txt
  - \*.csv
- fastq – KeepFastq가 true로 설정되었을 경우에만 지원.
  - \*.fastq.gz
- ora\_fastq – FastqCompressionFormat이 dragen으로 설정되었을 경우에만 지원.
  - \*.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 – 페어드 엔드 리드에만 해당.

0001

- dataset.json

0002

- dataset.json
- Adapter\_Metrics.csv
- Demultiplex\_Stats.csv
- Index\_Hopping\_Counts.csv

Read1Metrics – 페어드 엔드 리드에만 해당.

- Adapter\_Metrics.csv
- Index\_Hopping\_Counts.csv

# 유지 관리

이 섹션은 시스템을 최적의 상태로 유지하는 데 필요한 절차를 설명합니다. 소프트웨어 업데이트 파일 설치 방법, 에어 필터 교체 방법, 정기적인 유지 관리에 대한 지침을 제공합니다. Control Software를 최신 버전으로 유지하면 최적의 성능을 위한 최신 버그 픽스 및 기능을 시스템에 설치할 수 있습니다.

## 하드 드라이브 용량 확보하기

1회의 시퀀싱 런에는 최대 600 GB의 로컬 디스크 공간이 필요합니다. 공간이 부족하면 경고 알림이 표시됩니다. 다음 절차에 따라 이미 완료된 런과 설치된 참조 유전체를 임시 런 폴더에서 삭제하여 용량을 확보하시기 바랍니다.

**!** 런은 OS를 통해 수동으로 삭제하지 말고 반드시 NextSeq 1000/2000 Control Software를 이용해 삭제해야 합니다. 수동으로 런을 삭제하면 Control Software에 부정적인 영향을 줄 수 있습니다.

1. Control Software 메뉴에서 Disk Management를 선택합니다.  
Disk Management 화면이 뜨고 로컬 디스크에 저장되어 있는 런과 참조 유전체의 목록이 표시됩니다.
2. 삭제하려는 런을 선택한 후 Delete Run을 누릅니다.  
런을 삭제하면 로컬 런 폴더도 함께 삭제됩니다. 다만 런 폴더의 사본인 결과 폴더는 그대로 보존됩니다.
3. 대화 상자에서 Yes, Delete Run을 선택해 런 삭제를 확인합니다.
4. 계속해서 런을 삭제하려면 런마다 2단계와 3단계를 반복합니다.
5. 삭제를 원하는 유전체가 있다면 Delete Genome을 선택합니다.
6. 대화 상자에서 Yes, Delete Genome을 선택합니다.
7. 계속해서 유전체를 삭제하려면 유전체마다 5단계와 6단계를 반복합니다.
8. 삭제 완료 후 Disk Management를 닫고 Home 화면으로 돌아갑니다.

## 소프트웨어 업데이트

소프트웨어 업데이트를 통해 시스템에 최신 기능과 버그 픽스를 설치할 수 있습니다. 소프트웨어 업데이트는 System Suite에 번들로 포함되어 있으며 여기에는 다음 소프트웨어가 포함됩니다.

- NextSeq 1000/2000 Control Software
- NextSeq 1000/2000 레시피
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

**i** | DRAGEN 모듈은 System Suite에 포함되어 있지 않으므로 필요시 별도로 설치해야 합니다. DRAGEN 모듈 소프트웨어는 Support 페이지에서 찾으실 수 있습니다.

이 시스템은 소프트웨어 업데이트를 자동으로 또는 수동으로 다운로드하도록 설정되어 있습니다.

- Automatic updates – BaseSpace Sequence Hub에서 자동으로 업데이트를 다운로드한 후 사용자가 직접 설치. 인터넷 연결이 필요하나 BaseSpace Sequence Hub 계정은 필요 없는 옵션.
- Manual updates – 웹에서 수동으로 업데이트를 다운로드하여 로컬 디스크 또는 휴대용 외장 하드 드라이브에 저장한 후 저장한 위치에서 파일을 찾아 설치. 기기의 인터넷 연결이 필요 없는 옵션.

### 자동으로 소프트웨어 업데이트 설치하기

1. 진행 중인 시퀀싱 런이나 기기 내 2차 분석이 없는지 확인합니다.
2. ilmnadmin 계정으로 로그인합니다.
3. Control Software 메뉴에서 Software Update를 선택합니다.  
시스템에 자동 업데이트가 실행되도록 설정되어 있을 경우 소프트웨어 업데이트가 있을 때 알림이 표시됩니다.
4. 업데이트가 있는지 확인하기 위해 Check Online for Software Update를 선택합니다.
5. Update Now를 선택해 새 소프트웨어 버전을 다운로드합니다.  
다운로드가 완료되면 Control Software가 닫히고 설치 마법사가 시작됩니다.
6. 설치 확인 메시지가 나타날 때까지 설치 마법사의 안내에 따라 진행합니다.
7. 확인 메시지를 닫습니다.  
Control Software가 자동으로 다시 시작됩니다.
8. 소프트웨어 재시작 후 펌웨어 업데이트에 대한 안내 메시지가 표시되면 업데이트를 진행합니다. 펌웨어 업데이트 진행 중에는 기기에 검은색 화면이 표시됩니다. 업데이트가 종료되면 화면에 완료 메시지가 나타납니다.  
항상 펌웨어 업데이트가 끝나면 기기를 종료한 후 재시작하도록 합니다. 자세한 내용은 [83페이지의 기기 종료 후 재시작하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

**i** | 업데이트는 설치가 시작되면 취소가 불가능합니다. 업데이트는 다운로드 중에만 취소가 가능합니다.

### 수동으로 소프트웨어 업데이트 설치하기

1. ilmnadmin 계정으로 로그인합니다.
2. 진행 중인 시퀀싱 런이나 기기 내 2차 분석이 없는지 확인합니다.
3. 사용 가능한 소프트웨어 업데이트가 있다면 [NextSeq 1000/2000 Sequencing System Support 페이지](#)에서 Suite Installer(\*.tar.gz)를 다운로드합니다. Installer를 로컬 디스크나 휴대용 외장 하드 드라이브에 저장합니다.

4. Installer를 휴대용 드라이브에 저장했다면 기기 측면이나 후면에 있는 USB 3.0 포트에 드라이브를 연결합니다.
5. Control Software 메뉴에서 Software Update를 선택합니다.
6. Choose...를 선택하고 Installer를 찾습니다.
7. Update Now를 선택해 설치를 시작합니다.  
설치 중에는 Control Software가 상태를 Busy로 표시합니다. 설치가 완료되면 설치 확인 메시지가 나타납니다.
8. 확인 메시지를 닫습니다.  
Control Software가 자동으로 다시 시작됩니다.
9. 소프트웨어 재시작 후 펌웨어 업데이트에 대한 안내 메시지가 표시되면 업데이트를 진행합니다. 펌웨어 업데이트 진행 중에는 기기에 검은색 화면이 표시됩니다. 업데이트가 종료되면 화면에 완료 메시지가 나타납니다.  
항상 펌웨어 업데이트가 끝나면 기기를 종료한 후 재시작하도록 합니다. 자세한 내용은 [83페이지의 기기 종료 후 재시작하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

 업데이트는 설치가 시작되면 취소가 불가능합니다. 업데이트는 다운로드 중에만 취소가 가능합니다.

## DRAGEN 워크플로우 및 라이선스 업데이트

DRAGEN 워크플로우를 설치하고 DRAGEN 라이선스를 갱신할 수 있는 권한은 시스템 관리자에게만 부여됩니다.

### 온라인 상태에서 DRAGEN 라이선스 갱신하기

NextSeq 1000/2000 시퀀싱 시스템이 인터넷에 연결되어 있을 때는 다음 절차에 따라 DRAGEN Bio-IT Platform 라이선스를 업데이트합니다.

1. Illumina 기술지원팀에 새 라이선스 키를 요청합니다.
2. 라이선스가 자동으로 업데이트될 때까지 24시간 기다리거나, 다음과 같이 라이선스를 바로 업데이트합니다.
  - a. Control Software 메뉴를 선택한 후 DRAGEN을 선택합니다.
  - b. Check Online을 선택해 새로운 DRAGEN 라이선스 키가 있는지 확인합니다.
  - c. 새로운 라이선스 키가 있을 경우 Update를 선택합니다.

### 오프라인 상태에서 DRAGEN 라이선스 갱신하기

NextSeq 1000/2000 시퀀싱 시스템이 인터넷에 연결되어 있지 않을 때는 다음 절차에 따라 DRAGEN Bio-IT Platform 라이선스를 업데이트합니다.

1. Illumina 기술지원팀에 새 라이선스 키를 요청합니다. license.zip 파일을 로컬 디스크나 휴대용 외장 하드 드라이브에 저장합니다.
2. \*.zip 파일을 휴대용 드라이브에 저장했다면 기기 측면이나 후면에 있는 USB 3.0 포트에 드라이브를 연결합니다.  
후면의 USB 3.0 포트를 사용할 경우 조심스럽게 기기를 돌려 드라이브를 연결하도록 합니다.

3. Control Software 메뉴를 선택한 후 DRAGEN을 선택합니다.
4. Choose를 선택해 \*.zip 파일을 찾은 후 Open을 선택합니다.

## 온라인 상태에서 DRAGEN 워크플로우 설치하기

NextSeq 1000/2000 시퀀싱 시스템이 인터넷에 연결되어 있을 때는 DRAGEN 워크플로우를 NextSeq 1000/2000 Control Software에 직접 설치할 수 있습니다. NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전만 온라인 DRAGEN 워크플로우 설치를 지원합니다.

1. Control Software 메뉴를 선택한 후 Process Management를 선택합니다.
2. 진행 중인 시퀀싱 런이나 기기 내 2차 분석이 없는지 확인합니다.
3. Control Software 메뉴를 선택한 후 DRAGEN을 선택합니다.  
Version 아래에 위치한 Available Workflows 섹션에서 현재 시스템에 설치되어 있는 워크플로우의 목록을 확인할 수 있습니다.
4. DRAGEN 워크플로우를 NextSeq 1000/2000 Control Software에 설치하려면 Check Online을 선택합니다.  
모든 DRAGEN 버전과 워크플로우가 온라인 설치를 지원하지는 않습니다. 추가적인 워크플로우는 오프라인 상태에서 설치하도록 합니다.
5. 설치를 원하는 워크플로우의 체크 박스를 선택합니다. BCL Convert가 설치되어 있지 않다면, 최신 버전의 BCL Convert를 설치합니다.  
최신 버전의 워크플로우에 관한 정보는 릴리스 노트(Release Notes)에서 확인하실 수 있습니다.
6. Install을 선택해 설치를 시작합니다.
7. 시스템 비밀번호로 ilmnadmin을 입력한 뒤 Authenticate를 선택합니다.

## 오프라인 상태에서 DRAGEN 워크플로우 설치하기

1. 사용 가능한 DRAGEN 워크플로우 업데이트가 있다면 [NextSeq 1000/2000 Sequencing System Support 페이지](#)에서 Installer(\*.tar.gz)를 다운로드합니다. Installer를 로컬 디스크나 휴대용 외장 하드 드라이브에 저장합니다.
2. Installer를 휴대용 드라이브에 저장했다면 기기 측면이나 후면에 있는 USB 3.0 포트에 드라이브를 연결합니다.  
후면의 USB 3.0 포트를 사용할 경우 조심스럽게 기기를 돌려 드라이브를 연결하도록 합니다.
3. Control Software 메뉴를 선택한 후 Process Management를 선택합니다.
4. 진행 중인 시퀀싱 런이나 기기 내 2차 분석이 없는지 확인합니다.
5. Control Software 메뉴를 선택한 후 DRAGEN을 선택합니다.
6. Version 아래에 위치한 Browse for New Version을 선택해 Installer를 찾습니다.
7. Install을 선택해 설치를 시작합니다.
8. 시스템 비밀번호로 ilmnadmin을 입력한 후 Authenticate를 선택합니다.

## 에어 필터 교체하기

다음 지침에 따라 6개월마다 사용 기한이 지난 에어 필터를 교체하도록 합니다.

에어 필터는 직사각형 모양의 일회용 카트리지로, 설치 시 기기 우측의 팬을 가립니다. 에어 필터는 적절한 냉각과 시스템으로의 이물질 유입을 방지해 줍니다. 에어 필터 1개는 기기에 설치된 상태로 배송되며, 예비 에어 필터 1개가 함께 제공됩니다. 에어 필터는 기기 서비스 계약에 포함되어 있을 경우 추가로 제공되며, Illumina에 요청해 별도로 구매하는 것도 가능합니다.

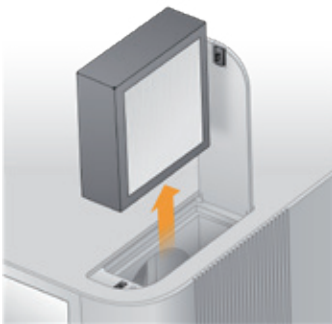
1. 아래 그림과 같이 기기 우측 상단에 위치한 패널을 누릅니다.



2. 패널을 엽니다.

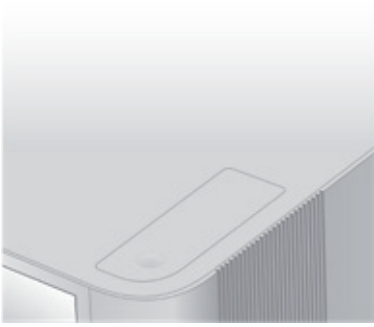


3. 에어 필터 카트리지를 한 번 눌러 패널 중앙에서 꺼낸 후 폐기합니다.



4. 새 에어 필터를 삽입한 후 한 번 더 눌러 확실하게 장착시킵니다.

5. 상단 패널을 내리고 한 번 눌러 닫습니다.



6. 기기를 원래 위치로 돌려 놓습니다.

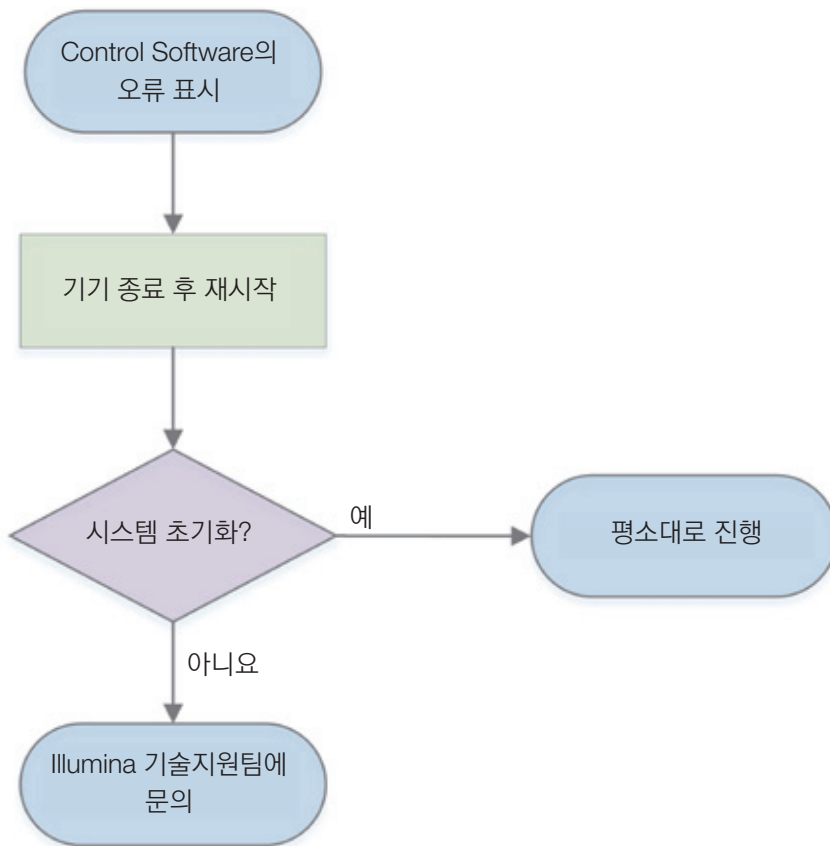
# 문제 해결

이 섹션은 런 취소, 기기 종료 후 재시작, 기타 문제 해결 절차에 관한 단계별 지침을 제공합니다.

## 오류 메시지 해결 방법

이 부록은 다양한 문제의 해결을 위한 상세한 지침을 제공합니다. 아래는 초기화, 런 설정 또는 시퀀싱 중 나타나고 재시도로 해결되지 않는 오류 메시지를 대략적으로 정리한 플로우차트입니다.

대부분의 오류는 기기를 종료한 후 재시작하면 해결됩니다. 기기를 종료한 후 재시작하는 방법은 [83페이지의 기기 종료 후 재시작하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.





## 소모품 재보관하기

사전 런 검사 중 기기 오류가 발생한 경우, 유체 검사 단계 전 다음 지침에 따라 해동된 카트리지와 플로우 셀을 다시 보관하도록 합니다.

1. 카트리지에서 플로우 셀을 분리합니다.
2. 희석된 라이브러리(최대 18 µ 정도)를 저장소에서 꺼낸 후 폐기합니다.
  - ! | 저장소에 남아 있는 라이브러리와 샘플 간 교차 오염이 일어나지 않도록 다음 런에 사용할 동일한 라이브러리를 새로 희석합니다.
3. 라벨이 위를 향하고 모든 방향에서 공기가 잘 통하도록 주의하여 카트리지를 2~8°C에 보관합니다. 단, 72시간을 넘지 않도록 합니다. 밤새 12시간 동안 냉장고에서 해동한 카트리지의 재보관 시간은 60시간을 넘지 않도록 합니다.
4. 플로우 셀과 제습제를 원래의 알루미늄 포일 패키지에 넣습니다.
5. 패키지를 테이프로 밀봉하여 2~8°C에 보관합니다. 단, 72시간을 넘지 않도록 합니다.

## 런 취소하기

1. End Run을 선택합니다.
2. 시약 카트리지를 자동으로 제거하려면 Purge Reagent Cartridge 체크 박스를 선택합니다. NextSeq 1000/2000 Control Software settings에 기본 옵션이 설정되어 있습니다.
3. Yes, end the sequencing run을 선택합니다. 런은 한번 취소하면 되돌릴 수 없습니다. 사전 런 검사의 기기 검사 단계 이후로는 소프트웨어가 런을 재시작할 수 없으며, 소모품도 재사용할 수 없습니다.
4. Eject Cartridge를 선택하면 바이저가 열리고 트레이가 나옵니다.
5. 트레이에서 카트리지를 제거합니다.
6. 취소 시점에 따라 다음과 같이 카트리지를 보관하거나 폐기하시기 바랍니다.

상황	인스턴스
사전 런 검사의 기기 검사 단계 이전 또는 도중에 런을 취소했으나 소모품은 재사용하고 싶은 경우.	82페이지의 <a href="#">소모품 재보관하기</a> 섹션 참조.
그 외 모든 상황.	48페이지의 <a href="#">소모품 언로딩하기</a> 섹션 참조.

7. Close Door를 선택하여 트레이를 다시 로딩하고 Home 화면으로 돌아갑니다. 센서가 카트리지를 제거를 확인합니다.

## 런 재분석하기

Process Management 화면의 Secondary Analysis Status에 오류가 표시되는 경우, 해당 런에 Requeue 기능을 적용해 생성된 cBCL 파일에 대한 기기 내 DRAGEN 분석을 재수행할 수 있습니다. 런에 Requeue 기능을 적용하려면 반드시 원래의 런 폴더가 그대로 기기에 남아 있어야 합니다. 단, 이 기능은 BaseSpace Sequence Hub의 런에는 적용할 수 없습니다. BaseSpace Sequence Hub의 런에 Requeue 기능을 적용하는 방법은 BaseSpace Sequence Hub Help Center의 Fix Sample Sheet 페이지를 참조하시기 바랍니다.

1. Sample Sheet v2를 업데이트한 후 샘플 시트를 휴대용 외장 하드 드라이브 또는 마운트된 네트워크 드라이브에 저장합니다.
2. 샘플 시트를 휴대용 드라이브에 저장했다면 기기 측면이나 후면에 있는 USB 3.0 포트에 드라이브를 연결합니다. 후면의 USB 3.0 포트를 사용할 경우 조심스럽게 기기를 돌려 드라이브를 연결하도록 합니다.
3. Control Software 메뉴를 선택한 후 Process Management를 선택합니다.
4. 진행 중인 시퀀싱 런이나 기기 내 2차 분석이 없는지 확인합니다.
5. 분석을 재수행하려는 완료된 런의 옆에 위치한 Requeue를 선택합니다.
6. Choose를 선택해 업데이트된 샘플 시트를 찾아 Open을 선택합니다.
7. Start Requeue를 선택합니다.

## 기기 종료 후 재시작하기

Power cycling이란 시스템을 안전하게 종료했다가 재시작하는 작업으로, 끊긴 연결을 복구하거나, 명세를 조정하거나, 초기화 실패를 해결할 수 있습니다. 오류나 경고의 해결을 위해 기기 종료 후 재시작이 필요할 때 소프트웨어 메시지가 표시됩니다.

1. Control Software 메뉴에서 Shut Down Instrument를 선택합니다.
2. 시스템이 종료되지 않으면 기기 우측의 전원 버튼을 표시등이 꺼질 때까지 길게 누릅니다.
3. 전원 버튼의 표시등이 깜박이면 후면 패널에 있는 토글 스위치를 눌러 전원을 끕니다(O 위치). 전원 버튼의 표시등은 전원이 꺼져도 계속 깜빡일 수 있습니다.

그림 8 토글 스위치의 위치



4. 30초간 기다립니다.

5. 토글 스위치를 다시 눌러 전원을 켭니다(1 위치).
6. 전원 버튼의 표시등이 깜박이면 30초간 기다린 후 버튼을 누릅니다.

그림 9 전원 버튼의 위치



7. OS가 로딩될 때까지 약 5분간 기다립니다. OS가 로딩되면 시스템에 로그인합니다.  
Control Software가 실행되고 시스템이 초기화됩니다. 시스템 초기화가 완료될 때까지 약 5분간 기다립니다.  
초기화가 완료되면 Home 화면이 나타납니다.

## 시스템 검사 실행하기

일반 작동이나 기기 유지 관리 시 시스템 검사는 필요하지 않습니다. 하지만 Illumina 기술지원팀에서 문제 해결을 위해 시스템 검사를 요청할 수도 있습니다.

사전 런 검사 오류 및 기타 문제를 해결하기 위해 네 가지 시스템 검사를 실행하며, 검사에는 총 58분 정도가 소요됩니다. 검사를 통해 부품이 제대로 정렬되어 있고 정상적으로 작동하는지 확인할 수 있습니다.

검사 결과는 `/usr/local/illumina/system-check`에 위치한 `system-check` 폴더에 저장됩니다.

시스템 검사를 실행하기 전에 반드시 카트리지를 꺼내 두도록 합니다.

### 시스템 검사하기

1. Control Software 메뉴에서 System Checks를 선택합니다.
2. 다음 중 원하는 시스템 검사에 해당하는 체크 박스를 선택합니다.
  - Network Connectivity – 네트워크 연결 상태 및 성능 검사.
  - Enclosure – 열 시스템(thermal system)과 바이저 리프팅 장치의 성능 검사.
  - Motion – Z 스테이지 및 XY 스테이지의 이동 한계와 성능 검사.
  - Optics – 이미징 모듈의 성능 검사.
3. Start를 선택합니다.

## 초기 설정값으로 복원하기

시스템을 초기 설정값으로 복원하여 소프트웨어를 다운그레이드하거나 원하지 않는 설정을 되돌릴 수 있습니다. 이 기능은 반드시 Illumina 담당자가 직접 실행해야 합니다.

## 설치 이미지 캡처하기

설치된 소프트웨어가 정상적으로 기능할 경우 시스템 이미지를 캡처하여 백업해 둘 수 있습니다. 캡처한 시스템 이미지는 나중에 복원할 수 있습니다. 시스템 이미지는 처음 시스템을 설치한 직후에 Illumina 담당자를 통해 비밀번호를 변경한 후에 캡처하는 것이 좋습니다.

1. Linux를 재시작합니다.
2. OS를 선택하라는 메시지가 뜨면 Capture Installed Image를 선택합니다.  
NextSeq 1000/2000 Control Software가 자동으로 실행되기 전에 OS 옵션이 잠시 동안 표시됩니다.  
**i** | 단 한 장의 이미지만 메모리에 저장할 수 있기 때문에 이전에 캡처한 이미지가 있다면 이를 덮어쓰게 됩니다.
3. 시스템이 현재 설치 이미지를 캡처하는 데에는 약 30분이 소요됩니다.  
캡처 과정에는 몇 차례의 재부팅 작업이 동반될 수 있습니다. 캡처가 완료되면 메모리에 저장된 현재 설치 이미지로 시스템이 재부팅됩니다.

## 캡처된 이미지 복원하기

이전에 캡처한 이미지를 이용해 원하지 않는 설정을 되돌려 시스템을 복구할 수 있습니다.

1. Linux를 재시작합니다.
2. OS를 선택하라는 메시지가 뜨면 Restore Installed Image를 선택합니다.  
NextSeq 1000/2000 Control Software가 자동으로 실행되기 전에 OS 옵션이 잠시 동안 표시됩니다.  
**i** | 비밀번호는 해당 시스템 이미지에 연결되어 있습니다. 복원 완료 후 시스템 로그인 시 복원 이미지의 비밀번호를 이용하도록 합니다
3. 복원이 완료될 때까지 약 30분 동안 기다립니다.  
복원 과정에는 몇 차례의 재부팅 작업이 동반될 수 있습니다. 복원이 완료되면 복원된 이미지로 시스템이 재부팅됩니다.

# 리소스 및 참고 자료

## Sample Sheet v2 설정

Local Mode에서는 Sample Sheet v2 파일 형식을 이용해 런을 설정할 수 있습니다. Instrument Run Setup에서 샘플 시트를 생성하거나 *NextSeq 1000 and NextSeq 2000 Sequencing Systems Sample Sheet v2 Template*을 편집해 사용하면 됩니다. 샘플 시트를 편집할 때는 다음의 섹션과 필드가 아래에 명시된 순서대로 포함되어 있는지, 또 요구 사항을 충족하고 있는지 확인하시기 바랍니다. 편집 완료 후 샘플 시트는 휴대용 외장 하드 드라이브나 마운트된 네트워크 드라이브를 이용해 NextSeq 1000 및 2000 시퀀싱 시스템으로 전송하도록 합니다. 샘플 시트를 Control Software에서 찾는 경우 기기의 프리런 폴더(pre-run folder)에 샘플 시트가 복사되므로 휴대용 드라이브는 제거해도 됩니다.

Sample Sheet v2 설정이 다음의 요구 사항을 충족하는지 확인합니다.

- BCLConvert\_Data 샘플 시트 섹션에 명시된 인덱스 시퀀스가 NextSeq 1000/2000에서 선택한 Index Kit와 일치해야 합니다.
- NextSeq 1000/2000 Control Software v1.2를 사용하는 경우 샘플 시트에 명시된 DRAGEN 버전이 반드시 시스템에 설치 및 활성화되어 있어야 합니다. 설치에 관한 정보는 [75페이지의 소프트웨어 업데이트](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.
- NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전을 사용하는 경우 샘플 시트에 명시된 DRAGEN 버전이 반드시 시스템에 설치되어 있어야 합니다. Control Software가 자동으로 샘플 시트에서 DRAGEN 버전을 인식해 필요한 경우 버전을 전환하라는 메시지를 표시합니다. 설치에 관한 정보는 [75페이지의 소프트웨어 업데이트](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

DRAGEN을 사용하는 경우에는 추가 설정이 필요합니다. 자세한 내용은 [90페이지의 DRAGEN 샘플 시트 설정](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

NextSeq 1000/2000 Sequencing System Support 페이지에서 제공하는 Product Files 섹션에서 Sample Sheet v2 Template을 다운로드합니다. Instrument Run Setup을 통해 Sample Sheet를 샘플 시트를 생성하는 경우 최초 다운로드 이후 해당 샘플 시트를 편집하면 분석에 실패할 수 있습니다.

파일 이름은 특수 문자를 포함할 수 없습니다.

### [Header] 섹션 요구 사항

[Header] 섹션에는 런에 관한 전반적인 정보를 입력합니다. 아래 표에서 입력 가능한 [Header] 필드와 각 필드의 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
FileFormatVersion	필수	FileFormatVersion 필드에는 샘플 시트 버전인 2를 입력.
RunName	선택	사용자가 원하는 고유한 런 이름. RunName 필드에는 영문자, 숫자, 밑줄(_), 대시(-), 마침표(.) 입력 가능. RunName에 공백이나 특수 문자 포함 시 분석이 실패할 수 있음.
RunDescription	선택	런에 관한 설명.
InstrumentPlatform	선택	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	선택	NextSeq 1000/2000

### [Reads] 섹션 요구 사항

[Reads] 섹션에는 Read 1 및 Read 2와 Index 1 및 Index 2에 사용되는 시퀀싱 사이클 횟수를 입력합니다. 아래 표에서 입력 가능한 [Reads] 필드와 각 필드에 관한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Read1Cycles	필수	첫 번째 리드의 사이클 횟수로 0보다 큰 정수를 입력.
Read2Cycles	선택	두 번째 리드의 사이클 횟수.
Index1Cycles	선택	첫 번째 인덱스 리드의 사이클 횟수로 두 개 이상의 샘플을 시퀀싱할 때 요구되며 최대 10회까지 입력 가능.
Index2Cycles	선택	두 번째 인덱스 리드의 사이클 횟수로 최대 10회까지 입력 가능.

### [Sequencing\_Settings] 섹션 요구 사항

[Sequencing\_Settings] 섹션에는 현재 사용하는 Library Prep Kit를 명시합니다.

필드	필수/선택	설명
LibraryPrepKits	선택	사용 중인 Library Prep Kit. 한 개의 Library Prep Kit만 입력 가능. NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 또는 이후 버전 사용 시 Library Prep Kit로 Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus Kit 또는 Illumina Stranded mRNA Prep Kit를 설정하면 필요한 맞춤형 레시피가 자동으로 선택됨. 다음 중 한 개의 설정값 입력. <ul style="list-style-type: none"> <li>Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kit – ILMNStrandedTotalRNA</li> <li>Illumina Stranded mRNA Prep kit – ILMNStrandedmRNA</li> </ul>

### BCL Convert 섹션 요구 사항

BCL Convert 섹션은 데이터를 BCL에서 FASTQ로 변환할 때 필요한 정보를 포함합니다. BCL Convert 옵션은 [BCLConvert\_Settings]와 [BCLConvert\_Data]의 두 가지 섹션으로 나뉩니다. BCL Convert 섹션에는 인덱스 어댑터 시퀀스에 관한 정보를 입력해야 합니다. 리드 및 인덱스별 호환 가능한 어댑터 시퀀스를 확인하려면 *Illumina Adapter Sequences*(문서 번호: 1000000002694)를 참조하시기 바랍니다.

아래 표에서 입력 가능한 [BCLConvert\_Settings] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
SoftwareVersion	필수	현재 시스템에 설치되어 있는 DRAGEN 소프트웨어의 버전. 버전 이름에 포함되어 있는 세 개의 정수를 모두 입력. (예: 3.5.7)
BarcodeMismatchesIndex1	선택	첫 번째 인덱스 리드와 인덱스 시퀀스 간 허용되는 미스매치 수. 0, 1 또는 2 중 하나 입력 가능. (기본 설정값: 1)
BarcodeMismatchesIndex2	선택	두 번째 인덱스 리드와 인덱스 시퀀스 간 허용되는 미스매치 수. 0, 1 또는 2 중 하나 입력 가능. (기본 설정값: 1)

필드	필수/선택	설명
FastqCompressionFormat	선택	FASTQ 파일을 *.gz 파일로 저장하려면 gzip 입력. FASTQ 파일을 *.ora 파일로 저장하고 DRAGEN Decompression과 사용하려면 dragen 입력.
AdapterRead1	선택	Read 1의 끝에서 트리밍하거나 마스킹할 시퀀스. A, C, G 또는 T를 포함하는 Read 1 어댑터 시퀀스. (기본 설정값: AdapterRead1에서 사이클 트리밍 수행)
AdapterRead2	선택	Read 2의 끝에서 트리밍하거나 마스킹할 시퀀스. A, C, G 또는 T를 포함하는 Read 2 어댑터 시퀀스. (기본 설정값: AdapterRead2에서 사이클 트리밍 수행)
OverrideCycles	선택	<p>UMI 사이클 설정 및 리드의 사이클 마스킹에 사용되는 스트링. 다음과 같은 입력값 허용.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• N – 무시할 사이클 설정.</li> <li>• Y – 시퀀싱 사이클 설정.</li> <li>• I – 인덱스 사이클 설정.</li> <li>• U – 트리밍할 UMI 사이클 설정.</li> </ul> <p>세미콜론으로 값 구분. 다음의 OverrideCycles 입력값 예시 참조.</p> <p>U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66</p>

아래 표에서 입력 가능한 [BCLConvert\_Data] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Sample_ID	필수	해당 샘플의 ID. Sample_ID 필드에는 영문자, 숫자, 하이픈(-), 밑줄(_)을 최대 20자까지 입력 가능. ID는 대소문자를 구분함. 각 식별자는 대시(-), 밑줄(_)로 구분. (예: Sample1-DQB1-022515).
Index	선택	해당 샘플과 연관성이 있는 인덱스 시퀀스. A, C, T 또는 G만 입력 가능. 두 개 이상의 샘플을 시퀀싱할 때 요구되는 값.



필드	필수/선택	설명
Index2	선택	해당 샘플과 연관성이 있는 두 번째 인덱스 시퀀스. A, C, T 또는 G만 입력 가능. 두 번째 인덱스(i5)의 어댑터 시퀀스가 정방향인지 확인. DRAGEN은 2차 분석 중 i5 인덱스를 자동으로 역상보화(reverse complement)함.
Lane	선택	해당 플로우 셀의 레인. 레인은 한 개의 정수로 표현.

## DRAGEN 샘플 시트 설정

이 섹션은 DRAGEN 파이프라인별 샘플 시트 요구 사항을 설명합니다. DRAGEN 파이프라인 설정값은 샘플 시트의 마지막 섹션에 추가하게 됩니다. DRAGEN 파이프라인은 오직 한 개만 사용할 수 있습니다.

각 DRAGEN 파이프라인은 Settings 섹션과 Data 섹션으로 구성되어 있습니다.

### DRAGEN Germline Pipeline 요구 사항

아래 표에서 입력 가능한 [DragenGermline\_Settings] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
SoftwareVersion	필수	현재 시스템에 설치되어 있는 DRAGEN 소프트웨어의 버전. 버전 이름에 포함되어 있는 세 개의 정수를 모두 입력. (예: 3.5.7) 입력하는 소프트웨어 버전은 BCLConvert_Settings 섹션에 명시한 버전과 반드시 일치해야 함.
ReferenceGenomeDir	필수	참조 유전체 이름. (예: hg19_alt_aware) /usr/local/illumina/genomes의 참조 유전체 이름 사용. 맞춤형 참조 유전체 사용 방법은 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> 참조.
MapAlignOutFormat	선택	결과 파일의 형식. bam 또는 cram 입력 가능. 형식을 명시하지 않을 경우 기본으로 none 적용.
KeepFastq	선택	FASTQ 결과 파일을 저장하려면 true 입력. FASTQ 결과 파일을 삭제하려면 false 입력.

아래 표에서 입력 가능한 [DragenGermline\_Data] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Sample_ID	필수	해당 샘플의 ID. Sample_ID 필드에는 영문자와 숫자를 최대 20자까지 입력 가능. ID는 대소문자를 구분함. 각 식별자는 대시(-)로 구분. (예: Sample1-DQB1-022515). 입력하는 샘플 ID는 BCLConvert_Data 섹션에 명시한 ID와 반드시 일치해야 함.

### DRAGEN RNA Pipeline 요구 사항

아래 표에서 입력 가능한 [DragenRNA\_Settings] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
SoftwareVersion	필수	현재 시스템에 설치되어 있는 DRAGEN 소프트웨어의 버전. 버전 이름에 포함되어 있는 세 개의 정수를 모두 입력. (예: 3.5.7) 입력하는 소프트웨어 버전은 BCLConvert_Settings 섹션에 명시한 버전과 반드시 일치해야 함.
ReferenceGenomeDir	필수	참조 유전체 이름. (예: hg38_noalt_with_decoy) /usr/local/illumina/genomes의 참조 유전체 이름 사용. 맞춤형 참조 유전체 사용 방법은 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> 참조.
RnaGeneAnnotationFile	선택	RNA 유전자 Annotation(주석)을 포함하는 파일. 영문자와 숫자만 입력 가능. 값을 입력하지 않을 경우 명시된 참조 유전체에 기본으로 포함되어 있는 Annotation 파일 사용.
MapAlignOutFormat	선택	결과 파일의 형식. bam 또는 cram 입력 가능. 형식을 명시하지 않을 경우 기본으로 none 적용.
KeepFastq	선택	FASTQ 결과 파일을 저장하려면 true 입력. FASTQ 결과 파일을 삭제하려면 false 입력.
DifferentialExpressionEnable	선택	Differential expression을 설정하려면 true 입력. Differential expression을 제외하려면 false 입력.

아래 표에서 입력 가능한 [DragenRna\_Data] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Sample_ID	필수	해당 샘플의 ID. Sample_ID 필드에는 영문자와 숫자를 최대 20자까지 입력 가능. ID는 대소문자를 구분함. 각 식별자는 대시(-)로 구분. (예: Sample1-DQB1-022515). 입력하는 샘플 ID는 BCLConvert_Data 섹션에 명시한 ID와 반드시 일치해야 함.
Comparison<N>	선택	각 샘플의 대조값 또는 비교값. 샘플에 대조값이나 비교값이 없는 경우 na가 해당 샘플에 설정값으로 입력됨. 이 경우 control이라고 표기된 샘플과 comparison이라고 표기된 샘플이 모두 비교됨. N값은 샘플의 비교군을 의미함.

### DRAGEN Enrichment Pipeline 요구 사항

아래 표에서 입력 가능한 [DragenEnrichment\_Settings] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
SoftwareVersion	필수	현재 시스템에 설치되어 있는 DRAGEN 소프트웨어의 버전. 버전 이름에 포함되어 있는 세 개의 정수를 모두 입력. (예: 3.5.7) 입력하는 소프트웨어 버전은 BCLConvert_Settings 섹션에 명시한 버전과 반드시 일치해야 함.
ReferenceGenomeDir	필수	참조 유전체 이름. (예: hg38_alt_aware) 참조 유전체 위치: /usr/local/illumina/genomes 맞춤형 참조 유전체 사용 방법은 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> 참조.
BedFile	필수	표적화할 영역이 포함된 bed 파일.
GermlineOrSomatic	필수	Enrichment germline 분석을 수행하려면 germline 입력. Enrichment somatic 분석을 수행하려면 somatic 입력.
KeepFastq	선택	FASTQ 결과 파일을 저장하려면 true 입력. FASTQ 결과 파일을 삭제하려면 false 입력.

필드	필수/선택	설명
MapAlignOutFormat	선택	결과 파일의 형식. bam 또는 cram 입력 가능. 형식을 명시하지 않을 경우 기본으로 none 적용.
AuxNoiseBaselineFile	선택	Noise Baseline 파일의 이름. *.txt 또는 *.gz 파일 형식 입력 가능. Noise Baseline 파일은 Somatic Mode를 사용할 경우에만 선택 가능. 자세한 내용은 <a href="#">17페이지의 Noise Baseline 파일 불러오기</a> 섹션 참조.

아래 표에서 입력 가능한 [DragenEnrichment\_Data] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Sample_ID	필수	해당 샘플의 ID. Sample_ID 필드에는 영문자와 숫자를 최대 20자까지 입력 가능. ID는 대소문자를 구분함. 각 식별자는 대시(-)로 구분. (예: Sample1-DQB1-022515) 입력하는 샘플 ID는 BCLConvert_Data 섹션에 명시한 ID와 반드시 일치해야 함.

### DRAGEN DNA Amplicon Pipeline 요구 사항

아래 표에서 입력 가능한 [DragenAmplicon\_Settings] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
SoftwareVersion	필수	현재 시스템에 설치되어 있는 DRAGEN 소프트웨어의 버전. 버전 이름에 포함되어 있는 세 개의 정수를 모두 입력. (예: 3.5.7) 입력하는 소프트웨어 버전은 BCLConvert_Settings 섹션에 명시한 버전과 반드시 일치해야 함.
ReferenceGenomeDir	필수	참조 유전체 이름. (예: hg38_alt_aware) 참조 유전체 위치: /usr/local/illumina/genomes 맞춤형 참조 유전체 사용 방법은 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> 참조.
DnaBedFile	필수	표적화할 영역이 포함된 bed 파일. *.txt 또는 *.gz 파일 형식 입력 가능.

필드	필수/선택	설명
DnaGermlineOrSomatic	필수	DNA Amplicon germline 분석을 수행하려면 <code>germline</code> 입력. DNA Amplicon somatic 분석을 수행하려면 <code>somatic</code> 입력.
KeepFastq	선택	FASTQ 결과 파일을 저장하려면 <code>true</code> 입력. FASTQ 결과 파일을 삭제하려면 <code>false</code> 입력.
MapAlignOutFormat	선택	결과 파일의 형식. <code>bam</code> 또는 <code>cram</code> 입력 가능. 형식을 명시하지 않을 경우 기본으로 <code>none</code> 적용.

아래 표에서 입력 가능한 [DragenAmplicon\_Data] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Sample_ID	필수	해당 샘플의 ID. Sample_ID 필드에는 영문자와 숫자를 최대 20자까지 입력 가능. ID는 대소문자를 구분함. 각 식별자는 대시(-)로 구분. (예: Sample1-DQB1-022515) 입력하는 샘플 ID는 BCLConvert_Data 섹션에 명시한 ID와 반드시 일치해야 함.
DnaOrRna	필수	수행할 Amplicon 분석의 종류. DRAGEN v3.8은 DNA 분석만 지원. <code>dna</code> 입력.

### DRAGEN Single Cell RNA Pipeline 요구 사항

아래 표에서 입력 가능한 [DragenSingleCellRNA\_Settings] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다. 타사 키트와의 호환 여부는 DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility Support 페이지에서 확인하실 수 있습니다.

#### Single Cell Library Kit 1~5

다음은 DRAGEN Single Cell Library Kit 1~5와 동일한 유전적 구조를 가진 Library Prep Kit에 적용되는 샘플 시트 설정입니다. 사용 중인 키트의 유전적 구조는 DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility Support 페이지에서 확인하시기 바랍니다.

필드	필수/선택	설명
SoftwareVersion	필수	현재 시스템에 설치되어 있는 DRAGEN 소프트웨어의 버전. 버전 이름에 포함되어 있는 세 개의 정수를 모두 입력. (예: 3.5.7) 입력하는 소프트웨어 버전은 BCLConvert_Settings 섹션에 명시한 버전과 반드시 일치해야 함.
ReferenceGenomeDir	필수	참조 유전체 이름. (예: hg38_alt_aware) 참조 유전체 위치: /usr/local/illumina/genomes 맞춤형 참조 유전체 사용 방법은 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> 참조.
RnaLibraryType	선택	다음 중 한 개의 값 입력 <ul style="list-style-type: none"> <li>• SF – Stranded forward(기본 설정값: SF)</li> <li>• SR – Stranded reverse</li> <li>• U – Unstranded</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	선택	RNA 유전자 Annotation을 포함하는 파일. 영문자와 숫자만 입력 가능. 값을 입력하지 않을 경우 명시된 참조 유전체에 기본으로 포함되어 있는 Annotation 파일 사용.
BarcodeRead	선택	바코드와 UMI가 모두 들어 있는 바코드 리드의 시퀀싱 런 내의 위치. 해당 값에는 Read1 또는 Read2 포함 가능(기본 설정값: Read1)
BarcodePosition	필수	BarcodeRead 입력값 내에서 바코드에 상응하는 베이스의 위치. Base Position의 인덱싱은 0(zero position)부터 시작. BarcodePosition값은 아래의 형식으로 입력. 0_<barcode end position> 예: 바코드에 16개의 베이스가 포함되어 있는 경우 입력값은 0_15.

필드	필수/선택	설명
UmiPosition	필수	BarcodeRead의 입력값 내에서 UMI에 상응하는 베이스의 위치. UmiPosition값은 아래의 형식으로 입력. <UMI start position>_<UMI end position> 예: UMI에 10개의 베이스가 포함되어 있고 바코드에 16개의 베이스가 포함되어 있는 경우 입력값은 16_25.
BarcodeSequenceWhitelist	선택	포함해야 할 바코드 시퀀스가 담긴 파일의 이름. 파일명으로는 영문자, 숫자, 대시(-), 밑줄(_), 마침표(.)만 입력 가능.
KeepFastq	선택	FASTQ 결과 파일을 저장하려면 true 입력. FASTQ 결과 파일을 삭제하려면 false 입력.
MapAlignOutFormat	선택	결과 파일의 형식. bam 또는 cram 입력 가능. 형식을 명시하지 않을 경우 기본으로 none 적용.

아래 표에서 입력 가능한 [DragenSingleCellRNA\_Data] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Sample_ID	필수	해당 샘플의 ID. Sample_ID 필드에는 영문자와 숫자를 최대 20자까지 입력 가능. ID는 대소문자를 구분함. 각 식별자는 대시(-)로 구분. (예: Sample1-DQB1-022515) 입력하는 샘플 ID는 BCLConvert_Data 섹션에 명시한 ID와 반드시 일치해야 함.

### Single Cell Library Kit 6

다음은 DRAGEN Single Cell Library Kit 6와 동일한 유전적 구조를 가진 Library Prep Kit에 적용되는 샘플 시트 설정입니다. 사용 중인 키트의 유전적 구조는 DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility Support 페이지에서 확인하시기 바랍니다.

필드	필수/선택	설명
SoftwareVersion	필수	현재 시스템에 설치되어 있는 DRAGEN 소프트웨어의 버전. 버전 이름에 포함되어 있는 세 개의 정수를 모두 입력. (예: 3.5.7) 입력하는 소프트웨어 버전은 BCLConvert_Settings 섹션에 명시한 버전과 반드시 일치해야 함.
ReferenceGenomeDir	필수	참조 유전체 이름. (예: hg38_alt_aware) 참조 유전체 위치: /usr/local/illumina/genomes 맞춤형 참조 유전체 사용 방법은 <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> 참조.
RnaLibraryType	선택	다음 중 한 개의 값 입력 <ul style="list-style-type: none"> <li>• SF – Stranded forward</li> <li>• SR – Stranded reverse</li> <li>• U – Unstranded</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	선택	RNA 유전자 Annotation을 포함하는 파일. 영문자와 숫자만 입력 가능. 값을 입력하지 않을 경우 명시된 참조 유전체에 기본으로 포함되어 있는 Annotation 파일 사용.
BarcodeRead	선택	바코드와 UMI가 모두 들어 있는 바코드 리드의 시퀀싱 런 내의 위치. 해당 값에는 Read1 또는 Read2 포함 가능. (기본 설정값: Read1)



필드	필수/선택	설명
BarcodePosition	필수	BarcodeRead 입력값 내에서 바코드에 상응하는 베이스의 위치. Base Position의 인덱싱은 0(zero position)부터 시작. BarcodePosition값은 아래의 형식으로 입력. 0_<first barcode end position>+<second barcode start position>_<second barcode end position>+<third barcode start position>_<third barcode end position> 예: 다음 구조 사용 시 입력값은 0_8+21_29+43_51. • 첫 바코드 내 9개의 베이스(0_8). • 첫 번째와 두 번째 바코드 사이 12개의 베이스. • 두 번째 바코드 내 9개의 베이스(21_29). • 두 번째와 세 번째 바코드 사이 13개의 베이스. • 세 번째 바코드 내 9개의 베이스(43_51).
UmiPosition	필수	명시된 BarCodeRead값 내에서 UMI에 상응하는 베이스의 위치. 스트링은 아래의 형식으로 입력. <UMI start position>_<UMI end position> 예: UMI에 8개의 베이스가 포함되어 있고 UMI 전 베이스의 개수가 총 51개일 경우 입력값은 52_59.
BarcodeSequenceWhitelist	선택	포함해야 할 바코드 시퀀스가 담긴 파일의 이름. 파일명으로는 영문자, 숫자, 대시(-), 밑줄(_), 마침표(.)만 입력 가능.
KeepFastq	선택	FASTQ 결과 파일을 저장하려면 true 입력. FASTQ 결과 파일을 삭제하려면 false 입력.
MapAlignOutFormat	선택	결과 파일의 형식. bam 또는 cram 입력 가능. 형식을 명시하지 않을 경우 기본으로 none 적용.

아래 표에서 입력 가능한 [DrogenSingleCellRNA\_Data] 필드와 각 필드에 대한 설명을 확인할 수 있습니다.

필드	필수/선택	설명
Sample_ID	필수	해당 샘플의 ID. Sample_ID 필드에는 영문자와 숫자를 최대 20자까지 입력 가능. ID는 대소문자를 구분함. 각 식별자는 대시(-)로 구분. (예: Sample1-DQB1-022515) 입력하는 샘플 ID는 BCLConvert_Data 섹션에 명시한 ID와 반드시 일치해야 함.

## 다크 사이클 시퀀싱

이 섹션에서는 레시피에서 다크 사이클 시퀀싱(dark cycle sequencing)을 사용하는 방법을 설명합니다.

다크 사이클 시퀀싱은 특정 시퀀싱 사이클에서 오직 chemistry 단계만을 완료하려 할 때 사용합니다. [Illumina 웹사이트의 Support 페이지](#)에서 제공하는 Compatible Products 섹션에서 사용 중인 Library Prep Kit에 다크 사이클 시퀀싱이 필요한지 확인하시기 바랍니다.

다크 사이클 시퀀싱에는 다음과 같은 단계를 사용하도록 합니다.

### 레시피 파일 편집하기

1. [Illumina 웹사이트의 Support 페이지](#)에서 레시피 XML 파일을 다운로드합니다.
2. 레시피 XML 파일을 편집합니다.
  - a. 리드와 인덱스 시퀀싱 설정에 따라 적합한 프로토콜 섹션을 파악합니다. 맞춤형 레시피별로 여섯 개의 편집 가능한 프로토콜이 제공됩니다. 예를 들어, 인덱스 시퀀싱 설정 없이 하나의 Read 1을 사용 시 적합한 프로토콜은 아래와 같습니다.  
Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index">
  - b. <ReadRef ReadName="Read 1"/> 및 <ReadRef ReadName="Read 2"/> 전에 아래와 같은 다크 사이클 단계를 새 라인에 입력합니다.  
<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />
  - c. 필요한 다크 사이클마다 다크 사이클 단계를 새 라인에 입력합니다.
3. 레시피 XML 파일을 저장합니다.

다음은 다크 사이클이 포함된 레시피의 예시입니다.

```
<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" />
  ...

```

### 런에 레시피 첨부하기

4. Control Software의 Run Setup에서 Custom Recipe 아래의 Choose를 선택합니다.
5. 업데이트된 레시피 XML 파일을 찾습니다.
6. Open을 선택합니다.
7. [43페이지의 시퀀싱 런 시작하기](#) 섹션으로 돌아갑니다.

# 색인

## 번호

2채널 시퀀싱 59

### ㄱ

강도 58

결과 폴더 46, 75

경고 5, 83

기기 성능 데이터 12

기기 종료 후 재시작 81

기본 결과 폴더 46

기술 지원 104

끊긴 연결 83

### ㄴ

나노웰 58

냉동고 26

냉장고 26

뉴클레오티드 59

### ㄷ

다크 사이클 시퀀싱 99

데이터 품질 60

도메인 12

드라이브 용량 75

디스크 공간 6, 75

### ㄹ

라이브러리 변성 7

라이브러리 희석 7

런

    메트릭스 48

런 삭제 6, 75

런 상태 6

런 저장 공간 75

런 파라미터 편집 46

런 폴더 75

런 횟수 5

레시피 75

레인 56

로그 파일 56

로컬 분석 1

리드 길이 29

리드 사이클 29

### ㅇ

마우스 4

마운트된 드라이브 45

모니터 2

### ㅂ

바이저

    닫기 47

베이스 콜링 5

베이스 콜 파일 8, 55, 62

변성 7

분석

    방법 5, 8

### ㅅ

사용 기한 78

사이클 횟수 29

상태 표시 바 2

서버 위치 13

성능 데이터 12

소모품

    스캔 47

    추적 1

소모품 추적 1

소프트웨어

    다운그레이드 85

    설치 75

    업데이트 확인 20

수동 소프트웨어 업데이트 75

스왑스 56

시리얼 번호 5

시스템 검사 84

### ㅇ

아이콘 5

알림 75

에어 필터

    예비 26

    위치 79

오류 5, 83

    메시지 81

오류 로그 56  
 이더넷 케이블 4  
 이더넷 포트 4  
 이미지 55  
 이미지 분석 5  
 이미징 55-56  
 인덱스  
     사이클 29  
 인터넷 연결 12

**ㄱ**

자동 소프트웨어 업데이트 75  
 재부팅 85  
 전원  
     입력 단자 4  
 전원 버튼 2, 83  
 전원 코드 4  
 정렬 실패 58  
 제품 관련 문서 104  
 종료 83  
 증폭 8

**ㄴ**

차등 발현 34  
     파일 66  
 초기 설정값 복원 85  
 초기화 84  
     실패 83  
 초록색 채널 59  
 최초 설치 78, 85  
 추가 사이클 29

**ㅋ**

카메라 56  
 카탈로그 번호 25  
 카트리지  
     로딩 방향 47  
 컴퓨터  
     기기명 19  
     이름 5  
 클라우드 기반 분석 1  
 클러스터 강도 58  
 클러스터 위치 55, 62

클러스터 필터링 60  
 키보드 4

**ㅅ**

타일 55  
 타일 이름 56  
 템플릿 29  
 토글 스위치 4, 83

**ㅈ**

파란색 채널 59  
 팬 79  
 페이지징 및 프리페이지징 58  
 표면 번호 57  
 품질 보증 26  
 필터 파일 55, 62

**ㅎ**

하드 드라이브 6, 75  
 호스팅 위치 8

**B**

BaseSpace Sequence Hub 1  
     관련 자료 12  
 bcl2fastq2 62  
 BCL 파일 63

**C**

cbcl 파일 60  
 Chastity 60  
 Compute Engine(CE) 55

**E**

Enterprise 구독 13

**F**

FASTQ 변환 88

**I**

InterOp 파일 55, 63  
 IP 포트 주소 20

## K

Kit 25

## N

NextSeq 1000/2000 Reagents Kit 25

Nickname 19

No call 58–59

## P

PF 60

PhiX 26

정렬 55

PhiX Control v3 26

Phred 알고리즘 61

Proactive Support 13

Process Management 6

## Q

Q-Table 61

## R

Reagents Kit 26

RSB 25

RunInfo.xml 63

## S

Sequencing Analysis Viewer 58

Software Suite 1, 5

Support 페이지 76

System Suite 설치 프로그램 75

## U

Universal Copy Service 5, 75

USB 포트 4

## W

Windows

로그인 84

# 기술 지원

기술 지원은 Illumina 기술지원팀에 요청하시기 바랍니다.

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

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

## Illumina 기술지원팀 연락처

지역	무료 전화 번호	지역 전화 번호
네덜란드	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
노르웨이	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
뉴질랜드	+64 800 451 650	
대만, 중국	+886 8 06651752	
대한민국	+82 80 234 5300	
덴마크	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
독일	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
말레이시아	+60 1800 80 6789	
미국	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
베트남	+84 1206 5263	
벨기에	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
스웨덴	+46 2 00883979	+46 8 50619671
스위스	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
스페인	+34 800 300 143	+34 911 899 417
싱가포르	1 800 5792 745	
아일랜드	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
영국	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
오스트리아	+43 800 006249	+43 1 9286540
이탈리아	+39 800 985513	+39 236003759
인도	+91 8006500375	
인도네시아		0078036510048
일본	+81 0800 111 5011	
중국		+86 400 066 5835
캐나다	+1 800 809 4566	

지역	무료 전화 번호	지역 전화 번호
태국	+66 1800 011 304	
프랑스	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
핀란드	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
필리핀	+63 180016510798	
호주	+61 1800 775 688	
홍콩, 중국	+852 800 960 230	

안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS) – Illumina 웹사이트([support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html))에서 확인하실 수 있습니다.

제품 관련 문서 – [support.illumina.com](http://support.illumina.com)에서 다운로드하실 수 있습니다.





Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566(북미 외 지역)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

**연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.**

© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina®