

„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“

Sekos nustatymo sistemos vadovas

Šis dokumentas ir jo turinys priklauso „Illumina, Inc.“ ir jos filialams („Illumina“), jis skirtas tik klientui naudoti pagal sutartį, kiek tai susiję su čia aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimu, ir jokių kitų tikslų. Šis dokumentas ir jo turinys negali būti naudojami ar platinami jokių kitų tikslų ir (arba) kitaip negali būti pateikiami, atskleidžiami ar atkuriami kokiu nors būdu be išankstinio rašytinio „Illumina“ sutikimo. „Illumina“ šiuo dokumentu neperduoda jokios trečiosios šalies licencijos pagal jos patentą, prekės ženklą, autorių teises, bendras teises nei panašių teisių.

Kvalifikuotas ir tinkamai išmokytas personalas turi griežtai ir aiškiai vadovautis šiame dokumente pateiktomis instrukcijomis, kad būtų užtikrintas tinkamas ir saugus šiame dokumente aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimas. Prieš naudojant tokį (-ius) produktą (-us), visas šio dokumento turinys turi būti išsamiai perskaitytas ir suprastas.

JEI NEBUS PERSKAITYTOS VISOS ČIA PATEIKTOS INSTRUKCIJOS IR JOMIS NEBUS AIŠKIAI VADOVAUJAMASI, GALIMAS PRODUKTO (-Ų) PAŽEIDIMAS, NAUDOTOJO BEI KITŲ ASMENŲ SUŽEIDIMAS IR ŽALA KITAI NUOSAVYBEI, BE TO, TAI PANAIKINA PRODUKTUI (-AMS) TAIKOMOS GARANTIJOS GALIOJIMĄ.

„ILLUMINA“ NEPRISIIMA JOKIOS ATSAKOMYBĖS, JEI ČIA APRAŠOMAS (-I) PRODUKTAS (-AI) (ĮSKAITANT DALIS IR PROGRAMINĘ ĮRANGĄ) NAUDOJAMAS (-I) NETINKAMAI.

© 2021 m. „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

Visi prekių ženklai priklauso „Illumina, Inc.“ ar kitiems savininkams. Informacijos apie konkrečius prekių ženklus ieškokite adresu www.illumina.com/company/legal.html.

Keitimo istorija

Dokumento Nr.	Data	Keitimo aprašas
1000000109376 v04	2021 m. balandis	<p>Pridėti bazinių failų importavimo nurodymai.</p> <p>Pridėta DRAGEN DNR amplikonų darbo eiga.</p> <p>Pridėtos 1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos funkcijos.</p> <p>Pridėta informacija tarpiniam serveriui pasirinkti.</p> <p>Atnaujinta RSB su „Tween 20“ siuntimo ir laikymo temperatūra.</p> <p>Atnaujinta DRAGEN RNR darbo eiga – įtraukta diferencinė genų raiška.</p> <p>Atnaujinta sekos nustatymo išvesties aplanko struktūra.</p> <p>Atnaujintos 2 v. mėginių lapo formatavimo rekomendacijos.</p>
1000000109376 v03	2020 m. lapkritis	<p>Pataisyti katalogų numeriai.</p> <p>Pridėta informacija apie naujų naudotojų pridėjimą.</p>

Dokumento Nr.	Data	Keitimo aprašas
1000000109376 v02	2020 m. spalio	<p>Pridėtas „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P3 reagentų rinkinys.</p> <p>Pridėta DRAGEN vienos ląstelės RNR darbo eiga.</p> <p>Pridėta DRAGEN gausinimo darbo eiga.</p> <p>Pridėtos FASTQ glaudinimo parinktys.</p> <p>Pridėti nurodymai, kaip įdiegti DRAGEN komandų grandinę ir licencijos naujinius.</p> <p>Pridėti nurodymai, kaip importuoti pasirinktinius atskaitinius genomus.</p> <p>Atnaujinti bibliotekų tipų įkėlimo tūris ir koncentracijos.</p> <p>Atnaujinti bibliotekų skiedimo nurodymai.</p> <p>Pridėti nurodymai, kaip automatiškai išvalyti reagentų kasetę.</p> <p>Atnaujinta informacija apie palaikomą ciklų skaičių.</p> <p>Atnaujintos prietaiso tinkinimo parinktys.</p> <p>Atnaujinti prietaiso paleidimo sąrankos nurodymai.</p> <p>Atnaujinta DRAGEN sekos nustatymo išvesties struktūra.</p> <p>Pridėta informacija apie DRAGEN KK ataskaitas.</p> <p>Pridėta informacija apie pasirinktinių atskaitinių genomų pašalinimą iš standžiojo disko.</p> <p>Pridėta informacija apie sistemos patikrų atlikimą.</p> <p>Atnaujintos 2 v. mėginių lapo nuostatos.</p>

Dokumento Nr.	Data	Keitimo aprašas
1000000109376 v01	2020 m. birželis	<p>Atnaujinti „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos aprašai.</p> <p>Visame vadove paaiškinta, kuo skiriasi režimai „Cloud“ (debesis), „Hybrid“ (mišrusis), „Local“ (vietinis) ir „Standalone“ (autonominis).</p> <p>Atnaujinti kasečių laikymo ir atšildymo nurodymai.</p> <p>Atnaujinta informacija apie palaikomą ciklų skaičių.</p> <p>Atnaujinti antrinės analizės nustatymo nurodymai.</p> <p>Atnaujinti reagentų rinkinių katalogo numeriai.</p> <p>Atnaujinta sekos nustatymo protokolo schema.</p> <p>Atnaujinti nurodymai, kaip tinklo diską nurodyti kaip numatytąjį išvesties aplanką.</p> <p>Atnaujinta palaikomų bibliotekų tipų lentelė.</p> <p>Pridėti nurodymai, kaip importuoti pasirinktinį atskaitinį genomą.</p> <p>Pridėti nurodymai, kaip nustatyti vykdymą naudojant pasirinktinį indeksų rinkinį ir pasirinktinį bibliotekos paruošimo rinkinį.</p> <p>Atnaujinti naudotojo paskyrai ir slaptažodžiui taikomi reikalavimai.</p> <p>Pridėta išsamios informacijos apie DRAGEN išvesties aplanko struktūrą.</p> <p>Paaiškinti panaudotų reagentų išleidimo iš kasetės nurodymai.</p> <p>Pridėta kontekstinė informacija apie Q lentelę.</p> <p>Atnaujinti valdymo programinės įrangos naujinių diegimo nurodymai.</p>

Dokumento Nr.	Data	Keitimo aprašas
1000000109376 v01	2020 m. birželis	Pridėti nurodymai, kaip vykdymą pakartotinai įtraukti į eilę. Pridėti nurodymai, kaip atnaujinti DRAGEN komandų grandines ir licenciją. Atnaujinti prietaiso tinkinimo nurodymai. Atnaujintos iliustracijos, kad atitiktų naują ženklimą. Visame vadove „durelės“ pakeistos į „apsauginis skydelis“. Pridėtas dviejų etherneto prievadų aprašas.
1000000109376 v00	2020 m. kovas	Pirmasis leidimas.

Turinys

Sistemos apžvalga	1
Papildomi ištekliai	1
Prietaiso aparatinė įranga	3
Integruota programinė įranga	5
Procesų valdymas	6
Sekos nustatymo protokolo schema	8
Kaip veikia sekos nustatymas	8
Sistemos konfigūracija	11
Naudotojo paskyroms keliami reikalavimai	11
„BaseSpace“ sekos centro ir „Proactive Support“ konfigūravimas	13
Numatytojo išvesties aplanko vietos nurodymas	15
Pasirinktinių atskaitinių genomų importavimas	18
Bazinių triukšmo failų importavimas	19
Vykdymo režimo konfigūravimas	20
Prietaiso tinkinimas	21
Eksploatacinės medžiagos ir įranga	24
Sekos nustatymo eksploatacinės medžiagos	24
Pagalbinės eksploatacinės medžiagos	28
Pagalbinė įranga	29
Protokolas	31
Sekos nustatymo aspektai	31
Sekos nustatymo vykdymo planavimas „BaseSpace“ sekos centre	32
Kasetės maišelyje ir pratekamosios kiuvetės atšildymas	41
Bibliotekų skiedimas	43
Eksploatacinių medžiagų įdėjimas į kasetę	45
Sekos nustatymo vykdymo paleidimas	47
Sekos nustatymo išvestis	56
Analizės realiuoju laiku apžvalga	56
Analizės realiuoju laiku darbo eiga	58
Sekos nustatymo išvesties failai	62
DRAGEN antrinės analizės išvesties failai	63
DRAGEN antrinės analizės išvesties aplanko struktūra	72
Priežiūra	76
Vietos standžiajame diske atlaisvinimas	76
Programinės įrangos naujinimas	76
DRAGEN darbo eiga ir licencijos atnaujinimas	78

Oro filtro keitimas	80
Trikčių šalinimas	82
Klaidų pranešimų šalinimas	82
Eksploatacinių medžiagų grąžinimas į laikymo vietą	83
Vykdymo atšaukimas	83
Pakartotinis vykdymo įtraukimas į eilę	84
Prietaiso išjungimas ir įjungimas	84
Sistemos patikros atlikimas	85
Gamyklinių nuostatų atkūrimas	86
Įdiegto atvaizdžio fiksavimas	86
Užfiksuoto atvaizdžio atkūrimas	86
Ištekliai ir literatūra	88
2 v. mėginių lapo nuostatos	88
Tamsiojo ciklo sekos nustatymas	101
Indeksas	104
Techninė pagalba	108

Sistemos apžvalga

„Illumina® NextSeq™ 1000“ sekos nustatymo sistema ir „Illumina® NextSeq™ 2000“ sekos nustatymo sistema suteikia galimybę taikyti NGS¹ tikslinės vietos metodą. Šiame ekonomiškame stacionariame prietaise integruota praktiniam darbui skirta sistema ir „Illumina“ sekos nustatymo technologijos, pasižyminčios toliau nurodytomis funkcijomis.

- **Pasiekiamumas ir patikimumas** – „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ turi vietinės DRAGEN analizės ir denatūravimo bei skiedimo prietaise funkcijas. Sistemoje integruotas atvaizdavimo modelis, o eksploatacinėse medžiagose integruoti skysčių komponentai, todėl prietaiso priežiūra atliekama paprasčiau.
- **Eksploatacinių medžiagų įdėjimas vienu veiksmu** – vienkartinė kasetė iš anksto užpildyta visais reagentais, reikalingais vykdymo procedūrai atlikti. Biblioteka ir pratekamoji kiuvetė iš karto įdedamos į kasetę, kuri tada įdedama į prietaisą. Integruotas identifikavimas leidžia tiksliai atlikti stebėjimą.
- **„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ programinė įranga** – integruotų programinės įrangos valdiklių paketas valdo prietaiso operacijas, apdoroja vaizdus ir generuoja bazių priskyrimus.
 - **Režimas „Cloud“ (debesis)** – planuokite vykdymą, „BaseSpace“ sekos centre naudodami prietaiso paleidimo sąranką. Pasirinkta analizės darbo eiga automatiškai paleidžiama debesyje. Debesyje taip pat pateikiami vykdymo duomenys ir analizės rezultatai.
 - **Režimas „Hybrid“ (mišrusis)** – planuokite vykdymą, „BaseSpace“ sekos centre naudodami prietaiso paleidimo sąranką. Tada pasirinkta analizės darbo eiga paleidžiama per prietaiso DRAGEN.
 - **Režimas „Local“ (vietinis)** – planuokite vykdymą, vietoje naudodami 2 v. mėginių lapą. Pasirinkta analizės darbo eiga automatiškai paleidžiama per prietaiso DRAGEN.
 - **Režimas „Standalone“ (autonominis)** – planuokite vykdymą be mėginių lapo.

Šioje dalyje apžvelgiama sistema, įskaitant informaciją apie aparatinę įrangą, programinę įrangą ir duomenų analizę. Joje taip pat surinktos pagrindinės sąvokos ir terminai, vartojami šiuose dokumentuose. Išsamias specifikacijas, duomenų lapus, programas ir susijusius produktus rasite [„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų gaminio puslapyje](#) „Illumina“ svetainėje.

Papildomi ištekliai

[„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų pagalbos puslapiuose](#), esančiuose „Illumina“ svetainėje, pateikiama papildomų sistemos išteklių. Šie ištekliai apima programinę įrangą, mokymą, suderinamus produktus ir toliau nurodytus dokumentus. Naujausių versijų visada ieškokite

¹naujos kartos sekos nustatymas

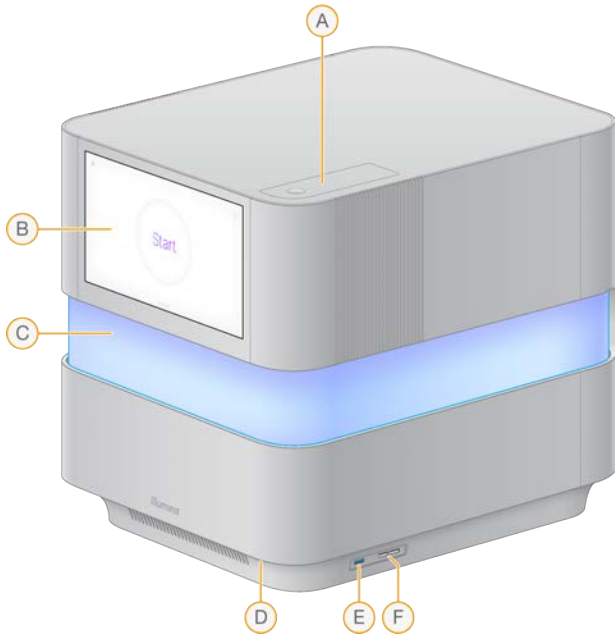
palaikymo puslapiuose.

Ištekliai	Aprašas
Pasirinktinio protokolo parinkiklis	Įrankis, generuojantis išsamias instrukcijas, pritaikytas jūsų bibliotekos paruošimo metodui, vykdymo parametrų ir analizės metodui, suteikiant galimybę tobulinti išsamumo lygį.
„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų saugos ir atitikties vadovas (dokumento Nr. 100000011928)	Pateikta informacija apie darbo saugos aspektus, atitikties pareiškimus ir prietaiso ženklimą.
RFID skaitytuvo modulio atitikties vadovas (dokumento Nr. 1000000002699)	Pateikta informacija apie prietaise esantį RFID skaitytuvą, atitikties sertifikatus ir saugos aspektus.
„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ bibliotekų denatūravimo ir skiedimo vadovas (dokumento Nr. 1000000139235)	Pateikti sekos nustatymo vykdymui skirtų, rankiniam denatūravimui ir skiedimui paruoštų bibliotekų bei pasirenkamo „PhiX“ kontrolinio mėginio paruošimo nurodymai.
„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ pasirinktinių pradmenų vadovas (dokumento Nr. 1000000139569)	Pateikta informacija apie „Illumina“ sekos nustatymo pradmenų pakeitimą pasirinktiniais sekos nustatymo pradmenimis.
„NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemos vietos paruošimo vadovas (dokumento Nr. 1000000109378)	Pateikti laboratorijų erdvės techniniai duomenys, elektros tinklo reikalavimai ir aplinkosaugos bei tinklo aspektai.
„BaseSpace“ žinynas (help.basespace.illumina.com)	Pateikta informacija apie „BaseSpace™“ sekos centro naudojimą ir galimas analizės parinktis.
Indekso adapterių telkimo vadovas (dokumento Nr. 1000000041074)	Pateiktos telkimo gairės ir dvigubo indeksavimo strategijos.
„Illumina“ adapterių sekos (dokumento Nr. 1000000002694)	Pateikti adapterio sekų, skirtų „Illumina“ bibliotekos paruošimo rinkiniams, sąrašai.

Prietaiso aparatinė įranga

„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemose yra maitinimo mygtukas, monitorius, būsenos juosta, eksploatacinių medžiagų skyrius ir USB prievadai.

1 pav. Išoriniai sistemos komponentai



- A. **Oro filtro skyrius** – galima pasiekti keičiamąjį oro filtrą.
- B. **Jutiklinis ekranas** – leidžia atlikti prietaiso konfigūravimą ir sąranką naudojant valdymo programinės įrangos sąsają.
- C. **Būsenos juosta** – sistemai pereinant darbo eigos etapus kinta apšvietimo spalva. Mėlyna ir violetinė spalvos nurodo sąveikos galimybę (pvz., prieš vykdymą atliekamos patikros), o daugiaspalvis apšvietimas nurodo svarbius įvykius ir duomenis (pvz., sekos nustatymo baigimą). Kritinės klaidos nurodomos raudona šviesa.
- D. **Maitinimo mygtukas** – juo valdomas prietaiso maitinimas; mygtukas nurodo, ar sistema įjungta (švyti), išjungta (nešvyti) arba išjungta, bet maitinimo kintamoji srovė tiekama toliau (mirksi).
- E. **3.0 USB prievadas** – išoriniam nešiojamajam diskui, skirtam duomenims perduoti, prijungti.
- F. **2.0 USB prievadai** – pelei ir klaviatūrai prijungti.

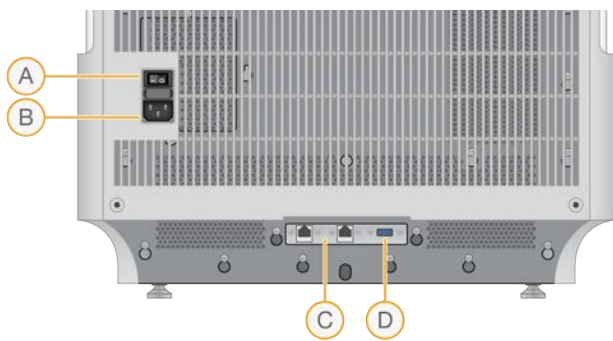
Maitinimas ir pagalbinės jungtys

Švelniai paslinkę prietaisą, galite pasiekti maitinimo jungiklį, USB prievadą ir kitas pagalbines jungtis galinėje prietaiso dalyje.

Prietaiso galinėje dalyje yra jungiklis ir įvestis, kuria valdomas prietaiso maitinimas, bei du eterneto prievadai pasirinktinei eterneto jungčiai. 3.0 USB prievadas suteikia galimybę prijungti išorinį nešiojamąjį diską duomenims perduoti (exFAT šioje „Linux“ platformoje nepalaikomas).

„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemose yra du eterneto prievadai, kurie padidina sistemos galimybes ir lankstumą. Pavyzdžiui, vieną eterneto prievadą galima naudoti ryšiui su vidiniu tinklo disku, o kitą prievadą – išoriniam ryšiui, pvz., su „BaseSpace“ sekos centru ar „Proactive Support“.

2 pav. Galinio skydelio komponentai

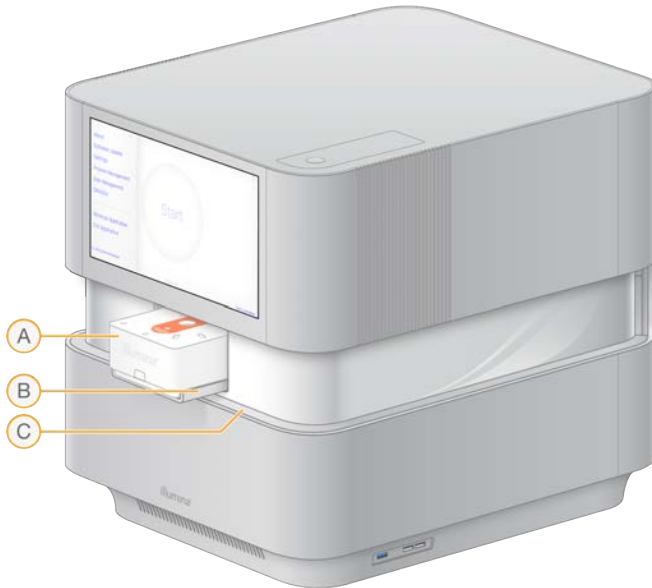


- A. **Svertinis jungiklis** – juo įjungiamas ir išjungiamas prietaiso maitinimas.
- B. **Maitinimo lizdas** – jungtis maitinimo laidui.
- C. **Eterneto prievadai (2)** – pasirinktinio eterneto kabelio jungtis.
- D. **3.0 USB prievadas** – išoriniam standžiajam diskui, skirtam duomenims perduoti, prijungti.

Eksploatacinių medžiagų skyrius

Eksploatacinių medžiagų skyriuje yra sekos nustatymo vykdymo kasetė, įskaitant pratekamąją kiuvetę ir atskiestą biblioteką.

3 pav. Įdėtas eksploatacinių medžiagų skyrius



- A. **Kasetė** – joje yra pratekamoji kiuvetė, biblioteka ir reagentai ir vykdymo metu surenkami naudoti reagentai.
- B. **Dėklas** – laiko kasetę nustatant seką
- C. **Apsauginis skydelis** – atveriamas, kad būtų galima pasiekti eksploatacinių medžiagų skyrių.

Integruota programinė įranga

Sistemos programinės įrangos rinkinys apima integruotas programas, kurios vykdo sekos nustatymą ir analizę.

- **„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga** – valdo prietaiso darbą ir pateikia sąsają sistemai konfigūruoti, sekos nustatymo vykdymui nustatyti ir vykdymo statistikai stebėti nustatant seką.
- **Analizė realiuoju laiku (RTA3)** – atliekama vaizdo analizė ir bazių priskyrimas vykdymo metu. Daugiau informacijos žr. dalyje [Sekos nustatymo išvestis 56 psl.](#)
- **Universalioji kopijavimo paslauga** – kopijuoja sekos nustatymo išvesties failus iš vykdymo aplanko į „BaseSpace“ sekos centrą (jei taikoma) ir išvesties aplanką, kuriame galite juos pasiekti.

Valdymo programinė įranga yra interaktyvi ir vykdo automatizuotus foninius procesus. Analizė realiuoju laiku ir universalioji kopijavimo paslauga vykdo tik foninius procesus.

Informacija apie sistemą

Viršutiniame kairiajame kampe pasirinkę valdymo programinės įrangos meniu, atidarysite skyrių „About“ (apie). Skyriuje „About“ (apie) pateikiama „Illumina“ kontaktinė informacija ir toliau nurodyta informacija apie sistemą.

- Prietaiso serijos numeris
- Kompiuterio pavadinimas
- Sistemos rinkinio versija
- Vaizdo OS versija
- Bendras vykdymų skaičius

Pranešimai ir įspėjimai

Pranešimo piktograma yra viršutiniame dešiniajame kampe. Atsiradus įspėjimui ar klaidai, dešinysis skydelis išstumiamas, kad būtų rodomi pranešimai. Bet kada pasirinkę šią piktogramą, galite peržiūrėti dabartinių arba ankstesnių įspėjimų ir klaidų pranešimų sąrašą.

- Į įspėjimus reikia atkreipti dėmesį, tačiau jiems esant vykdymas nestabdomas ir juos reikia tik patvirtinti.
- Esant klaidoms, prieš pradėdant ar tęsiant vykdymo procedūrą reikia imtis veiksmų.

Valdymo programinės įrangos sumažinimas

Sumažinkite valdymo programinę įrangą, kad galėtumėte pasiekti kitas programas. Pavyzdžiui, jei norite rasti išvesties aplanką failų naršyklėje arba mėginių lapą.

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Minimize Application** (sumažinti programą). Valdymo programinė įranga sumažinama.
2. Norėdami valdymo programinę įrangą padidinti, įrankių juostoje pasirinkite **NextSeq 1000/2000 Control Software** („NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga).

Procesų valdymas

Ekране „Process Management“ (procesų valdymas) rodomos laikinos serijos, saugomos čia: `/usr/local/illumina/runs`. Kiekviena serija identifikuojama pagal serijos datą, pavadinimą ir ID. Taip pat rodoma informacija apie kiekvieną seriją, pvz., „Run“ (serija), „Secondary Analysis“ (antrinė analizė), „Output Folder“ (išvesties aplankas) ir „Cloud“ (debesis) būseną. Pasirinkę seriją, galite peržiūrėti papildomą informaciją, įskaitant „Workflow“ (darbo eiga), „Average % Q30“ (vidutinis Q30 %), „Total Reads PF“ (bendrasis filtrą perėjusių nuskaitymų skaičius) ir „Total Yield“ (bendrasis kiekis). Jei norite panaikinti serijų ir atlaisvinti vietas, žr. [Vietos standžiajame diske atlaisvinimas 76 psl.](#) Norėdami pakartotinai į eilę įtraukti prietaise atliekamą analizę, žr. [Pakartotinis vykdymo įtraukimas į eilę 84 psl.](#)

„Status of Run“ (vykdymo būseną)

Šioje dalyje rodoma viena iš toliau nurodytų sekos nustatymo vykdymo būsenų.

- **In Progress** (vykdoma) – vykdomas sekos nustatymas.
- **Complete** (baigta) – sekos nustatymo vykdymas baigtas.
- **Stopped** (sustabdyta) – sekos nustatymo vykdymas buvo sustabdytas.
- **Errored** (įvyko klaida) – vykdant sekos nustatymą įvyko klaida.

„Status of Secondary Analysis“ (antrinės analizės būseną)

Šioje dalyje rodoma prietaise atliekamos DRAGEN antrinės analizės būseną. Jei analizė vyksta „BaseSpace“ sekos centre, rodoma N/A (netaikoma).

- **Not Started** (nepradėta) – DRAGEN analizė dar nepradėta.
- **In Progress** (vykdoma) – DRAGEN analizė vykdoma.
- **Stopped** (sustabdyta) – DRAGEN analizė sustabdyta.
- **Errored** (įvyko klaida) – įvyko DRAGEN analizės klaida.
- **Complete** (baigta) – DRAGEN analizė baigta.

„Status of Output Folder“ (išvesties aplanko būseną)

Šioje dalyje rodoma viena iš toliau nurodytų į išvesties aplanką kopijuojamų failų būsenų.

- **In Progress** (vykdoma) – failai kopijuojami į išvesties aplanką.
- **Complete** (baigta) – failai sėkmingai nukopijuoti į išvesties aplanką.

„Status of Cloud“ (debesies būseną) („BaseSpace“ sekos centras)

Šioje dalyje rodoma viena iš toliau nurodytų į „BaseSpace“ sekos centrą per debesį nusiunčiamų failų būseną.

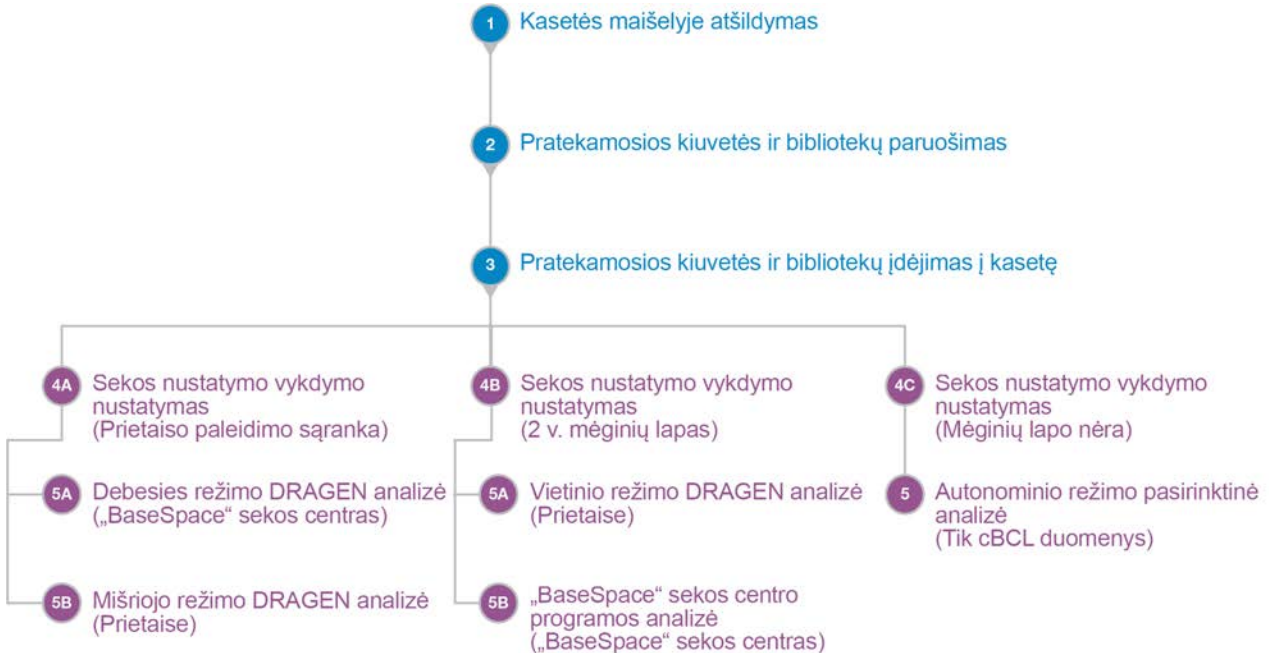
- **In Progress** (vykdoma) – valdymo programinė įranga nusiunčia failus į „BaseSpace“ sekos centrą.
- **Complete** (baigta) – failai sėkmingai nusiųsti į „BaseSpace“ sekos centrą.

Būsenos problemos šalinimas

- Jei vykdoma serija, uždarykite ekraną „Process Management“ (procesų valdymas), palaukite maždaug penkias minutes ir vėl jį atidarykite.
- Jei serija nevykdoma, išjunkite ir įjunkite prietaisą, tada iš naujo atidarykite ekraną „Process Management“ (procesų valdymas). Žr. [Prietaiso išjungimas ir įjungimas 84 psl.](#)

Sekos nustatymo protokolo schema

Toliau pateiktoje schemoje parodytas sekos nustatymo protokolas naudojant „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“.



Kaip veikia sekos nustatymas

„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų sekos nustatymo procesas apima sankaupų generavimą, sekos nustatymą ir analizės procedūras. Kiekvienas veiksmas atliekamas automatiškai vykdant sekos nustatymą. Priklausomai nuo sistemos konfigūracijos, baigus vykdyti tolesnę analizę atliekama ne prietaise.

Sankaupų generavimas

Biblioteka¹ automatiškai denatūruojama į atskiras gijas ir toliau atskiedžiama pačiame prietaise. Generuojant sankaupas atskiros DNR molekulės prisijungia prie pratekamosios kiuvetės paviršiaus ir amplifikuojamos, kad sudarytų sankaupas². Sankaupų generavimas trunka ~4 val.

¹DNR arba RNR mėginys, prie kurio pridėta adapterių sekoms nustatyti. Paruošimo metodai skiriasi.

²Pratekamojoje kiuvetėje laikomų DNR gijų, generuojančių vieną sekos nuskaitymą, kloninė grupė. Kiekviena pratekamojoje kiuvetėje laikoma DNR grupė sukuria šabloną, kuris amplifikuojamas tol, kol sankaupą sudaro šimtai arba tūkstančiai kopijų. Pavyzdžiui, pratekamoji kiuvetė su 10 000 sankaupų sukuria 10 000 atskirų nuskaitymų arba 20 000 pagal galą suporuotų nuskaitymų.

Sekos nustatymas

Sankaupos atvaizduojamos naudojant dviejų kanalų chemines savybes – vieno žalio kanalo ir vieno mėlyno kanalo – norint užkoduoti keturių nukleotidų duomenis. Atvaizdavus vieną pratekamosios kiuvetės išklotinę, atvaizduojama kita išklotinė. Šis procesas kartojamas per kiekvieną sekos nustatymo ciklą (~5 min. per ciklą). Atlikusi vaizdų analizę, analizės realiuoju laiku programinė įranga vykdo bazių priskyrimą¹, filtravimą ir kokybės įvertinimą.²

Pirminė analizė

Vykdamas seriją, valdymo programinė įranga automatiškai perduoda bazių priskyrimo failus³ (*.cbcl) į nurodytą duomenų analizės išvesties aplanką. Vykdamas sekos nustatymą analizės realiuoju laiku (RTA3) programinė įranga atlieka vaizdų analizę, bazių priskyrimą ir išskirstymą⁴. Baigus nustatyti seką pradedama antrinė analizė. Antrinės duomenų analizės metodas priklauso nuo turimos programos ir sistemos konfigūracijos.

Antrinė analizė

„BaseSpace“ sekos centras – tai „Illumina“ debesų kompiuterijos aplinka, skirta vykdymams stebėti, duomenų analizei atlikti, laikyti ir bendradarbiauti. Joje laikomos DRAGEN ir „BaseSpace“ sekos centro programos, palaikančios bendrus sekos nustatymo analizės metodus.

Kai baigiama pradinė sekos nustatymo analizė, DRAGEN atlieka antrinę analizę, naudodama vieną iš galimų analizės komandų grandinių.

Jei naudojamas debesies arba mišrusis režimas, DRAGEN iš „BaseSpace“ sekos centro prietaiso paleidimo sąrankos nuskaito mėginių lapą, referentinį genomą ir vykdymo įvesties failus. Kai naudojamas debesies režimas, cBCL duomenys automatiškai nusiunčiami į „BaseSpace“ sekos centrą, o šis paleidžia DRAGEN antrinę analizę. Kai naudojamas mišrusis režimas, DRAGEN antrinę analizę atliekama prietaise, o išvesties failus galima išsaugoti pasirinktame aplanke arba debesyje.

Jei naudojamas vietinis režimas, DRAGEN pateiktą mėginių lapą, referentinį genomą ir vykdymo įvesties failus nuskaito iš „NextSeq 1000“ bei „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų. DRAGEN antrinę analizę atliekama prietaise, o išvesties failai išsaugomi pasirinktame išvesties aplanke. Jei pasirinkta „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), analizę taip pat galima paleisti naudojant „BaseSpace“ sekos centro programas baigus nustatyti sekas.

Jei naudojate autonominį režimą, vykdymą nustatykite be mėginių lapo. Ši darbo eiga rekomenduojama pasirinktinėms analizės darbo eigoms, kurios pradedamos nuo cBCL duomenų.

¹Nustatoma išklotinėje esančios kiekvienos sankaupos bazė (A, C, G arba T) konkrečiame cikle.

²Apskaičiuojamas kiekvieno bazių priskyrimo kokybės prognozių rinkinys, tada, naudojant prognozės vertę, peržvelgiamas Q balas.

³Įtrauktas kiekvieno sekos nustatymo ciklo kiekvienos sankaupos bazių priskyrimas ir susietasis kokybės balas.

⁴Analizės procesas, diferencijuojantis kiekvienos telkinio bibliotekos nuskaitymus.

- Daugiau informacijos apie „BaseSpace“ sekos centrą rasite [„BaseSpace“ sekos centro internetiniame žinyne](#).
- Daugiau informacijos apie DRAGEN rasite [DRAGEN „Bio-IT“ platformos pagalbos puslapyje](#).
- Norėdami matyti visų programų apžvalgą, žr. [„BaseSpace“ programos](#).

Sistemos konfigūracija

Šioje dalyje pateikiami sistemos nustatymo nurodymai, įskaitant programinės įrangos nuostatų aprašus.

Šiais nurodymais pirmiausia aprašoma valdymo programinė įranga bei pateikiama informacijos apie tinklo ir operacinės sistemos konfigūravimą.

i | Prietaise naudojant „Google Chrome“, paraginama atrakinti prisijungimo raktinę. Saugu šio raginimo nepaisyti ir jį atšaukti.

Naudotojo paskyroms keliami reikalavimai

Operacinėje sistemoje „Linux“ yra toliau nurodytos trys paskyros.

- root (superadministratorius)
- ilmnadmin (administratorius)
- ilmnuser (naudotojas)

Administratoriaus paskyra skirta tik sistemos naujinimams taikyti, pvz., „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinei įrangai naujinti, arba naudoti IT darbuotojams, prijungiantiems nuolatinį tinklo diską.

Visas kitas funkcijas, įskaitant sekos nustatymą, atlikite prisijungę prie naudotojo paskyros.

Slaptažodžiams keliami reikalavimai

Baigęs įrengti prietaisą vietinis techninės priežiūros inžinierius pakeičia visų trijų paskyrų slaptažodžius. Kiekvieną slaptažodį atnaujinkite kas 180 dienų, kai būsite paraginti.

1 lent. Numatytosios slaptažodžių strategijos

Strategija	Nuostata
Slaptažodžių retrospektyvos įgalinimas	Prisimenami penki slaptažodžiai
Blokavimo slenkstinė vertė	Dešimt nesėkmingų prisijungimo bandymų
Minimalus slaptažodžio ilgis	Dešimt rašmenų
Minimali rašmenų įvairovė	Po tris skaitmenis, didžiąją raidę, mažąją raidę ir simbolį
Maksimalus pasikartojančių rašmenų skaičius	Trys rašmenys

Strategija	Nuostata
Slaptažodis turi atitikti sudėtingumo reikalavimus	Išjungta
Slaptažodžių saugojimas naudojant abipusį šifravimą	Išjungta

Naujo naudotojo pridėjimas

1. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
2. Pasirinkite maitinimo mygtuką, tada atidarykite „ilmnadmin“ išskleidžiamąjį sąrašą.
3. Pasirinkite **Account Settings** (paskyros nuostatos).
4. Pasirinkite **Unlock** (atrakinti), tada įveskite „ilmnadmin“ slaptažodį.
5. Pasirinkite **Add User** (pridėti naudotoją).
6. Pasirinkite paskyros tipą „Standard“ (standartinė) ir įveskite naują naudotojo vardą.
7. Pasirinkite **Set password now** (nustatyti slaptažodį dabar) ir įveskite slaptažodį.
8. Pasirinkite **Add** (pridėti).
Naujasis naudotojas pridedamas į sąrašą „Users“ (naudotojai).
9. Toliau nurodytu būtu naudotojui suteikite prieigą prie „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos.
 - a. Atidarykite terminalą.
 - b. Įveskite:

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <naujas naudotojo vardas>
```
 - c. Jei būsite paraginti, įveskite „ilmnadmin“ slaptažodį.
10. Norėdami įsitikinti, kad naudotojo teisės nustatytos sėkmingai, atlikite toliau nurodytus veiksmus.
 - a. Prisijunkite prie naujosios naudotojo paskyros.
 - b. Pereikite prie „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos.
 - c. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
 - d. Įsitikinkite, kad srityje „Default Output Folder“ (numatytasis išvesties aplankas) galite pasirinkti ir įrašyti išvesties aplanko kelią.
Jei išvesties aplanko kelią galite pasirinkti ir įrašyti be klaidų, teisės sėkmingai nustatytos.

Slaptažodžio nustatymas iš naujo

Šiame skyriuje išsamiai aprašoma, kaip iš naujo nustatyti „ilmnuser“, „ilmnadmin“ arba „root“ slaptažodį. Slaptažodžio atkurti negalima. Iš naujo nustačius slaptažodį neapsaugoma nuo paskyros blokavimo, kai per daug kartų bandomas neteisingas slaptažodis. Kad galėtumėte iš naujo nustatyti slaptažodį arba prisijungti, turite palaukti 10 minučių.

„ilmnuser“ slaptažodžio nustatymas iš naujo

„ilmnuser“ slaptažodį iš naujo nustatyti galite, jei žinote „ilmnadmin“ arba „root“ slaptažodį.

1. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
2. Atidarykite terminalą.
3. Įveskite `sudo passwd ilmnuser`.
4. Paraginti įveskite „ilmnadmin“ slaptažodį.
5. Paraginti įveskite „ilmnuser“ slaptažodį.
6. Paraginti dar kartą surinkite naują „ilmnuser“ slaptažodį, kad jį patvirtintumėte.

„ilmnadmin“ slaptažodžio nustatymas iš naujo

„ilmnadmin“ slaptažodį iš naujo nustatyti galite, jei žinote „root“ slaptažodį.

1. Prisijunkite prie „root“.
2. Atidarykite terminalą.
3. Norėdami pakeisti „ilmnadmin“ slaptažodį, įveskite `passwd ilmnadmin`, o norėdami pakeisti „ilmnuser“ slaptažodį, įveskite `passwd ilmnuser`.
4. Paraginti įveskite naują slaptažodį.
5. Paraginti dar kartą surinkite naują slaptažodį, kad jį patvirtintumėte.

„Root“ slaptažodžio nustatymas iš naujo

Norėdami iš naujo nustatyti „root“ slaptažodį, pasirinkite vieną iš toliau pateiktų variantų.

- Jei žinote slaptažodį, naudotą užfiksuojant paskutinį OS vaizdą, atkurkite tą įrašytą vaizdą.
- Jei slaptažodžio neprisimenate, kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos skyrių.

„BaseSpace“ sekos centro ir „Proactive Support“ konfigūravimas

Norėdami savo sistemoje sukonfigūruoti „BaseSpace“ sekos centrą ir „Proactive Support“, vadovaukitės toliau pateiktais nurodymais. Norėdami nustatyti „BaseSpace“ sekos centro paskyrą, žr. [„BaseSpace“ sekos centro internetinį žinyną](#).

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų „BaseSpace“ sekos centro ir „Proactive Support“ nuostatų parinkčių.

Parinktis	Aprašas ir reikalavimai
„Proactive Support Only“ (tik „Proactive Support“)*	Prietaiso našumo duomenis siųsti įmonei „Illumina“, kad greičiau pašalintumėte triktis. Reikalingas interneto ryšys.
„Proactive and Run Monitoring“ („Proactive“ ir vykdymų stebėjimas)	Siųsti „InterOp“ ir žurnalo failus „BaseSpace“ sekos centrui, kad būtų nuotoliniu būdu stebimi vykdymai. Ši parinktis yra numatytoji. Reikalingi „BaseSpace“ sekos centro paskyra ir interneto ryšys.
„Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas)	Siųsti „InterOp“ failus, žurnalo failus ir vykdymų duomenis „BaseSpace“ sekos centrui, kad jie būtų nuotoliniu būdu stebimi bei analizuojami. Reikalingi „BaseSpace“ sekos centro paskyra, interneto ryšys ir mėginių lapas.
None (nėra)	Vykdytus atjungti nuo „BaseSpace“ sekos centro paskyrų ir nesiųsti prietaiso našumo duomenų, kad būtų taikoma „Illumina Proactive Support“.

* Nuostatos pavadinimas programinės įrangos sąsajoje gali skirtis nuo šiame vadove pateikiamo pavadinimo – tai priklauso nuo valdymo programinės įrangos versijos.

Pasirinkus bet kurią parinktį, išskyrus „None“ (nėra), „Proactive Support“ yra įjungta. Tai yra nemokama paslauga, kurią naudodami galite savo našumo duomenis matyti „MyIllumina“ kliento ataskaitų srityje, o „Illumina“ techninės priežiūros komandos gali greičiau pašalinti problemas.



Parinktys „Proactive“ ir „Run Monitoring“ (vykdymų stebėjimas) yra įjungtos pagal numatytąsias nuostatas. Norėdami šios paslaugos atsisakyti, pasirinkite **None** (nėra).

3. Jei atlikdami 2 veiksmą pasirinkote „None“ (nėra), norėdami baigti, pasirinkite **Save** (įrašyti). Kitu atveju pereikite prie 6 veiksmo.
4. Sąraše „Hosting Location“ (prieglobos vieta) pasirinkite „BaseSpace“ sekos centro serverio, į kurį nusiunčiami duomenys, vietą.
Būtinai naudokite savo regionui artimiausią prieglobos vietą.
5. Jei turite įmonės prenumeratą, įveskite domeno pavadinimą (URL), naudojamą su jūsų „BaseSpace“ sekos centro paskyra.
Pavyzdžiui, <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
6. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Numatytojo išvesties aplanko vietos nurodymas

Vadovaudamiesi šioje dalyje pateiktais nurodymais, galite pasirinkti numatytąją išvesties aplanko vietą. Galite keisti kiekvieno vykdymo išvesties aplanką, vykdymą nustatydami. Programinė įranga į išvesties aplanką įrašo cBCL failus¹ ir kitus vykdymo duomenis.

Išvesties aplankas yra būtinas, nebent „BaseSpace“ sekos centre sukonfigūruota parinktis „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas). Kaip numatytąjį išvesties aplanką naudokite tik išorinį arba tinklo diską. Naudojant prietaise esantį išvesties aplanką, suprastėja sekos nustatymo vykdymas.

Išvesties aplanko nurodymas išoriniame diske

Norėdami kaip numatytąjį išvesties aplanką pasirinkti išorinį nešiojamąjį diską, vadovaukitės toliau pateiktais nurodymais. Rekomenduojama naudoti autonominį diską, suformatuotą NFT arba GPT / EXTA formatu.

1. Išorinį nešiojamąjį diską prijunkite prie vieno iš 3.0 USB prievadų, esančių prietaiso šone arba galinėje dalyje.
Įsitikinkite, kad išoriniam nešiojamajam diskui suteiktos rašymo teisės. Jei jis nustatytas kaip „Read Only“ (tik skaityti), valdymo programinė įranga negalės jame įrašyti duomenų.
2. Išoriniame nešiojamajame diske sukurkite naują aplanką. Šis aplankas taps numatytojo išvesties aplanko vieta.
Kad „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga vietą atpažintų kaip išorinį nešiojamąjį diską, reikia bent dviejų įdėtinių aplankų.
3. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
4. Dalyje „Default Output Folder“ (numatytasis išvesties aplankas) pasirinkite esamo aplanko kelią ir išoriniame nešiojamajame diske nueikite iki naujo aplanko.
5. **[Pasirenkama]** Jei dalyje „Run Mode“ (vykdymo režimas) pasirinkote **Online Run Setup** (internetinė vykdymo sąranka), pasirinkite vieną iš parinkčių išskleidžiamajame meniu „Hosting Location“ (prieglobos vieta).
6. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Numatytojo išvesties aplanko tinklo diske nurodymas

Norėdami prijungti nuolatinį tinklo diską ir nurodyti numatytojo išvesties aplanko vietą, vadovaukitės toliau pateiktais nurodymais. „Server Message Block“ (SMB) / „Common Internet File Systems“ (CIF) ir „Network File System“ (NFS) yra vieninteliai palaikomi būdai, kaip prie „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ prijungti nuolatinį tinklo diską.

¹Įtrauktas kiekvieno sekos nustatymo ciklo kiekvienos sankaupos bazių priskyrimas ir susietasis kokybės balas.

SMB / CIFS prijungimo nurodymai

1. Jei „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga atidaryta, pasirinkite **Minimize Application** (sumažinti programinę įrangą).
2. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
3. Pasirinkite **Applications** (programos).
4. Dalyje „Favorites“ (parankiniai) pasirinkite **Terminal** (terminalas).
5. Įveskite `sudo touch /root/.smbcreds` ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
6. Kai būsite paraginti, įveskite „ilmnadmin“ slaptažodį.
„ilmnadmin“ slaptažodį reikia įvesti kiekvieną kartą, kai naudojate komandą `sudo`.
7. Įveskite `sudo gedit /root/.smbcreds` ir pasirinkite **Enter** (įvesti), kad atidarytumėte tekstinį failą pavadinimu „smbcreds“.
8. Kai atidaromas tekstinis failas `.smbcreds`, įveskite prisijungimo prie tinklo kredencialus toliau nurodytu formatu.

```
username=<naudotojo vardas>  
password=<slaptažodis>  
domain=<domeno_pavadinimas>
```

Įvedant naudotojo vardo, slaptažodžio ir domeno kredencialus, skliausteliai nereikalingi. Domeno kredencialą reikia įvesti tik tada, jei nuotolinė paskyra priklauso domenui.
9. Pasirinkite **Save** (įrašyti) ir išeikite iš failo.
10. Identifikuokite savo SMB / CIF serverio pavadinimą ir bendrinimo pavadinimą.
Serverio pavadinime ir bendrinimo pavadinime negali būti tarpų, pvz., kaip nurodyta toliau.
Serverio pavadinimas: 192.168.500.100 arba Myserver-myinstitute-03
Bendrinimo pavadinimas: /share1
11. Terminale įveskite `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` ir pasirinkite **Enter** (įvesti), kad tekstiniam failui `.smbcreds` suteiktumėte skaitymo prieigą.
12. Įveskite `sudo mkdir /mnt/<vietinis pavadinimas>`.
<vietinis pavadinimas> – tai tinklo diske esančio naujo katalogo pavadinimas, kuriame gali būti tarpų. Tai yra katalogas, kuris bus rodomas prietaise.
13. Pasirinkite **Enter** (įvesti).
14. Įveskite `sudo gedit /etc/fstab` ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
15. Kai atidaromas failas „fstab“, jo pabaigoje įveskite toliau pateiktą tekstą ir pasirinkite **Enter** (įvesti).

```
//<Serverio pavadinimas>/<Bendrinimo pavadinimas> /mnt/<vietinis pavadinimas> cifs  
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_  
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
```
16. Pasirinkite **Save** (įrašyti) ir išeikite iš failo.

17. Terminale įveskite `sudo mount -a -vvv` ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
Tada tinklo diskas bus prijungtas kaip `/mnt/<vietinis pavadinimas>`.
18. Norėdami įsitikinti, kad prijungta sėkmingai, įveskite `<df | grep <vietinis pavadinimas>>` ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
Turėtų būti rodomas failų bendrinimo pavadinimas.
19. Įveskite `sudo mkdir /mnt/<vietinis pavadinimas>/<išvesties katalogas>`, kad vietiniame kataloge sukurtumėte poaplanį. `<išvesties katalogas>` – tai jūsų numatytojo išvesties aplanko vieta.
Kad „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga vietą atpažintų kaip prijungtą tinklo diską, reikia bent dviejų įdėtinių aplankų.
20. Išjunkite ir vėl įjunkite prietaisą. Žr. [Prietaiso išjungimas ir įjungimas 84 psl.](#)
21. Nuolatinį prijungtą tinklo diską nustatykite kaip numatytąjį išvesties aplanką. Žr. [Kaip nurodyti, kad nuolatinis prijungtas tinklo diskas būtų numatytasis išvesties aplankas 18 psl.](#)

NFS prijungimo nurodymai

1. Jei „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga atidaryta, pasirinkite **Minimize Application** (sumažinti programinę įrangą).
2. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
3. Identifikuokite savo NFS serverio pavadinimą.
Serverio pavadinime negali būti tarpų, pvz., kaip nurodyta toliau.
Serverio pavadinimas: 192.168.500.100 arba Myserver-myinstitute-03
4. Pasirinkite **Applications** (programos).
5. Dalyje „Favorites“ (parankiniai) pasirinkite **Terminal** (terminalas).
6. Įveskite `sudo mkdir /mnt/<vietinis pavadinimas>` ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
`<vietinis pavadinimas>` – tai tinklo diske esančio naujo katalogo pavadinimas.
7. Įveskite `sudo gedit /etc/fstab` ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
8. Kai atidaromas failas „fstab“, įveskite toliau pateiktą tekstą ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
`Serverio pavadinimas:/share //mnt/<vietinis pavadinimas> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0`
9. Pasirinkite **Save** (įrašyti) ir išeikite iš failo.
10. Terminale įveskite `sudo mount -a -vvv` ir pasirinkite **Enter** (įvesti).
Tinklo diskas tada bus prijungtas šioje aplanko `<vietinis pavadinimas>` vietoje: `/mnt/directory`.
11. Aplanke `<vietinis pavadinimas>` sukurkite naują `<poaplanį>`. Šis poaplanis – tai jūsų numatytojo išvesties aplanko vieta.
Kad „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga vietą atpažintų kaip prijungtą tinklo diską, reikia bent dviejų įdėtinių aplankų.

12. Išjunkite ir vėl įjunkite prietaisą. Žr. [Prietaiso išjungimas ir įjungimas 84 psl.](#)
13. Nuolatinį prijungtą tinklo diską nustatykite kaip numatytąjį išvesties aplanką. Žr. [Kaip nurodyti, kad nuolatinis prijungtas tinklo diskas būtų numatytasis išvesties aplankas 18 psl.](#)

Kaip nurodyti, kad nuolatinis prijungtas tinklo diskas būtų numatytasis išvesties aplankas

1. Prisijunkite prie „ilmnuser“.
2. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
3. Dalyje „Default Output Folder“ (numatytasis išvesties aplankas) pasirinkite nuolatinį prijungtą tinklo diską, esantį čia: /mnt/<vietinis pavadinimas>/<išvesties katalogas>.
4. **[Pasirenkama]** Jei dalyje „Run Mode“ (vykdymo režimas) pasirinkote **Online Run Setup** (internetinė vykdymo sąranka), pasirinkite vieną iš parinkčių išskleidžiamajame meniu „Hosting Location“ (prieglobos vieta).
5. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Pasirinktinių atskaitinių genomų importavimas

Naujus pasirinktinius atskaitinius genomus galima importuoti tik naudojant administratoriaus paskyrą. Visų suderinamų atskaitinių genomų sąrašą rasite apsilankę „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ produktų suderinamumo puslapyje.

1. Atskaitinį genomą sukurkite naudodami programą „Reference Builder for Illumina Instruments BaseSpace Sequence Hub“. Norėdami sužinoti daugiau, žr. *Programos „Reference Builder for Illumina Instruments“ 1.0.0 v. internetinį žinyną.*
2. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **Process Management** (procesų valdymas).
3. Įsitikinkite, kad nevykdomas sekos nustatymas ar antrinės analizės prietaise.
4. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Minimize Application** (sumažinti programą).
5. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
6. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **DRAGEN**.
7. Dalyje „Genome“ (genomas) pasirinkę **View Installed Genomes** (peržiūrėti įdiegtus genomus), galėsite peržiūrėti visų tuo metu įdiegtų „Illumina“ ir pasirinktinių genomų sąrašą.
8. Uždarykite modulį.
9. Dalyje „Import New Reference Genomes“ (importuoti naujų atskaitinių genomų) pasirinkite **Choose** (pasirinkti), nešiojamajame arba prijungtame tinklo diske nueikite iki atskaitinio geno failo (*.tar.gz) ir pasirinkite **Open** (atidaryti).
10. Pasirinkite **Import** (importuoti).

Bazinių triukšmo failų importavimas

Jei DRAGEN gausinimo darbo eigą naudojate somatiniu režimu, naudodami bazinį triukšmo failą galite išfiltruoti sekos nustatymo ar sisteminį triukšmą. „Illumina“ [pagalbos svetainėje](#) galite atsisiųsti standartinių pasirinktinių triukšmo failų arba galite sukurti pasirinktinį bazinį triukšmo failą.

Pasirinktinio bazinio triukšmo failo generavimas

Jei naudojate somatinį režimą, galite sugeneruoti pasirinktinį bazinį triukšmo failą. Bazinis triukšmo failas sukuriamas naudojant įprastus mėginius, kurie neatitinka tiriamojo, iš kurio mėginiai paimti. Rekomenduojamas įprastų mėginių skaičius yra 50.

Norėdami sugeneruoti pasirinktinį bazinį triukšmo failą, naudokite vieną iš toliau išvardytų metodų.

- Naudokite DRAGEN „Bio-IT“ platformos serverį. Žr. *DRAGEN „Bio-IT“ platformos internetinį žinyną* – jame pateikti nurodymai.
- Naudokite DRAGEN bazinių failų kūrimo priemonės programą, esančią „BaseSpace“ sekos centre. Norėdami generuoti FASTQ failus, naudokite BCL konvertavimo komandų grandinę, pasiekiamą „BaseSpace“ sekos centre atliekant prietaiso paleidimo sąranką. Kai sekos nustatymo vykdymas bus baigtas ir turėsite 50 mėginių, FASTQ failus įveskite į DRAGEN bazinių failų kūrimo priemonės programą.

Bazinių failų importavimas naudojant naudotojo sąsają

Importavę bazinį failą, somatiniu režimu naudodami DRAGEN gausinimo darbo eigą, galite nustatyti sekos nustatymo vykdymą.

1. Atsisiųskite standartinį bazinį failą iš „Illumina“ [pagalbos svetainės](#) arba pasirinktinį bazinį failą iš DRAGEN serverio arba DRAGEN bazinių failų kūrimo priemonės programos.
2. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Minimize Application** (sumažinti programą).
3. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
4. Pasirinkite **Applications** (programos), tada – **Favorites** (parankinės).
5. Pasirinkite **+Other Locations** (kitos vietos), tada – **Computer** (kompiuteris).
6. Dukart spustelėkite **usr**, tada – **local**.
7. Dukart spustelėkite **illumina**, tada – **aux_files**.
8. Bazinį triukšmo failą nuvilkite į **aux_files**.

Bazinių failų importavimas naudojant terminalą

Importavę bazinį failą, somatiniu režimu naudodami DRAGEN gausinimo darbo eigą, galite nustatyti sekos nustatymo vykdymą.

1. Atsisiųskite standartinį bazinį failą iš „Illumina“ [pagalbos svetainės](#) arba pasirinktinį bazinį failą iš DRAGEN serverio arba DRAGEN bazinių failų kūrimo priemonės programos.

2. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Minimize Application** (sumažinti programą).
3. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
4. Pasirinkite **Applications** (programos).
5. Dalyje „Favorites“ (parankiniai) pasirinkite **Terminal** (terminalas).
6. Įveskite šią komandą:

```
cp [/kelias/iki/bazinio failo] /usr/local/illumina/aux_files
```

Vykdymo režimo konfigūravimas

Vykdymo režimas taikomas visoms serijoms ir nustato, kur įvesti vykdymo parametrus bei kaip analizuoti duomenis.

Režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis)

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Dalyje „BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support“ („BaseSpace“ sekos centro paslaugos ir „Proactive Support“) pasirinkite **Online Run Setup** (internetinė vykdymo sąranka).
3. Tinkamai sukonfigūruokite papildomas nuostatas, pasirinkdami toliau nurodytas parinktis.
 - a. **Proactive and Run Monitoring** („Proactive“ ir vykdymų stebėjimas) arba **Proactive, Run Monitoring and Storage** („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas)
 - b. Išskleidžiamasis meniu **Hosting Location** (prieglobos vieta).
 - c. **[Pasirenkama]** įveskite **Private Domain Name** (privačiojo domeno pavadinimą).
4. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Vietinis arba autonominis režimas

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Dalyje „BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support“ („BaseSpace“ sekos centro paslaugos ir „Proactive Support“) pasirinkite **Local Run Setup** (vietinė vykdymo sąranka).
3. Tinkamai sukonfigūruokite papildomas nuostatas, pasirinkdami toliau nurodytas parinktis.
 - a. **Proactive Support Only** (tik „Proactive Support“), **Proactive and Run Monitoring** („Proactive“ ir vykdymų stebėjimas), **Proactive, Run Monitoring and Storage** („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas) arba **None** (nėra).



„BaseSpace“ sekos centras pakartotinio įtraukimo į eilę funkciją leidžia naudoti tik pasirinkus **Proactive, Run Monitoring and Storage** („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas). Netinkamo mėginių lapo atveju galėsite pakoreguoti mėginių lapą ir pakartotinai į eilę įtraukti išskirstymo analizę. Norėdami sužinoti apie pakartotinio įtraukimo į eilę funkciją prietaise, žr. [Pakartotinis vykdymo įtraukimas į eilę 84 psl.](#)

- b. Išskleidžiamasis meniu **Hosting Location** (prieglobos vieta).

c. **[Pasirenkama]** Įveskite **Private Domain Name** (privačiojo domeno pavadinimą).

4. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Mėginių lapo aspektai naudojant vietinį arba autonominį režimą

Jei norite atlikti analizę naudodami DRAGEN, turite naudoti mėginių lapo 2 v. failo formatą. Mėginių lapo 2 v. failo formatas taip pat suderinamas su „BaseSpace“ sekos centro programomis, kuriose neįjungta DRAGEN funkcija. Informacijos apie mėginių lapo kūrimą 2 v. failo formatu rasite dalyje [2 v. mėginių lapo nuostatos 88 psl.](#)

Prietaiso tinkinimas

Šioje dalyje pateikiama informacijos apie galimų tinkinimo nuostatų konfigūravimą. Norėdami nustatyti numatytąjį išvesties aplanką, žr. [Numatytojo išvesties aplanko vietos nurodymas 15 psl.](#)

Pavadinimo suteikimas prietaisui

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Pasirinkite „Instrument Nickname“ (prietaiso sutrumpintas pavadinimas) ir įveskite pageidaujama prietaiso pavadinimą.
Pavadinimas rodomas kiekvieno ekrano viršuje.
3. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Denatūravimo ir skiedimo nuostatų nustatymas

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Pasirinkite, ar bibliotekas automatiškai denatūruoti ir skiesti prietaise. Numatyta, kad naudojama nuostata, kurią pasirinkote ankstesniam vykdymui atlikti.
 - Norėdami bibliotekas automatiškai denatūruoti ir skiesti prietaise, pažymėkite žymimąjį langelį **Denature and Dilute On Board** (denatūruoti ir skiesti prietaise).
 - Norėdami bibliotekas denatūruoti ir skiesti rankiniu būdu, panaikinkite žymimojo langelio **Denature and Dilute On Board** (denatūruoti ir skiesti prietaise) žymėjimą.
Nurodymus, kaip bibliotekas denatūruoti ir skiesti rankiniu būdu, rasite „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ bibliotekų denatūravimo ir skiedimo vadove (dokumento Nr. 1000000139235).

Automatinio reagentų valymo nuostatos nustatymas

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Pasirinkite, ar sistema po kiekvieno vykdymo nepanaudotus reagentus automatiškai išvalo į panaudotų reagentų skyrių, kad būtų supaprastinamas reagentų atliekų išmetimas baigus vykdymus.

- Norėdami valyti automatiškai, pažymėkite žymimąjį langelį **Purge Reagent Cartridge** (išvalyti reagentų kasetę).
- Norėdami automatinį valymą praleisti, žymimojo langelio **Purge Reagent Cartridge** (išvalyti reagentų kasetę) žymėjimą panaikinkite (tai yra numatytoji nuostata).

Valant nepanaudotus reagentus, prie darbo eigos trukmės prisideda iki 2 valandų.

3. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Programinės įrangos naujinių konfigūravimas

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Toliau pasirinkite, ar norite, kad sistema automatiškai tikrintų, ar yra programinės įrangos naujinių.
 - Norėdami, kad būtų tikrinama automatiškai, pažymėkite žymimąjį langelį **Autocheck for software updates** (automatiškai tikrinti, ar yra programinės įrangos naujinių).
 - Norėdami tikrinti rankiniu būdu, panaikinkite žymimojo langelio **Autocheck for software updates** (automatiškai tikrinti, ar yra programinės įrangos naujinių) žymėjimą.

Norint automatiškai tikrinti, ar yra programinės įrangos naujinių, reikia interneto ryšio. Daugiau informacijos, kaip įdiegti programinės įrangos naujinius, žr. [Programinės įrangos naujinimas 76 psl.](#)

3. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Skystakristalio monitoriaus skaisčio keitimas

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Šliaužiklį „LCD Brightness“ (skystakristalio monitoriaus skaisčio) paslinkite iki norimo procento.
3. Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Tarpinio serverio nustatymas

Tarpinio serverio galimybė palaikoma tik naudojant 1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą.

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Settings** (nuostatos).
2. Pasirinkite esamas tarpinio serverio nuostatas, kad atidarytumėte ekraną „Proxy Settings“ (tarpinio serverio nuostatos).
3. Pažymėkite žymimąjį langelį **Enable Proxy** (įjungti tarpinį serverį), tada įveskite serverio IP prievado adresą.
4. **[Pasirenkama]** Jei tarpiniam serveriui reikalinga autentifikacija, pažymėkite žymimąjį langelį **Requires Username and Password** (reikia įvesti naudotojo vardą ir slaptažodį), tada įveskite naudotojo vardą ir slaptažodį.
5. Pasirinkite **Save** (įrašyti), kad tarpinio serverio informacija būtų įrašyta ir patvirtinta.
6. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų parinkčių.

- Pasirinkus **Yes, I'm Finished** (taip, baigiau), iš naujo paleidžiama sistema ir pritaikomos naujos tarpinio serverio nuostatos.
- Pasirinkus **No, Take Me Back** (ne, grąžinti atgal), grįžtama į ekraną „Settings“ (nuostatos). Naujos tarpinio serverio nuostatos įrašomos, tačiau nepritaikomos tol, kol iš naujo nepaleisite sistemos.

Eksploatacinės medžiagos ir įranga

Šioje dalyje išvardyti visi reagentų rinkinyje esantys elementai, kuriems taikomos laikymo sąlygos. Taip pat galite matyti, kokių pagalbinių eksploatacinių medžiagų ir įrangos turite įsigyti, kad galėtumėte užbaigti protokolą ir atlikti priežiūros bei trikčių šalinimo procedūras.

Sekos nustatymo eksploatacinės medžiagos

Sekoms nustatyti naudojant „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ reikia vieno vienkartinio „Illumina“ „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P2 reagentų rinkinio arba vieno vienkartinio „Illumina“ „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P3 reagentų rinkinio. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P2 reagentų rinkinys yra trijų dydžių (100 ciklų, 200 ciklų, 300 ciklų), o „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P3 reagentų rinkinys yra keturių dydžių (50 ciklų, 100 ciklų, 200 ciklų, 300 ciklų).

„NextSeq 1000“ sekos nustatymo sistema suderinama tik su „Illumina“ „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P2 reagentų rinkiniu.

Reagentų rinkinyje pateikiama sekoms nustatyti skirta kasetė ir pratekamoji kiuvetė. Kai gaunate „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P2 reagentų arba „Illumina“ „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P3 reagentų rinkinį, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

- Nedelsdami perkeltite komponentus į laikymo vietą, kurioje palaikoma nurodyta temperatūra, kad užtikrintumėte tinkamą veikimą.
- Neatidarykite jokio sidabrinės folijos maišelio, kol nebus nurodyta tai padaryti.
- Kasetes laikykite jų dėžutėje, kad neįplėstumėte ir nepradurtumėte folijos maišelio.
- Kasetes laikykite rodyklėmis į viršų.

 Jei kasetės etiketė nebus atsukta į viršų, tai turės neigiamos įtakos sekos nustatymo duomenims.

2 lent. Rinkinio komponentai

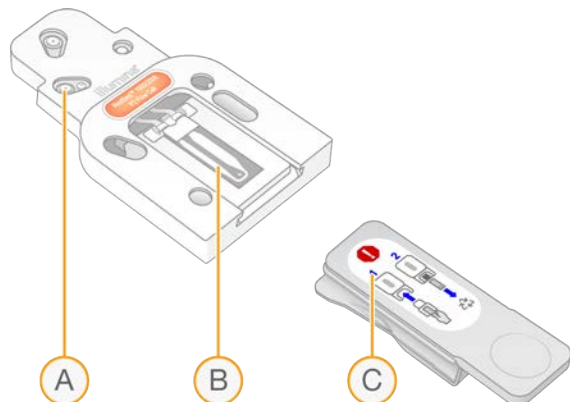
Eksploatacinė medžiaga	Kiekis	Laikymo temperatūra	Matmenys
Kasetė	1	Nuo –25 iki –15 °C	29,2 cm × 17,8 cm × 12,7 cm (11,5 col. × 7 col. × 5 col.)
Pratekamoji kiuvetė	1	Nuo 2 iki 8 °C*	21,6 cm × 12,7 cm × 1,9 cm (8,5 col. × 5 col. × 0,75 col.)
RSB su „Tween 20“	1	Nuo –25 iki –15 °C	4 cm × 6,6 cm × 5 cm (1,6 col. × 2,6 col. × 2 col.)

*Gabenama palaikant kambario temperatūrą.

Visos eksploatacinės medžiagos turi identifikatorius, skirtus stebėti ir suderinamumui užtikrinti. Kasetėje ir pratekamojoje kiuvetėje naudojama RFID¹.

Pratekamoji kiuvetė

Pratekamoji kiuvetė yra raštuota vieno takelio pratekamoji kiuvetė. Plastikinėje kasetėje sumontuota stiklinė pratekamoji kiuvetė. Pratekamąją kiuvetę dengia išsikišusi pilka ąselė, todėl kiuvetę saugu imti rankomis.



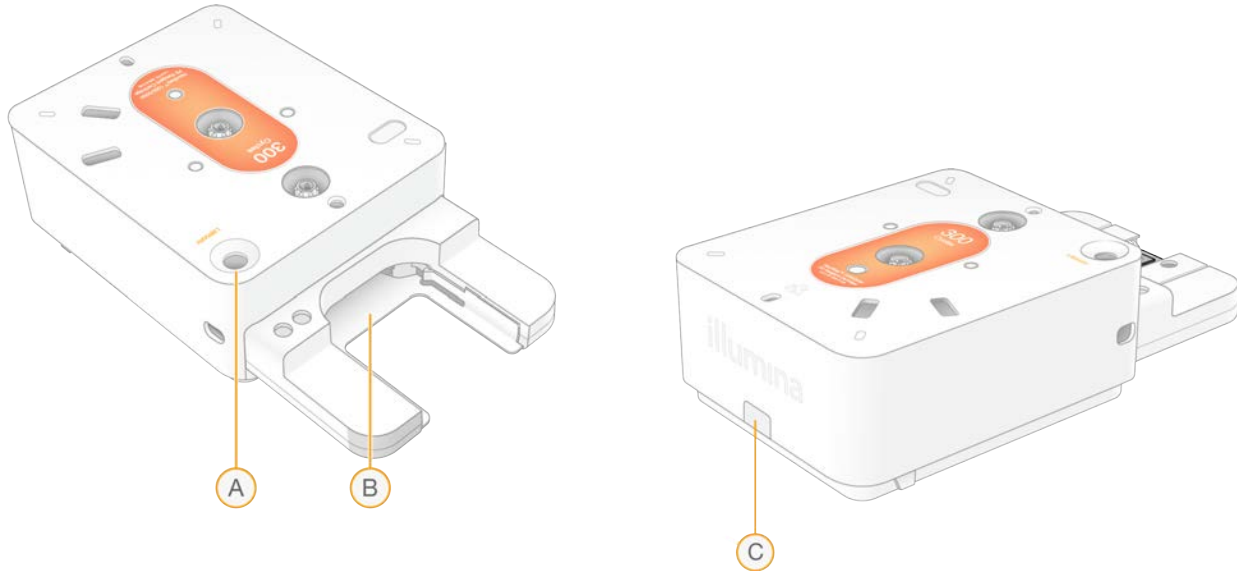
- A. Plastikinė kasetė
- B. Pratekamoji kiuvetė
- C. Pilka ąselė

Vidinis pratekamosios kiuvetės paviršius padengtas daugybe nanotelkinių. Nanotelkiniuose generuojamos sankaupos, kurias panaudojus vėliau atliekama sekos nustatymo reakcija. Šabloniškai išdėstyti nanotelkiniai padidina išvesties nuskaitymų skaičių ir duomenų kiekį.

¹identifikavimas radijo dažniu

Kasetė

Sekos nustatymo reagento kasetė iš anksto užpildoma sankaupomis, sekos nustatymo, suporuotais pagal galą ir indeksavimo reagentais. Folijoje sandariai uždarytas rezervuaras rezervuojamas bibliotekoms, o lizdas priekyje – pratekamajai kiuvetei.



- A. Bibliotekos rezervuaras
- B. Pratekamosios kiuvetės lizdas
- C. Išleidimo kamštis

Kasetėje yra visos eksploatacinės vykdymo medžiagos: reagentai, biblioteka ir pratekamoji kiuvetė. Biblioteka ir pratekamoji kiuvetė įdedamos į atšildytą kasetę, kuri tuomet įdedama į prietaisą. Pradėjus seriją, reagentai ir bibliotekos automatiškai perduodami iš kasetės į pratekamąją kiuvetę.

Kasetėje yra siurblių, vožtuvų ir įvairių sistemoje naudojamų skysčių, įskaitant apačioje esantį rezervuarą, kuriame surenkami panaudoti reagentai. Kasetė po vykdymo procedūros išmetama, todėl prietaiso plauti nebūtina.

Palaikomas ciklų skaičius

Kasetės etiketėje nurodoma, kiek ciklų analizuojama, o ne kiek ciklų atliekama. Pratekamoji kiuvetė suderinama su bet koku ciklų skaičiumi ir bet koku nuskaitymo tipu.

Visose 100 ciklų ir 200 ciklų kasetėse yra papildomi 38 ciklai. 300 ciklų kasetėje yra papildomi 27 ciklai. Pavyzdžiui, 300 ciklų kasetėje yra pakankamai reagentų, kad būtų galima atlikti iki 327 sekos nustatymo ciklų. Norėdami sužinoti apie sekos nustatymo ciklų skaičių, žr. [Nuskaitymo ciklų skaičius 32 psl.](#)

Simbolių aprašai

Toliau pateiktoje lentelėje aprašyti simboliai, kuriais ženklina eksploatacinės medžiagos arba eksploatacinių medžiagų pakuotės.

Simbolis	Aprašas
	Eksploatacinės medžiagos galiojimo pabaigos data. Norėdami gauti geriausių rezultatus, naudokite eksploatacines medžiagas, kol nesibaigė jų galiojimo data.
	Nurodomas gamintojas („Illumina“).
	Numatytoji paskirtis – tik moksliniai tyrimai (RUO).
	Nurodo dalies numerį, kad būtų galima identifikuoti eksploatacinę medžiagą. ¹
	Nurodo partijos kodą, kad būtų galima identifikuoti eksploatacinės medžiagos pagaminimo partiją ar seriją. ¹
	Nurodo, kad yra pavojus sveikatai.
	Laikymo temperatūros intervalas Celsijaus laipsniais. Laikykite eksploatacinę medžiagą nurodyto intervalo ribose. ²

Pagalbinės eksploatacinės medžiagos

Įsigykite toliau nurodytų eksploatacinių medžiagų, skirtų sekoms nustatyti ir priežiūrai atlikti.

Sekai nustatyti reikalingos eksploatacinės medžiagos

3 lent. Sekai nustatyti reikalingos eksploatacinės medžiagos

Eksploatacinė medžiaga	Tiekėjas	Paskirtis
Vienkartinės pirštinės be talko	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bendroji paskirtis.
„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P2 (v3) reagentų rinkinys	„Illumina“: katalogo Nr. 20046811 (100 ciklų) katalogo Nr. 20046812 (200 ciklų) katalogo Nr. 20046813 (300 ciklų)	Pristatoma reagento kasetė, pratekamoji kiuvetė ir „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ RSB su „Tween 20“ vienai serijai atlikti. Suderinama su „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“
„NextSeq 2000“ P3 reagentų rinkinys	„Illumina“: katalogo Nr. 20046810 (50 ciklų) katalogo Nr. 20040559 (100 ciklų) katalogo Nr. 20040560 (200 ciklų) katalogo Nr. 20040561 (300 ciklų)	Pristatoma reagento kasetė, pratekamoji kiuvetė ir „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ RSB su „Tween 20“ vienai serijai atlikti. Suderinama tik su „NextSeq 2000“.
Mikromėgintuvėliai, 1,5 ml	„Fisher Scientific“, katalogo Nr. 14-222-158, arba lygiaverčiai mažos jungiamosios gebos mėgintuvėliai	Bibliotekų praskiedimas iki įkėlimo koncentracijos.
Pipetės antgaliai, 10 µl	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekų atskiedimas.
Pipetės antgaliai, 20 µl	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekų atskiedimas ir įkėlimas.
Pipetės antgaliai, 200 µl	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekų atskiedimas.

Eksploatacinė medžiaga	Tiekėjas	Paskirtis
Pipetės antgaliai, 1000 µl	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekos rezervuaro folijos pradūrimas.
[Pasirinktinai] „PhiX Control v3“	„Illumina“, katalogo Nr. FC-110-3001	Tik „PhiX“ serijos tyrimo atlikimas arba „PhiX“ kontrolinės medžiagos pridėjimas.
[Pasirinktinai] Popieriniai rankšluosčiai	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Kasetės sausinimas po vandens vonelės.

Eksploatacinės medžiagos, kurių reikia priežiūros darbams atlikti

4 lent. Eksploatacinės medžiagos, kurių reikia priežiūros darbams atlikti

Eksploatacinė medžiaga	Tiekėjas	Paskirtis
Vienkartinės pirštinės be talko	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bendroji paskirtis.
„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ oro filtro keitimas*	„Illumina“, katalogo Nr. 20029759	Oro filtro keitimas kas šešis mėnesius.

* Prietaisas pristatomas su vienu įrengtu ir vienu atsarginiu oro filtru. Jeigu garantija netaikoma, atsarginės dalis tiekia naudotojas. Laikyti supakuotą, kol bus pradėtas naudoti.

Pagalbinė įranga

Įsigykite toliau nurodytą įrangą, skirtą sekoms nustatyti.

Elementas	Šaltinis	Paskirtis
Šaldiklis, nuo –25 iki –15 °C	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Kasetės laikymas.
Ledo kibiras	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekų atidėjimas iki sekos nustatymo.
Pipetė, 10 µl	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekų praskiedimas iki įkėlimo koncentracijos.
Pipetė, 20 µl	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekų atskiedimas iki įdėti tinkamos koncentracijos ir bibliotekų įdėjimas į kasetę.

Elementas	Šaltinis	Paskirtis
Pipetė, 200 µl	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Bibliotekų praskiedimas iki įkėlimo koncentracijos.
Šaldytuvas, nuo 2 iki 8 °C	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Pratekamosios kiuvetės laikymas arba kasetės atitirpinimas.
[Pasirenkama] Viena iš toliau nurodytų reguliuojamos temperatūros vandens vonelių arba jos atitikmuo, kurioje gali būti palaikoma 25 °C temperatūra.	<ul style="list-style-type: none"> • „Thermo Fisher Scientific“, katalogo Nr. TSCIR 35 • „Shel Lab“, katalogo Nr. SWBC22 	Kasetės atšildymas.
<ul style="list-style-type: none"> • „Thermo Scientific Precision“ 35 l cirkuliuojančio vandens vonelė (vienu metu telpa 5 kasetės) • SHEL LAB 22 l skaitmeninė cirkuliuojančios vandens vonelė (vienu metu telpa 3 kasetės) 		

Protokolas

Šioje dalyje pateikiamos nuoseklios instrukcijos, kaip vienu iš keturių vykdymo režimų (režimai „Cloud“ (debesis), „Hybrid“ (mišrusis) ir „Local“ (vietinis) naudoja DRAGEN arba „BaseSpace“ sekos centrą, o režimas „Standalone“ (autonominis) yra autonominis vykdymas, kurį taikant generuojami tik pasirinktinėms analizės darbo eigoms skirti cBCL duomenys) paruošti eksploatacines medžiagas, atskiesti bibliotekas ir nustatyti sekos nustatymo vykdymą.

Dirbdami su reagentais ir kitomis cheminėmis medžiagomis dėvėkite apsauginius akinius, vilkėkite laboratorinį chalātą ir mūvėkite pirštines be talko.

Prieš pradėdami vykdyti protokolą įsitikinkite, kad turite reikalingas eksploatacines medžiagas ir įrangą. Žr. [Eksploatacinės medžiagos ir įranga 24 psl.](#)

Protokolų laikykitės nurodyta tvarka, naudodami nurodytą tūrį, temperatūrą ir trukmę.

Sekos nustatymo aspektai

Prieš pradėdami protokolą, peržiūrėkite toliau pateiktą informaciją, kad pasiruoštumėte skiesti bibliotekas ir nustatyti vykdymą. Norint, kad sekos nustatymas ir analizė būtų sėkmingi, labai svarbu pasiekti optimalią įkėlimo koncentraciją. Nuskaityme įvedant tinkamą ciklų skaičių, lengviau užtikrinti optimalią duomenų išvestį.

Įkėlimo tūris ir koncentracijos

Įkėlimo tūris yra 20 µl. Įkėlimo koncentracija skiriasi ir priklauso nuo bibliotekos tipo.

Bibliotekos tipas	Įkėlimo koncentracija (pM)
„AmpliSeq™“, skirtas „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

Naudojant kitų tipų bibliotekas rekomenduoja pradinė įkėlimo koncentracija yra 650 pM. Optimizuokite šią koncentraciją tolesnių serijų metu ir nustatykite įkėlimo koncentraciją, kuri nuosekliai pateikia specifikacijas atitinkančius duomenis.

i | Norėdami optimizuoti įkėlimo koncentraciją, naudokite metriką „% Loading Concentration“ (įkėlimo koncentracijos %), esančią išvesties faile `PrimaryAnalysisMetrics.csv`, kuris pasiekiamas baigus seriją. Jei „% Loading Concentration“ (įkėlimo koncentracijos %) yra < 95 %, vykdydami tolesnes serijas, didinkite įkėlimo koncentraciją po 100 pM.

Nuskaitymo ciklų skaičius

Kiekvieno nuskaitymo metu įvedus ne mažiau kaip 26 ciklus ir ne daugiau kaip 151 ciklą, užtikrinama duomenų kokybė. Tikslus ciklų skaičius priklauso nuo jūsų atliekamo bandymo. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga reikalauja, kad 1 nuskaityme būtų bent 1 ciklas, tačiau rodo įspėjimą, kai 1 nuskaitymo ciklų skaičius yra mažesnis nei 26.

Bendras 1 nuskaitymo, 1 indekso, 2 indekso ir 2 nuskaitymo ciklų skaičius negali būti didesnis nei rinkinio palaikomas ciklų skaičius bei 38 ciklai (100 ciklų ir 200 ciklų rinkiniai) ir 27 ciklai (P3 300 ciklų rinkiniai). Kai 1 indeksą ir 2 indeksą sudaro mažiau nei 6 ciklai, „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga rodo įspėjimą. Jei 1 indekse ar 2 indekse yra 0 ciklų, šis įspėjimas nerodomas.

Į minimalų ir maksimalų ciklų skaičių įtraukiamas papildomas ciklas. Visada pridėkite vieną ciklą prie pageidaujamo nuskaitymo ilgio, kad ištaisytumėte fazių derinimo ir išankstinio fazių derinimo poveikį. Nuskaitymo ilgis yra 1 nuskaitymo ir 2 nuskaitymo *sekos nustatymo* ciklai, neįtraukiant papildomų ir indekso ciklų. Norėdami sužinoti daugiau, žr. „Fazių derinimo koregavimas“ dalyje [Analizės realiuoju laiku darbo eiga 58 psl.](#)

Pavyzdinė serijos sąranka.


- Jei nuskaitymo ilgis yra 35 (vienas nuskaitymas), lauke „Read 1“ (1 nuskaitymas) įveskite **36**.
- Jei nuskaitymo ilgis yra 150 ciklų per vieną nuskaitymą (suporuota pagal galą), laukuose „Read 1“ (1 nuskaitymas) ir „Read 2“ (2 nuskaitymas) įveskite **151**.

Sekos nustatymo vykdymo planavimas „BaseSpace“ sekos centre

„BaseSpace“ sekos centre atlikdami prietaiso paleidimo sąranką, galite sukurti ir sukonfigūruoti vykdymo nuostatas. Jei vykdymą nustatote režimu „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis), vykdymo konfigūraciją pateikite į savo „BaseSpace“ sekos centro paskyros suplanuotų vykdymų sąrašą, esantį kortelėje „Planned Runs“ (suplanuoti vykdymai). Kortelėje „Planned Runs“ (suplanuoti vykdymai) rodomi vykdymai, kuriuos galima naudoti sekoms nustatyti „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemose. Jei vykdymą nustatote režimu „Local“ (vietinis), atlikdami prietaiso paleidimo sąranką sukurkite ir eksportuokite mėginių lapą 2 v. failo formatu. Arba žr. [2 v. mėginių lapo nuostatos 88 psl.](#) ir mėginių lapą sukurkite be „BaseSpace“ sekos centro, naudodami pateiktą šabloną.

„BaseSpace“ sekos centre atliekant prietaiso paleidimo sąranką, palaikoma ne daugiau nei 1536 mėginiai.

Vykdymo nustatymas

1. Nueikite į „BaseSpace“ sekos centrą.
2. Įveskite savo el. pašto adresą ir „BaseSpace“ sekos centro slaptažodį, tada pasirinkite **Sign In** (prisijungti).
3. Pasirinkite kortelę **Runs** (vykdymai), tada – išskleidžiamąjį meniu **New Run** (naujas vykdymas).
4. Pasirinkite **NextSeq 1000/2000**.
5. Lauke „Run Name“ (vykdymo pavadinimas) įveskite unikalų pageidaujamą pavadinimą, kad identifikuotumėte dabartinį vykdymą.
Vykdymo procedūros pavadinime gali būti daugiausiai 225 rašmenys, sudaryti iš skaičių, raidžių, tarpų, brūkšnelių ir pabraukimo brūkšnių.
6. Pasirinkite vieną iš toliau pateiktų analizės vietų.
 - **BaseSpace** – sekos nustatymo duomenis analizuokite debesyje.
 - **Local** (vietinė) – sekos nustatymo duomenis analizuokite prietaise arba sugeneruokite 2 v. mėginių lapą, kurį naudokite režimu „Local“ (vietinis) arba „Hybrid“ (mišrusis).
7. Pasirinkite analizės tipą ir versiją.
Daugiau informacijos apie antrines analizes rasite dalyje [DRAGEN antrinės analizės išvesties failai 63 psl.](#) arba programos „BaseSpace Sequence Hub“ dokumentacijoje. Jei pasirinkote DRAGEN vienos ląstelės RNR analizę, žr. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ puslapį „Products Files“ (produktų failai), kuriame pateikiama informacija apie trečiųjų šalių vienos ląstelės RNR bibliotekų paruošimo rinkinių suderinamumą.
 | Atliekant analizę prietaise, pasirinkta versija turi atitikti prietaise įdiegtą DRAGEN versiją. Norėdami įsitikinti, kokia DRAGEN versija įdiegta prietaise, žr. [DRAGEN darbo eiga ir licencijos atnaujinimas 78 psl.](#)
8. **[Pasirenkama]** Toliau nurodytu būdu nustatykite pasirinktinius indeksų rinkinius.
Jei naudojate daugiau nei vieną biblioteką, bibliotekų indeksų nuskaitymų ilgis turi būti vienodas.
 - a. Išskleidžiamajame sąrašė „Index Adapter Kit“ (indeksų adapterių rinkinys) pasirinkite **Add Custom Index Adapter Kit** (pridėti pasirinktinį indeksų adapterių rinkinį).
 - b. Pasirinkite šablono tipą ir įveskite rinkinio pavadinimą, adapterių sekas, indeksų strategijas bei indeksų sekas.
Įsitikinkite, kad antrojo indekso (i5) adapterių sekos nukreiptos į priekį.
 - c. Pasirinkite **Create New Kit** (kurti naują rinkinį).
9. **[Pasirenkama]** Toliau nurodytu būdu nustatykite pasirinktinį bibliotekų paruošimo rinkinį.
 - a. Išskleidžiamajame sąrašė „Library Prep Kit“ (bibliotekų paruošimo rinkinys) pasirinkite **Add Custom Library Prep Kit** (pridėti pasirinktinį bibliotekų paruošimo rinkinį).

- b. Įveskite pasirinktinio bibliotekų paruošimo rinkinio pavadinimą, nuskaitymų tipus, numatytuosius nuskaitymų ciklus ir suderinamus indeksų adapterių rinkinius.
 - c. Pasirinkite **Create New Kit** (kurti naują rinkinį).
10. Pasirinkite toliau nurodytas prietaiso nuostatas. Automatiškai pasirenkamos rekomenduojamos parinktys, priklausančios nuo bibliotekų paruošimo rinkinio. Kai kuriuose bibliotekų paruošimo rinkiniuose indeksų nuskaitymų ir nuskaitymų tipų skaičius užprogramuotas ir jo negalima pakeisti.
- Bibliotekų paruošimo rinkinys
 - Indeksų adapterių rinkinys
 - Indeksų nuskaitymų skaičius
 - Nuskaitymo tipas
 - Vieno nuskaitymo sekos nustatymo ciklo skaičius
- i** | Jei prie bibliotekų paruošimo rinkinio pasirinkta „Not Specified“ (nenurodyta), indeksų nuskaitymų skaičius neatnaujinamas tol, kol indeksų sekos neįvedamos į dalį „Sample Data“ (mėginio duomenys).
11. Naudodami vieną iš toliau nurodytų parinkčių, į skaičiuoklę „Sample Data“ (mėginio duomenys) įveskite mėginio informaciją. Norėdami grupuoti mėginius, kad, atliekant pasrovinę analizę, būtų apibendrinami duomenys, stulpelyje „Project“ (projektas) grupei priskirkite pavadinimą.
- Pasirinkite **Import Data** (importuoti duomenis), tada pasirinkite mėginių lapą. Įsitinkite, kad jūsų mėginių lapas atitinka formataavimo reikalavimus. Žr. [2 v. mėginių lapo nuostatos 88 psl.](#) Mėginių lapą pakeitus po pradinio atsiuntimo, gali nepavykti atlikti analizės.
 - Mėginių ID ir indeksų plokštelių telkinių padėtis arba i7 ir i5 indeksus įklijuokite tiesiai iš išorinio failo. Prieš įklijuodami, lauke „Rows“ (eilutės) įveskite mėginio eilučių skaičių, tada pasirinkite +. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų, brūkšnelių bei pabraukimo brūkšnių.
- i** | Naudojant fiksuoto išdėstymo indeksų plokšteles, reikia įvesti telkinių padėtis. Naudojant indeksus, neturinčius fiksuoto išdėstymo, reikia įvesti i7 ir i5 indeksų įrašus. i5 indeksus reikia įvesti nukreiptus į priekį.
- Rankiniu būdu įveskite mėginių ID ir atitinkamas telkinių padėtis arba indeksus. Jei prie bibliotekų paruošimo rinkinio pasirinkta „Not Specified“ (nenurodyta), įveskite į priekį nukreiptas 2-ojo indekso (i5) sekas.
12. Pasirinkite **Next** (toliau).

Antrinės analizės nustatymas

Sukonfigūruokite vykdymui pasirinkto analizės tipo nuostatas. Daugiau informacijos apie DRAGEN analizės darbo eigas rasite dalyje [DRAGEN antrinės analizės išvesties failai 63 psl.](#)

„Illumina“ DRAGEN BCL konvertavimas

Norėdami sukongigūruoti „Illumina“ DRAGEN BCL konvertavimo analizę, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

- Įveskite toliau nurodytas pasirenkamas nuostatas.

Nuostata	Aprašas
AdapterRead1	1 nuskaitymo adapterio seka. Jei naudojate „Illumina“ bibliotekų paruošimo rinkinį, lauką „AdapterRead1“ palikite tuščią.
AdapterRead2	2 nuskaitymo adapterio seka. Jei naudojate „Illumina“ bibliotekų paruošimo rinkinį, lauką „AdapterRead2“ palikite tuščią.
BarcodeMismatchesIndex1	Leidžiamų pirmojo indekso nuskaitymo ir indekso sekos neatitikčių skaičius. Numatytoji vertė yra 1. Jei brūkšninis kodas yra 6 bp, rekomenduojama vertė yra 0.
BarcodeMismatchesIndex2	Leidžiamų antrojo indekso nuskaitymo ir indekso sekos neatitikčių skaičius. Numatytoji vertė yra 1. Jei brūkšninis kodas yra 6 bp, rekomenduojama vertė yra 0.
OverrideCycles	Eilutė, naudojama UMI ciklams nurodyti ir nuskaitymo ciklams maskuoti. Leidžiamos toliau nurodytos vertės. <ul style="list-style-type: none">• N – nurodo ciklus, kurių nereikia paisyti.• Y – nurodo sekos nustatymo ciklus.• I – nurodo indekso ciklus.• U – nurodo UMI ciklus, kuriems reikia redaguoti pradžių / pabaigą. Kiekvienas elementas atskiriamas kabliataškiais. Toliau pateikiami įvesties „OverrideCycles“ pavyzdžiai. U8Y143; I8; I8; U8Y143 N10Y66; I6; N10Y66

- Pasirinkite, ar norite įrašyti FASTQ failų kopiją. FASTQ failai generuojami tik pasirinkus palikti FASTQ failus.

3. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų FASTQ išvesties formato parinkčių.
 - **gzip** – FASTQ failus įrašyti „gzip“ formatu.
 - **DRAGEN** – FASTQ failus įrašyti „ora“ formatu.
4. Užbaikite vykdymo konfigūraciją.
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją nusiųsti į „BaseSpace“ sekos centro paskyrą, pasirinkite **Submit Run** (pateikti vykdymą). Vykdydami, pateikti į „BaseSpace“ sekos centrą, rodomi suplanuotų vykdymų sąrašas ir juos gali pasiekti sistemos, kuriose naudojamas režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis).
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją įrašyti kaip mėginių lapą 2 v. failo formatu, išskleidžiamajame sąrašas **Submit Run** (pateikti vykdymą) pasirinkite **Export Sample Sheet** (eksportuoti mėginių lapą). Mėginių lapas reikalingas norint paleisti vykdymus sistemose, kuriose naudojamas režimas „Local“ (vietinis). Ši parinktis galima tik tada, jei kaip analizės vieta buvo pasirinkta „Local“ (vietinė).

„Illumina“ DRAGEN gausinimas

Norėdami sukonfigūruoti „Illumina“ DRAGEN gausinimo analizę, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasirinkite atskaitinį genomą.
Jei įmanoma, naudokite atskaitinį genomą su „alt aware“.
2. Pasirinkite *.bed failą su norimomis tikslinėmis sritimis arba nusiųskite naują pasirinktinį failą. Įsitikinkite, kad BED failo atskaitinis genomas atitinka atliekant 1 veiksmą pasirinktą atskaitinį genomą. Naujam pasirinktiniam BED failui naudokite šį pavadinimo formatą: grupės_pavadinimas_versijosNumeris.atskaitinisgenomas.bed.
 - **Režimas „Local“ (vietinis)** – pasirinkite **Select Custom File (Local)** (pasirinkti pasirinktinį failą (vietinį), jei norite nusiųsti vienai serijai, arba **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“), jei norite naudoti pakartotinai).
 - **Režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis)** – pasirinkite **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“)). Pasirinktinis BED failas pasiekiamas tik toje darbo grupėje, į kurią jis buvo nusiųstas.
3. Pasirinkite genocitų linijos arba somatinių variantų priskyrimo priemonę.
4. **[Pasirenkama]** Jei naudojate somatinių variantų priskyrimo priemonę, pasirinkite bazinį triukšmo failą. Daugiau informacijos rasite dalyje [Bazinių triukšmo failų importavimas 19 psl.](#)
5. Pasirinkite susiejimo / prilygiavimo išvesties formatą.
6. Pasirinkite, ar norite įrašyti FASTQ failų kopiją. FASTQ failai generuojami tik pasirinkus palikti FASTQ failus.
7. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų FASTQ išvesties formato parinkčių.
 - **gzip** – FASTQ failus įrašyti „gzip“ formatu.
 - **DRAGEN** – FASTQ failus įrašyti „ora“ formatu.

8. Užbaikite vykdymo konfigūraciją.

- Norėdami vykdymo konfigūraciją nusiųsti į „BaseSpace“ sekos centro paskyrą, pasirinkite **Submit Run** (pateikti vykdymą). Vykdymai, pateikti į „BaseSpace“ sekos centrą, rodomi suplanuotų vykdymų sąraše ir juos gali pasiekti sistemos, kuriose naudojamas režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis).
- Norėdami vykdymo konfigūraciją įrašyti kaip mėginių lapą 2 v. failo formatu, išskleidžiamajame sąraše **Submit Run** (pateikti vykdymą) pasirinkite **Export Sample Sheet** (eksportuoti mėginių lapą). Mėginių lapas ir pagalbiniai antrinės analizės failai atsiunčiami *.zip aplanke ir yra reikalingi norint paleisti vykdymus sistemose, kuriose naudojamas režimas „Local“ (vietinis). Ši parinktis galima tik tada, jei kaip analizės vieta buvo pasirinkta „Local“ (vietinė).

„Illumina“ DRAGEN genocitų linija

Norėdami sukonfigūruoti „Illumina“ DRAGEN genocitų linijos analizę, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasirinkite savo atskaitinį genomą.
Jei įmanoma, naudokite atskaitinį genomą su „alt aware“.
2. Pasirinkite susiejimo / prilygiavimo išvesties formatą.
3. Pasirinkite, ar norite įrašyti FASTQ failų kopiją. FASTQ failai generuojami tik pasirinkus palikti FASTQ failus.
4. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų FASTQ išvesties formato parinkčių.
 - **gzip** – FASTQ failus įrašyti „gzip“ formatu.
 - **DRAGEN** – FASTQ failus įrašyti „ora“ formatu.
5. Užbaikite vykdymo konfigūraciją.
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją nusiųsti į „BaseSpace“ sekos centro paskyrą, pasirinkite **Submit Run** (pateikti vykdymą). Vykdymai, pateikti į „BaseSpace“ sekos centrą, rodomi suplanuotų vykdymų sąraše ir juos gali pasiekti sistemos, kuriose naudojamas režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis).
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją įrašyti kaip mėginių lapą 2 v. failo formatu, išskleidžiamajame sąraše **Submit Run** (pateikti vykdymą) pasirinkite **Export Sample Sheet** (eksportuoti mėginių lapą). Mėginių lapas ir pagalbiniai antrinės analizės failai atsiunčiami *.zip aplanke ir yra reikalingi norint paleisti vykdymus sistemose, kuriose naudojamas režimas „Local“ (vietinis). Ši parinktis galima tik tada, jei kaip analizės vieta buvo pasirinkta „Local“ (vietinė).

„Illumina“ DRAGEN RNR

Norėdami sukonfigūruoti „Illumina“ DRAGEN RNR analizę, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasirinkite savo atskaitinį genomą.

Jei įmanoma, naudokite atskaitinį genomą be „alt aware“.

2. Pasirinkite savo susiejimo / prilygiavimo išvesties formatą.
3. Pasirinkite, ar norite įrašyti FASTQ failų kopiją. FASTQ failai generuojami tik pasirinkus palikti FASTQ failus.
4. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų FASTQ išvesties formato parinkčių.
 - **gzip** – FASTQ failus įrašyti „gzip“ formatu.
 - **DRAGEN** – FASTQ failus įrašyti „ora“ formatu.
5. **[Pasirenkama]** RNR anotacijos failą nusiųskite genų perdavimo formatu (GTF).
 - **Režimas „Local“ (vietinis)** – pasirinkite **Select Custom File (Local)** (pasirinkti pasirinktinį failą (vietinį), jei norite nusiųsti vienai serijai, arba **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“), jei norite naudoti pakartotinai).
 - **Režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis)** – pasirinkite **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“). GTF failas pasiekiamas tik toje darbo grupėje, į kurią jis buvo nusiųstas.

Kai GTF failas nusiųstas į „BaseSpace“ sekos centro darbo grupę, RNR anotacijos failą pasirinkite išskleidžiamajame meniu.

6. Pasirinkite, ar įjungti diferencinę raišką.
7. Jei įjungėte diferencinę raišką, pasirinkite kiekvieno mėginio kontrolinę arba lyginamąją vertę. Kiekvienoje lyginamojoje grupėje visi mėginiai, pažymėti kaip kontroliniai, lyginami su visais mėginiais, pažymėtais kaip lyginamieji. Jei mėginyje nėra kontrolinės arba lyginamosios vertės, kaip vertę pasirinkite **na** (nėra).
8. Užbaikite vykdymo konfigūraciją.
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją nusiųsti į „BaseSpace“ sekos centro paskyrą, pasirinkite **Submit Run** (pateikti vykdymą). Vykdydami, pateikti į „BaseSpace“ sekos centrą, rodomi suplanuotų vykdymų sąrašas ir juos gali pasiekti sistemos, kuriose naudojamas režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis).
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją įrašyti kaip mėginių lapą 2 v. failo formatu, išskleidžiamajame sąrašas **Submit Run** (pateikti vykdymą) pasirinkite **Export Sample Sheet** (eksportuoti mėginių lapą). Jei pridėtas pasirenkamasis GTF failas, mėginių lapas ir pagalbiniai antrinės analizės failai atsisiunčiami *.zip aplanke ir yra reikalingi norint paleisti vykdymus sistemose, kuriose naudojamas režimas „Local“ (vietinis). Ši parinktis galima tik tada, jei kaip analizės vieta buvo pasirinkta „Local“ (vietinė).

„Illumina“ DRAGEN vienos ląstelės RNR

Norėdami sukonfigūruoti „Illumina“ DRAGEN vienos ląstelės RNR analizę, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasirinkite savo atskaitinį genomą.

Jei įmanoma, naudokite atskaitinį genomą be „alt aware“.

2. **[Pasirenkama]** RNR anotacijos failą nusiųskite genų perdavimo formatu (GTF).
 - **Režimas „Local“ (vietinis)** – pasirinkite **Select Custom File (Local)** (pasirinkti pasirinktinį failą (vietinį), jei norite nusiųsti vienai serijai, arba **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“), jei norite naudoti pakartotinai.
 - **Režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis)** – pasirinkite **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“). GTF failas pasiekiamas tik toje darbo grupėje, į kurią jis buvo nusiųstas.

Kai GTF failas nusiųstas į „BaseSpace“ sekos centro darbo grupę, RNR anotacijos failą pasirinkite išskleidžiamajame meniu.
3. Pasirinkite savo susiejimo / prilygiavimo išvesties formatą.
4. Pasirinkite, ar norite įrašyti FASTQ failų kopiją. FASTQ failai generuojami tik pasirinkus palikti FASTQ failus.
5. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų FASTQ išvesties formato parinkčių.
 - **gzip** – FASTQ failus įrašyti „gzip“ formatu.
 - **DRAGEN** – FASTQ failus įrašyti „ora“ formatu.
6. Pasirinkite konfigūraciją, identišką jūsų bibliotekų paruošimo rinkinio tipui.

Pavyzdžiui, jei kaip bibliotekų paruošimo rinkinį pasirinkote 1-ąjį vienos ląstelės RNR bibliotekų rinkinį, kaip „Configuration Type“ (konfigūracijos tipas) pasirinkite „Type 1“ (1-asis tipas).
7. Pasirinkite brūkšninio kodo nuskaitymą.
8. **[Pasirenkama]** Redaguokite brūkšniniuose koduose ir UMI esančių bazių skaičių. Vertės užpildomos automatiškai, atsižvelgiant į pasirinktą bibliotekų paruošimo rinkinį ir konfigūracijos tipą.
9. Pasirinkite gijos orientaciją.
10. **[Pasirenkama]** Pasirinkite failą, kuriame yra jūsų brūkšninių kodų sekos, arba nusiųskite naują pasirinktinį failą.
11. Jei naudojate konfigūracijos tipą „Advanced“ (išplėstinė) / „Custom“ (pasirinktinė), įveskite perrašymo ciklų skaičiaus, brūkšninio kodo padėties ir UMI padėties vertes.
12. Užbaikite vykdymo konfigūraciją.
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją nusiųsti į „BaseSpace“ sekos centro paskyrą, pasirinkite **Submit Run** (pateikti vykdymą). Vykdymai, pateikti į „BaseSpace“ sekos centrą, rodomi suplanuotų vykdymų sąrašė ir juos gali pasiekti sistemos, kuriose naudojamas režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis).
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją įrašyti kaip mėginių lapą 2 v. failo formatu, išskleidžiamajame sąrašė **Submit Run** (pateikti vykdymą) pasirinkite **Export Sample Sheet** (eksportuoti mėginių lapą). Jei pridėtas pasirenkamasis GTF failas, mėginių lapas ir

pagalbiniai antrinės analizės failai atsisiunčiami *.zip aplanke ir yra reikalingi norint paleisti vykdymus sistemose, kuriose naudojamas režimas „Local“ (vietinis). Ši parinktis galima tik tada, jei kaip analizės vieta buvo pasirinkta „Local“ (vietinė).

„Illumina“ DRAGEN aplikonai

Norėdami sukonfigūruoti „Illumina“ DRAGEN aplikonų analizę, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasirinkite savo atskaitinį genomą.
2. Pasirinkite *.bed failą su norimomis tikslinėmis sritimis arba nusiųskite naują pasirinktinį failą. Įsitikinkite, kad BED failo atskaitinis genomas atitinka atliekant 1 veiksmą pasirinktą atskaitinį genomą. Naujam pasirinktiniam BED failui naudokite šį pavadinimo formatą: grupės_pavadinimas_versijosNumeris.atskaitinisgenomas.bed.
 - **Režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis)** – pasirinkite **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“)). Pasirinktiniis BED failas pasiekiamas tik toje darbo grupėje, į kurią jis buvo nusiųstas.
 - **Režimas „Local“ (vietinis)** – pasirinkite **Select Custom File (Local)** (pasirinkti pasirinktinį failą (vietinį), jei norite nusiųsti vienai serijai, arba **Upload Custom File (BaseSpace)** (nusiųsti pasirinktinį failą („BaseSpace“)), jei norite naudoti pakartotinai.
3. Pasirinkite genocitų linijos arba somatinių variantų priskyrimo priemonę.
4. Pasirinkite savo susiejimo / prilygiavimo išvesties formatą.
5. **[Vietinis]** Pasirinkite, ar norite įrašyti FASTQ failų kopiją. FASTQ failai generuojami tik pasirinkus palikti FASTQ failus.
6. Pasirinkite, ar norite įrašyti FASTQ failų kopiją. FASTQ failai generuojami tik pasirinkus palikti FASTQ failus.
7. Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų FASTQ išvesties formato parinkčių.
 - **gzip** – FASTQ failus įrašyti „gzip“ formatu.
 - **DRAGEN** – FASTQ failus įrašyti „ora“ formatu.
8. Užbaikite vykdymo konfigūraciją.
 - Norėdami vykdymo konfigūraciją nusiųsti į „BaseSpace“ sekos centro paskyrą, pasirinkite **Submit Run** (pateikti vykdymą). Vykdymai, pateikti į „BaseSpace“ sekos centrą, rodomi suplanuotų vykdymų sąraše ir juos gali pasiekti sistemos, kuriose naudojamas režimas „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis).
 - **[Vietinis]** Norėdami vykdymo konfigūraciją įrašyti kaip mėginių lapą 2 v. failo formatu, išskleidžiamajame sąraše **Submit Run** (pateikti vykdymą) pasirinkite **Export Sample Sheet** (eksportuoti mėginių lapą). Mėginių lapas ir pagalbiniai antrinės analizės failai atsisiunčiami *.zip aplanke ir yra reikalingi norint paleisti vykdymus sistemose, kuriose naudojamas režimas „Local“ (vietinis). Ši parinktis galima tik tada, jei kaip analizės vieta buvo pasirinkta „Local“ (vietinė).

Kasetės maišelyje ir pratekamosios kiuvetės atšildymas

Šiuo veiksmu atšildoma *neatidarytame maišelyje* esanti kasetė ir paruošiama pratekamoji kiuvetė. Kasetę maišelyje atšildykite vienu iš trijų būdų: naudodami reguliuojamos temperatūros vandens vonelę, šaldytuvą arba kambario temperatūros orą. Atšildytą kasetę naudokite iš karto, jos neužšaldykite iš naujo. Jei kasetės nepavyksta panaudoti iškart po atšildymo, žr. [Eksplotacinių medžiagų grąžinimas į laikymo vietą 83 psl.](#)

4 pav. Kasetė maišelyje



Kasetės atšildymas reguliuojamos temperatūros vandens vonelėje


1. Užsimaukite naujas pirštines be talko ir išimkite kasetę iš laikymo vietos.
 2. Išimkite kasetę iš dėžutės, bet *neatidarykite sidabrinės folijos maišelio*.
- ⚠ | Vandens vonelėje atšildžius suplyšusį ar pradurtą maišelį, gali nepavykti nustatyti sekos. Jį geriau atšildykite kambario temperatūroje arba šaldytuve.
3. Kasetę maišelyje 6 val. atšildykite reguliuojamos 25 °C temperatūros vandens vonelėje, kaip nurodyta toliau.
 - Vandens gylis turi būti bent 9,5–10 cm, neatsižvelgiant į tai, kiek kasetių atšildote.
 - Reguliuojamos temperatūros vandens vonelėje nustatykite 25 °C temperatūrą.
 - Maišelį etikete į viršų įdėkite į vandenį, bet nepanardinkite.
- ⚠ | Nebandykite kasetės panardinti per jėgą. Jei atšildant maišelio etiketė nebus atsukta į viršų arba kasetė apsivers, tai turės neigiamos įtakos sekos nustatymo duomenims.
- Vandens vonelėje maišelio negalima laikyti ilgiau kaip 8 valandas.

- Vienu metu neatšildykite daugiau kasečių, nei palaiko vandens vonelė. Suderinamų vandens vonelių sąrašą rasite dalyje [Pagalbinė įranga 29 psl.](#)
- Kasečių nedėkite viena ant kitos.


4. Išimkite kasetę iš vandens vonelės ir nusauskite popieriniais rankšluosčiais.

Kasetės atšildymas šaldytuve

1. Užsimaukite naujas pirštines be talko.
2. Likus vienai dienai iki numatomo vykdymo, išimkite kasetę iš laikymo vietos, kurioje palaikoma temperatūra nuo $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ iki $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Išimkite kasetę iš dėžutės, bet *neatidarykite sidabrinės folijos maišelio*.
4. Padėkite kasetę kambario temperatūroje taip, kad etiketė būtų atsukta į viršų, o oras galėtų cirkuliuoti šonuose ir viršuje.

 Jei maišelio etiketė nebus atsukta į viršų, tai turės neigiamos įtakos sekos nustatymo duomenims.


5. Atšildykite kambario temperatūroje 6 val.
6. Šaldytuve, kuriame palaikoma temperatūra nuo 2 iki $8\text{ }^{\circ}\text{C}$, padėkite kasetę taip, kad etiketė būtų atsukta į viršų, o oras galėtų cirkuliuoti šonuose.

 Jei maišelio etiketė nebus atsukta į viršų, tai turės neigiamos įtakos sekos nustatymo duomenims.

7. Atšildykite šaldytuve 12 val. Neviršykite 72 val.

Kasetės atšildymas kambario temperatūroje

1. Užsimaukite naujas pirštines be talko.
2. Išimkite kasetę iš laikymo vietos, kurioje palaikoma temperatūra nuo $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ iki $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Išimkite kasetę iš dėžutės, bet *neatidarykite sidabrinės folijos maišelio*.
4. Padėkite kasetę taip, kad etiketė būtų atsukta į viršų, o oras galėtų cirkuliuoti šonuose ir viršuje.

 Jei maišelio etiketė nebus atsukta į viršų, tai turės neigiamos įtakos sekos nustatymo duomenims.

5. Atšildykite kambario temperatūroje 9 val. Neviršykite 16 val.

Pratekamosios kiuvetės ir kasetės paruošimas

1. Paruoškite pratekamąją kiuvetę, kaip aprašyta toliau.
 - a. Išimkite naują pratekamąją kiuvetę iš laikymo vietos, kurioje palaikoma temperatūra nuo 2 iki 8 °C.
 - b. Pratekamąją kiuvetę išimdami iš pakuotės, palaikykite neatplėštą pakuotę kambario temperatūroje 10–15 minučių, kad išvengtumėte kondensacijos. Paruošdami pratekamąją kiuvetę dabar užtikrinsite, kad ji laiku pasieks kambario temperatūrą.
2. Jei atšildote šaldytuve
 - a. Išimkite atšildytą kasetę iš laikymo vietos, kurioje palaikoma temperatūra nuo 2 iki 8 °C.
 - b. Prieš nustatydami seką, neatidarytą kasetę bent 15 minučių palaikykite kambario temperatūroje. Neviršykite 1 val.

Bibliotekų skiedimas

Jei denatūruojate ir skiedžiate prietaise, šiuo veiksmu bibliotekos atskiedžiamos iki atitinkamos įkėlimo koncentracijos. Pasirenkama 2 % PhiX¹ priemaiša suteikia papildomą metriką, bazinės įvairovės arba teigiamą kontrolinį mėginį. Bibliotekoms, kurių bazinė įvairovė mažesnė, „PhiX“ priemaišos procentą reikėtų padidinti.

Jei bibliotekas denatūruojate ir skiedžiate rankiniu būdu, naudokite „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ bibliotekų denatūravimo bei skiedimo vadovą (dokumento Nr. 1000000139235). Šis veiksmas taikomas, tik jei denatūruojama ir skiedžiama prietaise.

Bibliotekos atskiedimas iki 2 nM

1. [Pasirenkama] Išimkite 10 nM „PhiX“ atsargas iš laikymo vietos, kurioje palaikoma temperatūra nuo –25 °C iki –15 °C.
„PhiX“ reikia tik pasirenkamai priemaišai arba tik „PhiX“ serijai.
2. [Pasirenkama] Atšildykite „PhiX“ kambario temperatūroje 5 minutes, tada kiekybiškai nustatykite naudodami fluorescencija pagrįstą metodą, pvz., „Qubit“, kad patvirtintumėte „PhiX“ koncentraciją. Jei kiekybiškai nustatyti neįmanoma, naudokite 10 nM koncentraciją.
3. Biblioteką arba „PhiX“ trumpai išmaišykite ir 1 minutę centrifuguokite 280 x g.
4. Kaip skiediklį naudodami RSB su „Tween 20“, mažos jungiamosios gebos mikromėgintuvėlyje paruoškite bent 24 µl 2 nM biblioteką.
Su „PhiX“ priemaiša susijusius nurodymus rasite dalyje [„PhiX“ kontrolinio mėginio pridėjimas \(pasirenkama\) 45 psl.](#)
5. Trumpai išmaišykite ir 1 minutę centrifuguokite 280 x g.

¹„PhiX“ – tai maža paruošta naudoti „Illumina“ biblioteka su subalansuotu nukleotidų vaizdu.

2 nM bibliotekos atskiedimas iki įkėlimo koncentracijos

1. Sumaišydami toliau nurodytus tūrius mažos jungiamosios gebos mikromėgintuvėlyje paruoškite 24 µl biblioteką, praskiestą iki tinkamos įkėlimo koncentracijos:

Bibliotekos tipas*	Įkėlimo koncentracija (pM)	2 nM bibliotekos tūris (µl)	RSB su „Tween 20“ tūris (µl)
„Ampliseq“, skirtas „Illumina Library PLUS“	750	9	15
„Illumina DNA Prep“	750	9	15
„Illumina DNA Prep with Enrichment“	1000	12	12
„Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus“	750	9	15
„Illumina Stranded mRNA Prep“	750	9	15
„Illumina DNA PCR-Free“	1000	12	12
„TruSeq DNA Nano 350“	1200	14,4	9,6
„TruSeq DNA Nano 550“	1500	18	6
„TruSeq Stranded mRNA“	1000	12	12
100 % „PhiX“	650	7,8	16,2

* Jei bibliotekos tipas neįtrauktas į sąrašą, pradėkite nuo 650 pM įkėlimo koncentracijos ir optimizuokite vykdant sekos nustatymą.

Šioje lentelėje pateikiama įkėlimo koncentracijų pavyzdžių. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ yra suderinama su visais „Illumina“ bibliotekų paruošimo rinkiniais, bet optimali įkėlimo koncentracija gali skirtis.

2. Trumpai išmaišykite ir 1 minutę centrifuguokite 280 x g.
3. Padėkite praskiestą biblioteką ant ledo, kol ji bus paruošta sekai nustatyti. Bibliotekų, praskiestų iki įkėlimo koncentracijos, sekas nustatykite skiedimo dieną.
4. Atlikite toliau nurodytus veiksmus.
 - Jei pridedate „PhiX“, žr. [„PhiX“ kontrolinio mėginio pridėjimas \(pasirenkama\) 45 psl.](#)
 - Jei „PhiX“ nepridedate arba atliekate tik „PhiX“ seriją, žr. [Eksploatacinių medžiagų įdėjimas į kasetę 45 psl.](#)

„PhiX“ kontrolinio mėginio pridėjimas (pasirenkama)

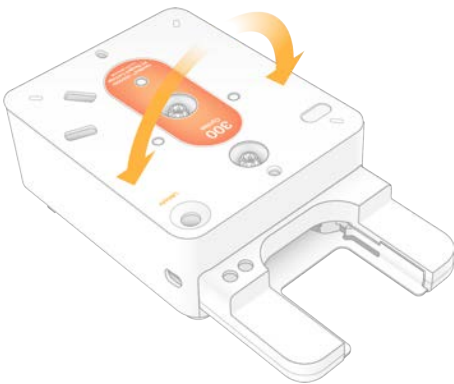
1. Sumaišydami toliau nurodytus tūrius mažos jungiamosios gebos mikromėgintuvėlyje, paruoškite 20 µl 1 nM „PhiX“.
 - 10 nM „PhiX“ (2 µl)
 - RSB su „Tween 20“ (18 µl)
2. Trumpai išmaišykite ir 1 minutę centrifuguokite 280 x g.
3. Į 24 µl biblioteką, atskiestą iki galutinės įkėlimo koncentracijos, įpilkite 1 µl 1 nM „PhiX“. Naudojant šiuos tūrius, gaunama ~2 % „PhiX“ priemaiša. Tikrasis procentinis kiekis skiriasi ir priklauso nuo bibliotekos kokybės bei kiekio.
4. Biblioteką su „PhiX“ priemaiša padėkite ant ledo, kol ji bus paruošta sekai nustatyti. Bibliotekų su „PhiX“ priemaiša sekas nustatykite tą pačią dieną, kai jos atskiedžiamos.

Eksploatacinių medžiagų įdėjimas į kasetę

Šiuo veiksmu kasetė paruošiama sekoms nustatyti, sumaišant iš anksto įpiltus reagentus ir į pratekamąją kiuvetę įdedant atskiestas bibliotekas.

Kasetės paruošimas

1. Atidarykite kasetės maišelį, plėsdami arba žirkklėmis pjaudami nuo bet kurios pusės viršutinės išpjovos.
2. Išimkite kasetę iš maišelio. Išmeskite maišelį ir sausiklį.
3. Apverskite kasetę 10 kartų, kad sumaišytumėte reagentus.
Vartant gali barškėti viduje esantys komponentai; tai visiškai įprasta.



Pratekamosios kiuvetės įdėjimas

1. Atidarykite sidabrinės folijos pakuotę, plėšdami arba žirkklėmis pjaudami nuo bet kurios pusės viršutinės išpjovos.

Jei pratekamosios kiuvetės nepavyksta panaudoti iškart, žr. [Eksploatacinių medžiagų grąžinimas į laikymo vietą 83 psl.](#)

2. Išimkite pratekamąją kiuvetę iš pakuotės.

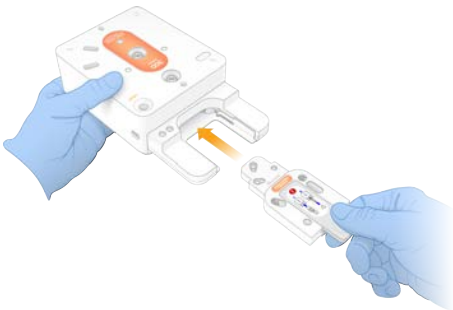
Folijos pakuotę ir sausiklį padėkite į šalį tam, jei pratekamąją kiuvetę reikėtų grąžinti į laikymo vietą. Sausiklis yra maišelyje, esančiame folijos pakuotės apačioje. Išmeskite juos, kai prasidės sekos nustatymas.



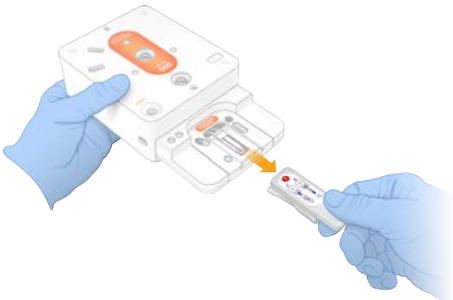
3. Pratekamąją kiuvetę laikykite už pilkos sąselės, ant jos esančią etiketę nukreipę į viršų.

4. Pratekamąją kiuvetę stumdami įstatykite į lizdą kasetės priekyje.

Spragtelėjimas reiškia, kad pratekamoji kiuvetė užfiksuota vietoje. Kai kasetė tinkamai įdėta, pilka sąselė išsikiša iš jos.



5. Patraukdami pilką sąselę nuimkite, kad atidengtumėte pratekamąją kiuvetę. Sąselę perdirbkite.



Bibliotekų įdėjimas

1. Nauju P1000 pipetės antgaliu pradurkite bibliotekos rezervuarą ir stumkite foliją iki kraštų, padidindami angą.
2. Pipetės antgalį išmeskite, kad išvengtumėte užteršimo.
3. Į rezervuaro *apačią* įpilkite 20 µl atskiestos bibliotekos – pipetės antgalį lėtai leiskite į rezervuaro apačią ir sušvirkškite. Stenkitės neliesti folijos.





Sekos nustatymo vykdymo paleidimas

Šiuo veiksmu paleidžiamas sekos nustatymo vykdymas, naudojant vieną iš toliau nurodytų keturių režimų.


- **Režimas „Cloud“ (debesis)** – vykdymas pasirenkamas iš „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinėje įrangoje suplanuotų vykdymų sąrašo. Nustatant seką cBCL duomenys nusiunčiami į „BaseSpace“ sekos centrą. Nustačius seką, „BaseSpace“ sekos centre automatiškai paleidžiama DRAGEN.
- **Režimas „Hybrid“ (mišrusis)** – vykdymas pasirenkamas iš „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinėje įrangoje suplanuotų vykdymų sąrašo. Nustačius seką, automatiškai pradedama prietaise atliekama analizė. cBCL duomenys ir DRAGEN antrinės analizės išvesties failai išsaugomi pasirinktame išvesties aplanke.
- **Režimas „Local“ (vietinis)** – 2 v. failo formato mėginių lapas rankiniu būdu importuojamas į „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą. Nustačius seką, automatiškai pradedama prietaise atliekama analizė. cBCL duomenys ir DRAGEN antrinės analizės išvesties failai išsaugomi pasirinktame išvesties aplanke. Jei pasirinkta „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), analizę taip pat galima paleisti naudojant „BaseSpace“ sekos centro programas baigus nustatyti sekas.

- **Režimas „Standalone“ (autonominis)** – nustatykite vykdymą vadovaudamiesi nurodymais, pateiktais „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinėje įrangoje, kad sugeneruotumėte cBCL duomenis.

 Atidarius apsauginį skydelį atliekant patikrą prieš vykdymą arba vykdymo metu, gali kilti vykdymo klaidų.


 Atidarydami ir uždarydami apsauginį skydelį, laikykite rankas atokiau nuo prietaiso, kad nesusižeistumėte.

Vykdymo paleidimas režimu „Cloud“ (debesis) arba „Hybrid“ (mišrusis)

1. Sukonfigūruokite vykdymo režimą, kaip aprašyta dalyje [Vykdymo režimo konfigūravimas 20 psl.](#)
 2. Pasirinkite **Start** (pradėti).
 3. Įveskite savo „BaseSpace“ sekos centro prisijungimo kredencialus ir pasirinkite **Sign In** (prisijungti).
 4. Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), pasirinkite darbo grupę, kurioje yra jūsų vykdymas, sukurtas „BaseSpace“ sekos centre atliekant prietaiso paleidimo sąranką.
-  Darbo grupę reikia pasirinkti norint išvengti klaidų. Prieš tęsdami įsitikinkite, kad pasirinkote darbo grupę.
5. Pasirinkite **Next** (toliau).
 6. Pasirinkite savo vykdymą.
 7. Įsitikinkite, kad „Analysis“ (analizė), „Run Length“ (vykdymo trukmė) ir „Secondary Analysis“ (antrinė analizė) versijos atitinka tinkamą vykdymą.
Analizė rodo „Cloud_“ – tai nurodo, kad analizė vyksta „BaseSpace“ sekos centre.
 8. Pasirinkite **Review** (peržiūrėti).
 9. **[Pasirenkama]** Įveskite pasirinktinio nuskaitymo pradmenis ir pasirinktinio indekso pradmenis vietas. Informacijos apie pasirinktinių pradmenų paruošimą ir pridėjimą rasite „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ pasirinktinių pradmenų vadove (dokumento Nr. 1000000139569). Būtinai apsilankykite savo bibliotekų paruošimo rinkinio puslapyje „Compatible Products“ (suderinami produktai) ir patikrinkite, ar „Illumina“ pasirinktiniai pradmenys yra būtini.
 10. **[Pasirenkama]** Pasirinkite pasirinktinį receptą. Daugiau informacijos rasite dalyje [Tamsiojo ciklo sekos nustatymas 101 psl.](#)
Jei naudojama 1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga ir „Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus“ rinkinys arba „Illumina Stranded mRNA Prep“ rinkinys, pasirinktinis receptas pasirenkamas automatiškai.

11. **[Pasirenkama]** Norėdami bibliotekas denatūruoti ir skiesti rankiniu būdu, panaikinkite žymimojo langelio **Denature and Dilute On Board** (denatūruoti ir skiesti prietaise) žymėjimą. Žr. „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ bibliotekų denatūravimo ir skiedimo vadovą (dokumento Nr. 1000000139235).
Numatytoji pasirinktis sukonfigūruota „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos nuostatose.
12. **[Pasirenkama]** Norėdami pakeisti išvesties aplanką, pasirinkite lauką „Output Folder“ (išvesties aplankas) ir įveskite naują vietą.
Laukas „Output Folder“ (išvesties aplankas) automatiškai užpildomas pagal jūsų numatytąsias nuostatas ir yra būtinas, nebent pasirinkta **Proactive, Run Monitoring and Storage** („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas).
Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), prie parinktės „Save to BaseSpace Sequence Hub“ (įrašyti į „BaseSpace“ sekos centrą) rodoma „Enabled“ (įjungta).
Jei pasirinkote „Proactive and Run Monitoring“ („Proactive“ ir vykdymų stebėjimas), prie parinktės „Save to BaseSpace Sequence Hub“ (įrašyti į „BaseSpace“ sekos centrą) rodoma „Disabled“ (išjungta).
13. Peržiūrėkite vykdymo informaciją ir pasirinkite **Prep** (paruošimas).

Vietinio vykdymo paleidimas

1. Sukonfigūruokite vykdymo režimą, kaip aprašyta dalyje [Vykdymo režimo konfigūravimas 20 psl.](#)
 2. Pasirinkite **Start** (pradėti).
 3. Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas) arba „Proactive and Run Monitoring“ („Proactive“ ir vykdymų stebėjimas), įveskite savo „BaseSpace“ sekos centro prisijungimo kredencialus ir pasirinkite **Sign In** (prisijungti).
 4. Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), pasirinkite „BaseSpace“ sekos centro darbo grupę, kurioje bus įrašomas jūsų vykdymas, tada pasirinkite **Next** (toliau).
-  Darbo grupę reikia pasirinkti norint išvengti klaidų. Prieš tęsdami įsitikinkite, kad pasirinkote darbo grupę.
5. Dalyje „Start With Sample Sheet“ (pradėti nuo mėginių lapo) pasirinkite **Choose...** (pasirinkti) ir nueikite prie 2 v. formato mėginių lapo „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ prietaise, nešiojamajame diske arba prijungtame tinklo diske. Mėginių lapų failų pavadinimuose negali būti specialiųjų rašmenų.
1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga iš mėginių lapo automatiškai aptinka DRAGEN versiją ir, jei reikia, paragina versijas pakeisti. Sistemoje turi būti įdiegta DRAGEN versija. Informacijos apie diegimą rasite dalyje [Programinės įrangos naujinimas 76 psl.](#)

- **Instrument Run Setup Used** (prietaiso paleidimo sąranka naudojama) – pasirinkite .zip aplanką, kuriame yra 2 v. mėginių lapas ir pagalbiniai failai (jei taikoma). Kitu atveju pasirinkite 2 v. mėginių lapą.
- **Instrument Run Setup Not Used** (prietaiso paleidimo sąranka nenaudojama) – įsitikinkite, kad antrinės analizės pagalbinis failas yra tame pačiame kataloge, kaip 2 v. mėginių lapas.

i Pasirinktas mėginių lapas turi būti 2 v. formato. Norėdami sukurti 2 v. mėginių lapą, jį sugeneruotą atsisiųskite „BaseSpace“ sekos centre atlikdami prietaiso paleidimo sąranką arba redaguokite 2 v. mėginių lapą, pateikiamą „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ pagalbos puslapyje. Daugiau informacijos apie 2 v. mėginių lapo formatavimą ir jam taikomus reikalavimus rasite dalyje [2 v. mėginių lapo nuostatos 88 psl.](#) Įsitikinkite, kad visi mėginių lape nurodyti failai yra tame pačiame aplanke, kaip mėginių lapas.

6. Pasirinkite **Review** (peržiūrėti).
7. **[Pasirenkama]** Įveskite pasirinktinio nuskaitymo pradmenų ir pasirinktinio indekso pradmenų vietas. Informacijos apie pasirinktinių pradmenų paruošimą ir pridėjimą rasite „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ pasirinktinių pradmenų vadove (dokumento Nr. 1000000139569). Būtinai apsilankykite savo bibliotekų paruošimo rinkinio puslapyje „Compatible Products“ (suderinami produktai) ir patikrinkite, ar „Illumina“ pasirinktiniai pradmenys yra būtini.
8. **[Pasirenkama]** Pasirinkite pasirinktinį receptą. Daugiau informacijos rasite dalyje [Tamsiojo ciklo sekos nustatymas 101 psl.](#)
Jei naudojama 1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga ir „Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus“ rinkinys arba „Illumina Stranded mRNA Prep“ rinkinys, pasirinktinis receptas pasirenkamas automatiškai.
9. **[Pasirenkama]** Norėdami bibliotekas denatūruoti ir skiesti rankiniu būdu, panaikinkite žymimojo langelio **Denature and Dilute On Board** (denatūruoti ir skiesti prietaise) žymėjimą. Žr. „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ bibliotekų denatūravimo ir skiedimo vadovą (dokumento Nr. 1000000139235).
Numatytoji pasirinktis sukonfigūruota „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos nuostatose.
10. **[Pasirenkama]** Norėdami pakeisti išvesties aplanką, pasirinkite lauką „Output Folder“ (išvesties aplankas) ir įveskite naują vietą.
Laukas „Output Folder“ (išvesties aplankas) automatiškai užpildomas pagal jūsų numatytąsias nuostatas ir yra būtinas, nebent pasirinkta Proactive, Run Monitoring and Storage („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas).
Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), prie parinktųjų „Save to BaseSpace Sequence Hub“ (įrašyti į „BaseSpace“ sekos centrą) bus rodoma „Enabled“ (įjungta).
Jei pasirinkote „Proactive and Run Monitoring“ („Proactive“ ir vykdymų stebėjimas), prie parinktųjų „Save to BaseSpace Sequence Hub“ (įrašyti į „BaseSpace“ sekos centrą) rodoma „Disabled“ (išjungta).

11. Peržiūrėkite vykdymo informaciją ir pasirinkite **Prep** (paruošimas).

Autonominio vykdymo paleidimas

1. Sukonfigūruokite vykdymo režimą, kaip aprašyta dalyje [Vykdymo režimo konfigūravimas 20 psl.](#)
2. Pasirinkite **Start** (pradėti).
3. Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas) arba „Proactive and Run Monitoring“ („Proactive“ ir vykdymų stebėjimas), įveskite savo „BaseSpace“ sekos centro prisijungimo kredencialus ir pasirinkite **Sign In** (prisijungti).
4. Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), pasirinkite „BaseSpace“ sekos centro darbo grupę, kurioje bus įrašomas jūsų vykdymas, tada pasirinkite **Next** (toliau).
5. Pasirinkite **Set Up New Run** (nustatyti naują vykdymą).
6. Lauke „Run Name“ (vykdymo pavadinimas) įveskite unikalų pageidaujamą pavadinimą, kad identifikuotumėte dabartinį vykdymą.
Vykdymo procedūros pavadinime gali būti rašmenų, sudarytų iš skaičių, raidžių, brūkšnelių ir pabraukimo brūkšnių.
7. Prie „Read Type“ (nuskaitymo tipas) pasirinkite, kiek sekos nustatymo nuskaitymų atlikti.
 - **Single Read** (vienas nuskaitymas) – atlikite vieną nuskaitymą – tai paprastesnis ir greitesnis būdas.
 - **Paired End** (suporuota pagal galą) – atlikite du nuskaitymus, kurie suderinti generuoja aukštesnės kokybės duomenis ir teikia tikslesnę lygiavimą.
8. Įveskite kiekvieno nuskaitymo metu atliekamų ciklų skaičių.
Didžiausio indekso ciklų skaičiaus nėra, tačiau nuskaitymo ciklų ir indekso ciklų suma turi būti mažesnė už ciklų skaičių, nurodytą kasetės etiketėje, pridėjus 27.
Read 1 (1-asis nuskaitymas) – įveskite **1–151** cikl.
Index 1 (1-asis indeksas) – įveskite ciklų, skirtų 1-ojo indekso (i7) pradmeniui, skaičių. Jei atliekate tik „PhiX“ seriją, abiejuose indekso laukuose įveskite **0**.
Index 2 (2-asis indeksas) – įveskite ciklų, skirtų 2-ojo indekso (i5) pradmeniui, skaičių.
Read 2 (2-asis nuskaitymas) – įveskite iki **151** ciklo. Ši vertė paprastai sutampa su „Read 1“ (1-asis nuskaitymas) verte.
9. Jei pasirinkote „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), pasirinkite **Choose...** (pasirinkti), kad importuotumėte mėginių lapą.
1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga iš mėginių lapo automatiškai aptinka DRAGEN versiją ir, jei reikia, paragina versijas pakeisti. Sistemoje turi būti įdiegta DRAGEN versija. Informacijos apie diegimą rasite dalyje [Programinės įrangos naujinimas 76 psl.](#)

- i** | Pasirinktas mėginių lapas turi būti 2 v. formato. Norėdami sukurti 2 v. mėginių lapą, jį sugeneruotą atsisiųskite „BaseSpace“ sekos centre atlikdami prietaiso paleidimo sąranką arba redaguokite 2 v. mėginių lapą, pateikiamą „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ pagalbos puslapyje. Daugiau informacijos apie 2 v. mėginių lapo formatavimą ir jam taikomus reikalavimus rasite dalyje [2 v. mėginių lapo nuostatos 88 psl.](#) Įsitinkite, kad visi mėginių lape nurodyti failai yra tame pačiame aplanke, kaip mėginių lapas.
10. **[Pasirenkama]** Įveskite pasirinktinio nuskaitymo pradmens ir pasirinktinio indekso pradmens vietas. Informacijos apie pasirinktinių pradmenų paruošimą ir pridėjimą rasite „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ pasirinktinių pradmenų vadove (dokumento Nr. 1000000139569). Būtinai apsilankykite savo bibliotekų paruošimo rinkinio puslapyje „Compatible Products“ (suderinami produktai) ir patikrinkite, ar „Illumina“ pasirinktiniai pradmenys yra būtini.
 11. **[Pasirenkama]** Pasirinkite pasirinktinį receptą. Daugiau informacijos rasite dalyje [Tamsiojo ciklo sekos nustatymas 101 psl.](#)
 12. **[Pasirenkama]** Norėdami bibliotekas denatūruoti ir skiesti rankiniu būdu, panaikinkite žymimojo langelio **Denature and Dilute On Board** (denatūruoti ir skiesti prietaise) žymėjimą. Žr. „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ bibliotekų denatūravimo ir skiedimo vadovą (dokumento Nr. 1000000139235).
Numatytoji pasirinktis sukonfigūruota „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos nuostatose.
 13. **[Pasirenkama]** Norėdami pakeisti išvesties aplanką, pasirinkite lauką „Output Folder“ (išvesties aplankas) ir įveskite naują vietą.
Laukas „Output Folder“ (išvesties aplankas) automatiškai užpildomas pagal jūsų numatytąsias nuostatas ir yra būtinas, nebent pasirinkta Proactive, Run Monitoring and Storage („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas).
 14. Pasirinkite **Prep** (paruošimas).

Eksploatacinių medžiagų įdėjimas į prietaisą

1. Prieš įdėdami pratekamąją kiuvetę (nuėmę pilką ašelę) ir atskiestą biblioteką, būtinai atšildykite ir 10 kartų apverskite kasetę, kad ji susimaišytų.
2. Pasirinkite **Load** (įdėti).
„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga atidaro apsauginį skydelį ir išstumia dėklą.

3. Kasetę ant dėklo pastatykite etikete viršų, o pratekamoji kiuvetė turi patekti į prietaiso vidų. Stumkite kasetę, kol ji užsifiksuos lizde.



4. Pasirinkite **Close** (uždaryti), kad įtrauktumėte kasetę ir uždarytumėte apsauginį skydelį. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga po maždaug 3 minučių rodo informaciją apie nuskaitytas eksploatacines medžiagas.
5. [Pasirenkama] Norėdami išimti kasetę, pasirinkite **Eject Cartridge** (išimti kasetę). Po 1 minutės atsidaro apsauginis dangtelis ir išstumia kasetę.
6. Pasirinkite **Sequence** (seka).

Prieš vykdant atliekamos patikros

Prieš vykdant atliekamos patikros apima prietaiso patikrą ir skysčių sistemos patikrą. Vykstant skysčių sistemos patikrai, praduriami kasetės sandarikliai, todėl iš prietaiso pasigirsta 3–4 pokštelėjimo garsai. Tai yra normalu. Tada reagentas leidžiamas per pratekamąją kiuvetę.

! | Prasidėjus skysčių sistemos patikrai, eksploatacinių medžiagų pakartotinai naudoti negalima.

1. Palaukite maždaug 15 minučių, kol baigsis išankstinės patikros. Vykdymas paleidžiamas automatiškai po sėkmingo užbaigimo.
2. Jei tikrinant prietaisą įvyksta kokia nors klaida, pasirinkite **Retry** (bandyti dar kartą), kad patikra būtų atlikta iš naujo. Kai atliekama patikra, tos patikros apskritimas animuojamas.
3. Norėdami pašalinti pasikartojančias klaidas, žr. [Klaidų pranešimų šalinimas 82 psl.](#)

Vykdymo eigos stebėjimas

1. Stebėkite vykdymo eigą ir metriką, rodomą ekrane „Sequencing“ (sekos nustatymas).
 - **Estimated run completion** (numatytasis vykdymo baigimo laikas) – apytikslė vykdymo baigimo data ir laikas. Norint naudoti numatytojo vykdymo baigimo laiko metriką, reikia anksčiau būti atlikus 10 vykdymų, kad būtų apskaičiuotas tikslus vykdymo baigimo laikas.

- **Average %Q30** (vidutinis Q30 %) – vidutinis bazių priskyrimų procentinis dydis, kurio Q įvertis yra ≥ 30 .
- **Projected Yield** (prognozuojamas kiekis) – numatomas bazių, kurios priskiriamos vykdymui, skaičius.
- **Total Reads PF** (bendrasis filtrą perėjusių nuskaitymų skaičius) – pagal galą suportuotų (jei taikoma) sankaupų, praleistų per filtrą, skaičius (milijonais).
- **Real Time Demux** (išskirstymas realiuoju laiku) – išskirstymo būseną, kai jis pradamas 2-ojo nuskaitymo pradžioje, baigus 1-ojo nuskaitymo, 1-ojo indekso ir 2-ojo indekso ciklus. Bus rodoma būseną „Complete“ (baigta), net jei nebus atliekami indekso ciklai. Nepasiekama vykstant režimu „Cloud“ (debesis).
- **Real Time Alignment** (prilygiavimas realiuoju laiku) – 1-ojo nuskaitymo prilygiavimo būseną, kai jis pradamas 2-ojo nuskaitymo pradžioje, baigus 1-ojo nuskaitymo, 1-ojo indekso ir 2-ojo indekso ciklus. Nepasiekama vykstant režimu „Cloud“ (debesis).

Q30 ir kiekio metrika pradami rodyti po 26-o ciklo (praėjus maždaug 6 val. po vykdymo pradžios).

2. Norėdami stebėti vykdymo procesus, pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **Process Management** (procesų valdymas).
3. Norėdami vykdytą atšaukti, pasirinkite **End Run** (baigti vykdytą). Daugiau informacijos apie vykdytų atšaukimą rasite dalyje [Vykdytą atšaukimas 83 psl.](#)
4. Išimkite eksploatacines medžiagas iš prietaiso. Kasetę iš prietaiso išimkite per 3 dienas.

Eksploatacinių medžiagų išėmimas

1. Kai sekos nustatymas baigtas, pasirinkite **Eject Cartridge** (išstumti kasetę). Programinė įranga išstumia panaudotą kasetę iš prietaiso.
2. Išimkite kasetę iš dėklo.
3. Išimkite pratekamąją kiuvetę iš kasetės.
4. Kiuvetę, sudarytą iš elektroninių komponentų, utilizuokite laikydamiesi jūsų regione taikomų reikalavimų.
5. [Pasirenkama] Ištraukite išleidimo kamštį, esantį po „Illumina“ logotipu kasetės šone, kasetę laikydami virš tinkamos vietos (t. y., kriauklės ar pavojingų skystųjų atliekų talpyklos), kamštį nukreipę horizontaliai arba žemyn, toliau nuo veido. Panaudotus reagentus išleiskite laikydamiesi jūsų regione taikomų standartų. Jei neįjungta automatinio reagentų valymo funkcija, išleidimo trukmė priklausys nuo kasetės dydžio.

! Šiame reagentų rinkinyje yra galimai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Su panaudotais reagentais elkitės kaip su cheminėmis atliekomis ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų. Papildomos aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape adresu support.illumina.com/sds.html.

6. Reagentų kasetę išmeskite.
Atlikus vykdymą dėklo plauti nereikia, nes skysčiai išpilami kartu su kasete.
7. Pasirinkite **Close Door** (uždaryti dureles), kad iš naujo įdėtumėte dėklą ir grįžtumėte į pagrindinį ekraną.
Programinė įranga automatiškai iš naujo įdeda dėklą, o jutikliai patvirtina, kad kasetė išimta.

Kasetės dėklo valymas

Kasetės dėklą valyti būtina tik tuo atveju, jei ant jo užtekėjo reagento.

1. Išimkite kasetę iš prietaiso.
2. Užsimaukite naujas pirštines be talko ir papildomas apsaugos priemones.
3. Ant audeklo užpurškite 10 % baliklio tirpalo.
4. Audeklu nušluostykite kasetės dėklą, tada iš karto pašalinkite baliklio tirpalą pramonine šluoste. Jei baliklis iš karto nepašalinamas, jis nudažo kasetės dėklą.
5. Ant kasetės dėklo užpurškite 70 % etanolio tirpalo ir iš karto jį pašalinkite pramonine šluoste.
6. Kasetės dėklą vėl nustatykite įdėjimo padėtyje.

Sekos nustatymo išvestis

Šioje dalyje aprašoma analizės realiuoju laiku programinė įranga, kuri atlieka bazių priskyrimą, priskiria kokybės įverčius ir pateikia duomenis. Sužinokite apie skirtingus išvesties failų tipus ir kur juos rasti po vykdymo.

Analizės realiuoju laiku apžvalga

„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemos prietaiso skaičiavimo modulyje (CE) naudoja RTA3 – pritaikytą analizės realiuoju laiku programinės įrangos versiją. RTA3 iš vaizdų, gautų iš kameros, išskiria intensyvumą, atlieka bazių priskyrimą, jiems priskiria kokybės įvertį, atlieka prilygiavimą prie „PhiX“ ir pateikia duomenis kaip „InterOp“ failus, kuriuos galima peržiūrėti prietaiso valdymo programinėje įrangoje.

Optimizuodama apdorojimo trukmę, RTA3 informaciją saugo atmintyje. Jei RTA3 nutraukiama, apdorojimas nepratęsiamas ir prarandami visi atmintyje apdorojami vykdymo duomenys.

RTA3 įvestys

RTA3 apdorojimo operacijai reikalingi išklotinių vaizdai, esantys vietinės sistemos atmintyje. RTA3 iš valdymo programinės įrangos gauna vykdymų duomenis ir komandas.

RTA3 išvestys

Kiekvieno spalvos kanalo vaizdai į atmintį ir RTA3 perduodami kaip išklotinės. Iš šių vaizdų RTA3 pateikia įvertintos kokybės bazių priskyrimo failų ir filtro failų rinkinį. Visos kitos išvestys palaiko išvesties failus.

Failo tipas	Aprašas
Bazių priskyrimo failai	Kiekviena analizuojama išklotinė įtraukiama į sujungtą bazių priskyrimo (*.cbcl) failą. Tos paties takelio ir paviršiaus išklotinės sujungiamos į 1 *.cbcl failą.
Filtro failai	Kiekviena išklotinė sukuria filtro failą (*.filter), nurodantį, ar sankaupa praleidžiama per filtrus.
Sankaupos vietų failai	Sankaupos vietų (*.locs) failuose pateikiamos kiekvienos išklotinėje esančios sankaupos X, Y koordinatės. Sugeneruojamas kiekvieno vykdymo sankaupų vietų failas.

Išvesties failai naudojami pasrovinei analizei naudojant DRAGEN ir „BaseSpace“ sekos centrą.

Klaidų apdorojimas

RTA3 sukuria žurnalo failus ir įrašo juos į aplanką „Logs“ (žurnalai). Klaidos įrašomos į tekstinį failą *.log failo formatu.

Toliau nurodyti žurnalo failai baigus apdoroti perkeliami į galutinę išvesties paskirties vietą.

info_00000.log apibendrina svarbius vykdymo įvykius.

Failė error_00000.log nurodomos vykdymo metu įvykusios klaidos.

Failė warning_00000.log nurodomi vykdymo metu pateikti įspėjimai.

Pratekamosios kiuvetės išklotinės

Išklotinės yra pratekamosios kiuvetės mažos atvaizdavimo sritys. Kamera vienoje išklotinėje užfiksuoja vieną vaizdą.

„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P2 pratekamojoje kiuvetėje iš viso yra 132 išklotinės. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P3 pratekamojoje kiuvetėje iš viso yra 264 išklotinės.

5 lent. Pratekamosios kiuvetės išklotinės

Pratekamosios kiuvetės komponentas	„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P2 pratekamoji kiuvetė	„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ P3 pratekamoji kiuvetė	Aprašas
Takeliai	1	2	Takeliai yra optiškai skirtingi kanalai, tačiau juose neatskiri skysčiai.
Paviršiai	2	2	P2 ir P3 pratekamosios kiuvetės atvaizduojamos dviejuose paviršiuose: viršutiniame ir apatiniame. Pirmiausia atvaizduojamas viršutinis išklotinės paviršius.
Juostų viename takelyje	6	6	Juosta – tai pratekamosios kiuvetės takelio stulpelis.
Išklotinių vienoje juostoje	11	11	Išklotinė yra juostos dalis, kurioje vaizduojama atvaizduota pratekamosios kiuvetės sritis.
Iš viso sugeneruota išklotinių	132	264	Bendras išklotinių skaičius = takeliai × paviršiai × juostos × išklotinių vienoje juostoje skaičius.

Pavadinimų išsklotinėms suteikimas

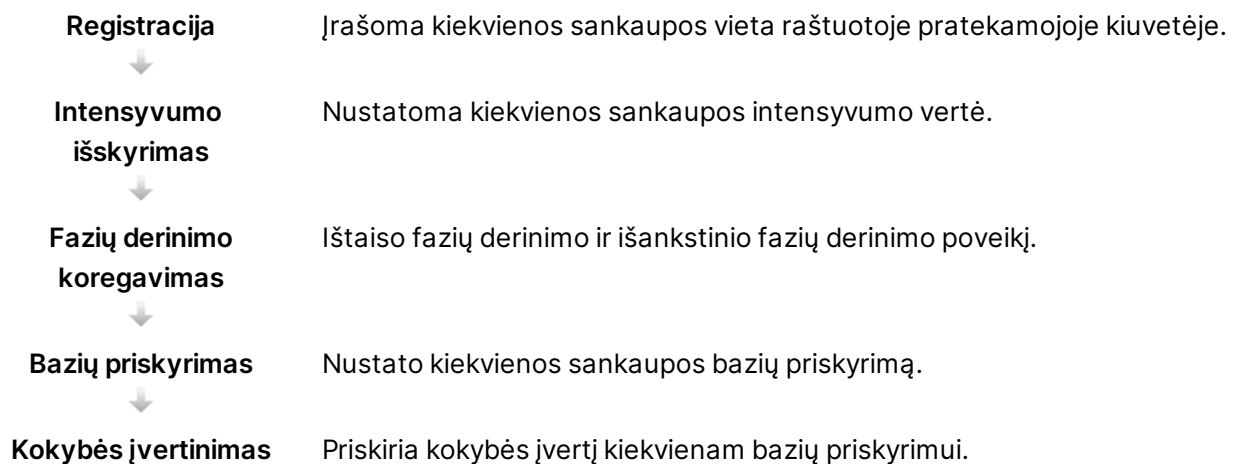
Išsklotinės pavadinimas yra keturženklis skaičius, nurodantis išsklotinės padėtį pratekamojoje kiuvetėje. Pavyzdžiui, išsklotinės pavadinimas „1205“ nurodo viršutinį paviršių, 2 juostą, 05 išsklotinę.

Pirmasis skaitmuo žymi paviršių: 1 – viršutinis, 2 – apatinis.

Antrasis skaitmuo žymi juostos numerį: 1, 2, 3, 4, 5 arba 6.

Du paskutiniai skaitmenys žymi išsklotinės numerį. Juostos, kurių numeriai yra 1–4, numeruojamos pradedant nuo 01 (pratekamosios kiuvetės išleidimo galas) iki 11 (įleidimo galas). Juostos, kurių numeriai yra 5–6, numeruojamos pradedant nuo 01 (įleidimo galas) iki 11 (išleidimo galas).

Analizės realiuoju laiku darbo eiga



Registracija

Registruojant vaizdas prilygiuojamas prie pasukto kvadratinės nanotelkinių matricos raštuotoje pratekamojoje kiuvetėje. Kadangi nanotelkiniai išdėstyti nustatyta tvarka, kiekvienos išsklotinėje esančios sankaupos X ir Y koordinatės yra nustatytos iš anksto. Atliekant kiekvieną vykdymą, sankaujų padėtys įrašomos į sankaujų vietų (s.locs) failą.

Jei bet kurio vaizdo cikle registracija nepavyksta, tai išsklotinei tame cikle nėra sugeneruojamas nė vienas bazių priskyrimas. Norėdami identifikuoti vaizdus, kurių užregistruoti nepavyko, naudokite sekos nustatymo analizės peržiūros programą.

Intensyvumo išskyrimas

Atlikus registraciją, išskiriant intensyvumą apskaičiuojama kiekvieno nanotelkinio tam tikrame vaizde intensyvumo vertė. Jei registracija nepavyko, tos išsklotinės intensyvumo išskirti negalima.

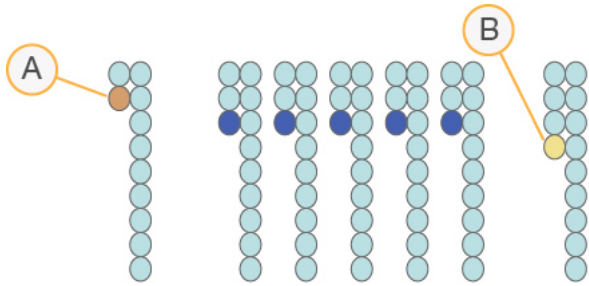
Fazių derinimo koregavimas

Sekos nustatymo reakcijos metu kiekviena sankaupoje esanti DNR grandinė per vieną ciklą pailginama viena baze. Fazių derinimas ir išankstinis fazių derinimas vyksta tada, kai grandinė tuo metu vykdomo integravimo ciklo metu atsiduria už fazės ribų.

Fazių derinimas vyksta tada, kai viena iš bazių atsilieka.

Išankstinis fazių derinimas vyksta tada, kai bazė atsiduria priekyje.

5 pav. Fazių derinimas ir išankstinis fazių derinimas



- A. Nuskaitymas esant bazei, kuriai atliekamas fazių derinimas
- B. Nuskaitymas esant bazei, kuriai atliekamas išankstinis fazių derinimas.

RTA3 ištaiso fazių derinimo ir išankstinio fazių derinimo poveikį maksimaliai padidindama duomenų kokybę kiekviename serijai priklausančiame cikle.

Bazių priskyrimas

Bazių priskyrimas nustato kiekvienos konkretaus ciklo duotosios išklotinės sankaupos bazę (A, C, G arba T). „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemose naudojamas dviejų kanalų sekos nustatymas, kurį vykdant keturių DNR bazių duomenims koduoti reikalingi tik du vaizdai: vienas iš žalio kanalo ir vienas iš mėlyno kanalo.

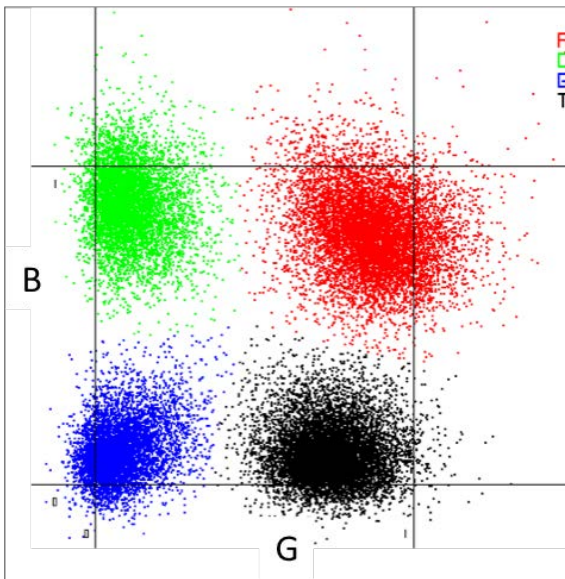
Nepriskyrimas identifikuojamas kaip „N“. Nepriskyrimas įvyksta, kai sankaupa nepraleidžiama per filtrą, nepavyksta registracija arba sankaupa nuslenkama nuo vaizdo.

Kiekvienos sankaupos intensyvumo vertės išskiriamos iš žalio ir mėlyno vaizdų bei palyginamos tarpusavyje, taip gaunant keturias skirtingas populiacijas. Kiekviena populiacija atitinka kokią nors bazę. Naudojant bazių priskyrimo procesą nustatoma, kuriai populiacijai priklauso kiekviena sankaupa.

6 lent. 2 kanalų sekos nustatymo bazių priskyrimai

Bazė	Žalias kanalas	Mėlynas kanalas	Rezultatas
A	1 (yra)	1 (yra)	Sankaupos, kurios rodo intensyvumą tiek žaliame, tiek mėlyname kanaluose.
C	0 (nėra)	1 (yra)	Sankaupos, kurios rodo intensyvumą tik mėlyname kanale.
G	0 (nėra)	0 (nėra)	Sankaupos, kurios nerodo jokio intensyvumo žinomoje sankaupos vietoje.
T	1 (yra)	0 (nėra)	Sankaupos, kurios rodo intensyvumą tik žaliame kanale.

6 pav. Sankaupų intensyvumo vizualizacija



i | Kiekvienos sankaupos spalva koreliuoja su bazių diagramų %, pateiktais sekos nustatymo analizės peržiūros programoje (SAV), ir „BaseSpace“ sekos centro pagal ciklą suskirstytais vykdymų duomenimis bei neturi koreliuoti su žaliu ir mėlynu kanalais.

Sankaupų praleidimas per filtrą

Serijos vykdymo metu RTA3 filtruoja neapdorotus duomenis, kad pašalintų nuskaitymus, kurie neatitinka duomenų kokybės slenkstinės vertės. Persidengiančios ir žemos kokybės sankaupos pašalinamos.

Atliekant dviejų kanalų analizę, RTA3 naudoja populiacija pagrįstą sistemą, kad nustatytų bazės priskyrimo tyrumą (intensyvumo grynumo matavimas). Sankaupos per filtrą (PF) praleidžiamos tada, kai per pirmuosius 25 ciklus ne daugiau kaip vieno bazės priskyrimo tyrumo vertė neviršija fiksuotos

slenkstinės vertės. Kai įtraukta „PhiX“ lygiavimo funkcija, jis atliekamas 26 cikle, sankaupų, praleistų per filtrą, išsklotinių pogrupyje. Sankaupos, kurios nepraleidžiamos per filtrą, nepriskiriamos bazei ir nelygiuojamos.

Kokybės įverčiai

Kokybės įvertis (Q įvertis) – tai netikslaus bazių priskyrimo tikimybės prognozė. Aukštesnis Q įvertis reiškia, kad bazių priskyrimas yra aukštesnės kokybės ir labiau tikėtina, kad jis bus tikslus. Nustačius Q įvertį, rezultatai įrašomi į bazių priskyrimų (*.cbcl) failus.

Q įvertis glaustai praneša apie nedidelę klaidų tikimybę. Kokybės įverčius nurodo Q(X) (X yra įvertis). Toliau pateiktoje lentelėje parodytas ryšys tarp kokybės įverčio ir klaidos tikimybės.

Q įvertis Q (X)	Klaidos tikimybė
Q40	0,0001 (1 iš 10 000)
Q30	0,001 (1 iš 1000)
Q20	0,01 (1 iš 100)
Q10	0,1 (1 iš 10)

Kokybės įvertinimas ir deklaravimas

Įvertinant kokybę, apskaičiuojami kiekvieno bazių priskyrimo prognozių rinkiniai ir tada naudojamos prognozių vertės, kad kokybės lentelėje būtų galima peržvelgti Q įvertį. Kokybės lentelės kuriamos tam, kad būtų teikiamos optimaliai tikslios prognozės dėl vykdymo procedūrų, sugeneruotų pagal konkrečią sekos nustatymo platformos ir cheminės analizės versijos konfigūraciją.



Kokybės įvertinimas grindžiamas modifikuota „Phred“ algoritmo versija.

Norint generuoti Q lentelę „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemoms, buvo nustatytos trys bazių priskyrimo grupės, remiantis šių specifinių prognozavimo požymių grupavimu. Sugrupavus bazių priskyrimus, buvo empiriškai apskaičiuotas kiekvienos iš trijų grupių vidutinis klaidų dažnis, o atitinkami Q įverčiai buvo įrašyti Q lentelėje kartu su tai grupei koreliuojančiais prognozavimo požymiais. Todėl naudojant RTA3 galimi tik trys Q įverčiai, kurie rodo vidutinį grupės klaidų dažnį ([Supaprastintas kokybės įvertinimas naudojant RTA3 62 psl.](#)). Apskritai tokiu būdu kokybė įvertinama paprasčiau, tačiau labai tiksliai. Trys kokybės lentelės grupės atitinka ribinius (< Q15), vidutinius (~Q20) ir aukštos kokybės (> Q30) bazių priskyrimus bei joms atitinkamai priskiriami konkretūs įverčiai – 12, 23 ir 37. Be to, nepriskyrimams priskiriamas nulinis balas „2“. Naudojant šį Q įverčių deklaravimo modelį reikia mažiau saugojimo vietos ir pralaidumo, o tikslumas ar našumas nepakinta.

7 pav. Supaprastintas kokybės įvertinimas naudojant RTA3



Sekos nustatymo išvesties failai

Failo tipas	Failo aprašas, vieta ir pavadinimas
Sujungti bazių priskyrimo failai	Į sujungtą bazių priskyrimo failą įtraukiama kiekviena išanalizuota sanakaupa, apibendrinta viename atskiro ciklo, takelio ir paviršiaus faile. Apibendrintame faile pateikiamas sujungtas bazių priskyrimas ir užkoduotas kiekvienos sanakupos kokybės įvertis. Sujungtus bazių priskyrimo failus naudoja „BaseSpace“ sekos centras arba bcl2fastq2. Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[takelis]_[paviršius].cbcl, pavyzdžiui, L001_1.cbcl
Sanakupos vietų failai	Dvejetainiame sanakupų vietų faile pateikiamos kiekvienos pratekamosios kiuvetės išsklotinės sanakupų XY koordinatės. Koordinatės iš ankso išdėstomos šešiakampio forma, atitinkančia pratekamosios kiuvetės nanotelkinių išdėstymą. Data\Intensities s_[takelis].locs
Filtro failai	Filtro faile nurodoma, ar sanakaupa buvo praleista per filtrus. Filtro failai sugeneruojami 26-ame cikle, naudojant 25 duomenų ciklus. Kiekvienai išsklotinei sugeneruojamas vienas filtro failas. Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[takelis]_[išsklotinė].filter

Failo tipas	Failo aprašas, vieta ir pavadinimas
„InterOp“ failai	Dvejetainius deklaratyviuosius failus galima peržiūrėti prietaise, naudojant prietaiso valdymo programinę įrangą, arba ne prietaise, naudojant SAV arba „BaseSpace“ sekos centrą. „InterOp“ failai atnaujinami viso vykdymo procedūros metu. „InterOp“ aplankas
Vykdymo informacinis failas	Pateikiamas vykdymo procedūros pavadinimas, kiekvieno nuskaitymo ciklą skaičius, ar tai – indeksuotas nuskaitymas, ir pratekamojoje kiuvetėje esančių juostų bei išsklotinių skaičius. Vykdymo informacinis failas sukuriamas vykdymo pradžioje. [Root folder] (šaknis aplankas), RunInfo.xml

DRAGEN antrinės analizės išvesties failai

DRAEN „Bio-IT“ platforma jūsų sekos nustatymo išvestį prietaise išanalizuoja dar išsamiau, naudodama vieną iš toliau nurodytų analizės komandų grandinių.

- BCL konvertavimas
- Genocitų linija
- RNR
- Gausinimas
- Vienos ląstelės RNR
- DNA amplikonai

Šioje dalyje pateikiama informacija apie kiekvieną DRAGEN komandų grandinę, įskaitant informaciją apie išvesties failą. DRAGEN ne tik generuoja konkrečių komandų grandinių failus, bet ir pateikia metriką iš analizės faile `<mėginio_pavadinimas>.metrics.json` bei ataskaitose, aprašytose [DRAGEN BCL konvertavimo komandų grandinė 68 psl.](#) Daugiau informacijos apie DRAGEN rasite [DRAGEN „Bio-IT“ platformos pagalbos svetainės puslapyje.](#)

Visos DRAGEN komandų grandinės palaiko įvesties BCL failų išskleidimo ir išvesties BAM / CRAM failų glaudinimo galimybę.

Išvesties failų aspektai.

- Kai genocitų linijos, RNR, gausinimo ir DNR amplikonų komandų grandinės prietaise vykdo analizę ir pasirinkta „Proactive, Run Monitoring and Storage“ („Proactive“, vykdymų stebėjimas ir laikymas), BAM failai nebus nusiunčiami į „BaseSpace“ sekos centrą.

DRAGEN gausinimo komandų grandinė

DRAGEN gausinimo komandų grandinė palaiko toliau nurodytas funkcijas. Jei naudojama 3.7 ar naujesnė DRAGEN versija, palaikomas ir genocitų linijos, ir somatinis (tik navikų) režimai.

- Mėginių išskirstymas
- Susiejimas ir prilygiavimas, įskaitant rūšiavimą ir dublikatų žymėjimą
- Mažų variantų priskyrimas
- Struktūrinių variantų priskyrimas

Norint atlikti variantų priskyrimą, mėginių lape turi būti įtrauktas arba „BaseSpace“ sekos centre vykdant prietaiso paleidimo sąranką nurodytas *.bed failas. Struktūrinių variantų priskyrimas generuojamas tik naudojant pagal galą suporuotus nuskaitymus ir genocitų linijos režimą.

Jei naudojate 3.8 ar naujesnę DRAGEN gausinimo versiją, galite įvesti bazinį triukšmo failą, kad padidintumėte somatinio režimo našumą. Žr. [Bazinių triukšmo failų importavimas 19 psl.](#)

Komandų grandinė generuoja toliau nurodytus išvesties failus.

Komponentas	Tipas	Išvesties failo pavadinimas
Susiejimas / prilygiavimas	BAM arba CRAM	<ul style="list-style-type: none">• <mėginio_pavadinimas>.bam arba• <mėginio_pavadinimas>.cram
Mažų variantų priskyrimas	VCF ir gVCF*	<ul style="list-style-type: none">• <mėginio_pavadinimas>.hard-filtered.gvcf.gz• <mėginio_pavadinimas>.hard-filtered.vcf.gz
Struktūrinių variantų priskyrimas	VCF	<ul style="list-style-type: none">• <mėginio_pavadinimas>.sv.vcf.gz

* gVCF išvesties failai pasiekiami tik naudojant genocitų linijos režimą.

DRAGEN genocitų linijos komandų grandinė

DRAGEN genocitų linijos komandų grandinė palaiko toliau nurodytas funkcijas.

- Mėginių išskirstymas
- Susiejimas ir prilygiavimas, įskaitant rūšiavimą ir dublikatų žymėjimą
- Mažų variantų priskyrimas
- Pagal galą suporuotų nuskaitymų struktūrinių variantų priskyrimas
- Žmogaus genomų kopijų skaičiaus variantų priskyrimas
- Pakartotiniai žmogaus genomų išplėtimai
- Žmogaus genomų homozigotiškumo sritys
- **[DRAGEN 3.8 ar naujesnė versijos]** CYP2D6 aptikimas

Struktūrinių variantų priskyrimas generuojamas tik naudojant pagal galą suporuotus nuskaitymus.

Komandų grandinė generuoja toliau nurodytus išvesties failus.

Komponentas	Tipas	Išvesties failo pavadinimas
Susiejimas / prilygiavimas	BAM arba CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.bam arba <mėginio_pavadinimas>.cram
Mažų variantų priskyrimas	VCF ir gVCF	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.hard-filtered.gvcf.gz <mėginio_pavadinimas>.hard-filtered.vcf.gz
Struktūrinių variantų priskyrimo priemonė	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.sv.vcf.gz
Kopijų skaičiaus variantai	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.cnv.vcf.gz
Pakartotinis išplėtimas	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.repeats.vcf.gz
Homozigotiškumo sritys	CSV ir BED	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.roh_metrics.csv <mėginio_pavadinimas>.roh.bed
CYP2D6 aptikimas	TSV	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.cyp2d6.tsv

DRAGEN DNR amplikonų komandų grandinė

DRAGEN komandų grandinė palaiko toliau nurodytas funkcijas.

- Mėginių išskirstymas
- Susiejimas ir prilygiavimas, įskaitant rūšiavimą ir dublikatų žymėjimą
- Mažų variantų priskyrimas genocitų linijos arba somatiniu režimu.

Norint atlikti variantų priskyrimą, mėginių lape turi būti įtrauktas arba „BaseSpace“ sekos centre vykdant prietaiso paleidimo sąranką nurodytas *.bed failas.

Komandų grandinė generuoja toliau nurodytus išvesties failus.

Komponentas	Tipas	Išvesties failo pavadinimas
Susiejimas / prilygiavimas	BAM arba CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.bam arba <mėginio_pavadinimas>.cram
Mažų variantų priskyrimas	VCF ir gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <mėginio_pavadinimas>.hard-filtered.gvcf.gz <mėginio_pavadinimas>.hard-filtered.vcf.gz

* gVCF išvesties failai pasiekiami tik genocitų linijos režimu.

DRAGEN RNR komandų grandinė

DRAGEN RNR komandų grandinė palaiko toliau nurodytas funkcijas.

- Mėginių išskirstymas
- Susiejimas ir prilygiavimas, įskaitant rūšiavimą ir dublikatų žymėjimą
- Genų suliejimo aptikimas

- Kiekybinis transkriptonų nustatymas
- [DRAGEN 3.8 ar naujesnė versija] Diferencinė genų raiška

Norėdami generuoti išvesties failus, mėginių lape nurodykite GTF failą arba įsitikinkite, kad prie atskaitinio genomo pridėtas numatytasis `genes.gtf.gz`.

Komandų grandinė generuoja toliau nurodytus išvesties failus.

Komponentas	Tipas	Išvesties failo pavadinimas	Aprašas
Susiejimas / prilygiavimas	BAM arba CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <mėginio_pavadinimas>.bam arba • <mėginio_pavadinimas>.cram 	Prilygiavimo išvestis atitinka SAM specifikacijas.
Genų suliejimo aptikimas	Grynasis tekstas	• <mėginio_pavadinimas>.fusion_candidates.preliminary	• Suliejimo kandidatai prieš pritaikant filtrus.
		• <mėginio_pavadinimas>.fusion_candidates.final	• Suliejimo kandidatai pritaikius filtrus.
Kiekybinis transkriptonų nustatymas	Grynasis tekstas	<ul style="list-style-type: none"> • mėginio_pavadinimas.quant.genes.sf • mėginio_pavadinimas.quant.sf 	<ul style="list-style-type: none"> • Kiekybinio transkriptonų nustatymo rezultatai genų lygiu. • Visi kiekybinio transkriptonų nustatymo rezultatai.
Diferencinė raiška	PNG	Žr. toliau pateiktą diferencinės raiškos išvesties failų lentelę.	Norint generuoti išvesties failus, mėginių lape reikia nustatyti palyginimą.

Ijungus diferencinę raišką, pateikiami toliau nurodyti failai

Failo pavadinimas	Aprašas
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	Pateikiama diferencinės raiškos analizės metrika.
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	Nurodomas nuskaitymų, susietų su kiekvienu genu kiekviename mėginyje, esančiame kontrolinėje ir lyginamojoje grupėse.
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	Kontrolinėje ir lyginamojoje grupėse esančių mėginių diferenciškai išreikštų genų raiškos spalvinė schema. Spalvinėje schemoje rodomi tik tie diferenciškai išreikšti genai, kurių koreguotoji P vertė yra $<-,05$. Jei diferenciškai išreikštų genų yra daugiau nei 30, naudojami tik viršutiniai 30 diferenciškai išreikštų genų. Jei „DESeq1“ nepavyksta konverguoti arba jei diferenciškai išreikštų genų nėra, failas negeneruojamas.
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	Genų raiškos santykių variacija pateikiama kaip vidutinio signalo intensyvumo funkcija. Dviejuose mėginiuose atliktų matavimų skirtumai parodomi diagramoje duomenis paverčiant M (logaritminis santykis) ir A (vidurkis) skalėmis bei parodant vertes. MA diagramoje rodomi \log_2 pokyčiai kartais, priskirtini tam tikram kintamajam, palyginti su visų mėginių normalizuotų skaičių vidurkiu. Jei koreguotoji P vertė yra mažesnė nei 0,1, taškai yra raudoni. Į langą nepatenkantys taškai parodomi kaip atviri trikampiai. Į viršų nukreipti trikampiai reiškia teigiamą logaritminį pokytį kartais. Į apačią nukreipti trikampiai reiškia neigiamą logaritminį pokytį kartais.
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	Diagramoje rodomi pirmieji du pagrindiniai komponentai, paaiškinantys didžiausią variantiškumą.
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	Pateikiami „DESeq2“ rezultatai, apibūdinantys vidutinę raišką, \log_2 (pokytį kartais), standartinę \log_2 paklaidą, P vertę, koreguotąją P vertę ir kiekvieno geno raiškos būseną.
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	Pateikiami sureguliuoti logaritmiškai paversti skaičiai, kuriuos apskaičiavo „DESeq2“.

DRAGEN vienos ląstelės RNR komandų grandinė

DRAGEN palaiko toliau nurodytas funkcijas.

- Mėginių išskirstymas
- Susiejimas ir prilygiavimas, įskaitant rūšiavimą ir dublikatų žymėjimą
- Ląstelių ir genų klasifikacija

Norėdami generuoti išvesties failus, mėginių lape nurodykite GTF failą arba įsitikinkite, kad prie atskaitinio genomo pridėtas numatytasis `genes.gtf.gz`.

Komandų grandinė generuoja toliau nurodytus išvesties failus.

Komponentas	Tipas	Išvesties failo pavadinimas
Susiejimas / prilygiavimas	BAM arba CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <mėginio_pavadinimas>.bam arba • <mėginio_pavadinimas>.cram
Ląstelių / genų klasifikacija	TSV, CSV ir MTX	<ul style="list-style-type: none"> • <mėginio_pavadinimas>.scRNA.barcodeSummary.tsv • <mėginio_pavadinimas>.scRNA.genes.tsv • <mėginio_pavadinimas>.scRNA.matrix.mtx
Analizės ataskaitos	HTML	<mėginio_pavadinimas>.dragen.scrna-report.*.html

DRAGEN BCL konvertavimo komandų grandinė

Naudodama BCL duomenis, sugeneruotus iš jūsų sekos nustatymo vykdymo ir mėginių lapo informacijos, DRAGEN BCL konvertavimo komandų grandinė pateikia kiekvieno mėginio FASTQ failą. FASTQ failo pavadinimas yra <mėginio_pavadinimas>.fastq.gz.

Komandų grandinė generuoja toliau nurodytas ataskaitas.

Komponentas	Tipas	Išvesties failo pavadinimas
Išskirstymas	CSV	• Demultiplex_Stats.csv
Adapterių metrikos	CSV	• Adapter_Metrics.csv
Indeksų šokinėjimas	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv
Viršutiniai nežinomi brūkšniniai kodai	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv

Išskirstymo statistikos ataskaita

Išskirstymo statistikos ataskaitoje pateikiama informacija apie praleidimo per filtrą nuskaitymų, priskirtų kiekvienam mėginių lape esančiam mėginiui, skaičių. Nuskaitymai, kurie nėra aiškiai susieti su mėginiu, klasifikuojami kaip nenustatyti. Ataskaitoje taip pat pateikiama informacija apie kiekvienam mėginiui priskirtų praleidimo per filtrą (PF) nuskaitymų bazių kokybės įverčius.

Pateikiama toliau nurodyta informacija.

Metrika	Aprašas
Takelis	Pratekamosios kiuvetės takelis, kuriame buvo nustatyta mėginio seka.
Mėginio ID	Mėginio ID iš mėginių lapo. Jei nuskaitymas neatitinka jokio mėginio, lauke rodoma <code>undetermined</code> (nenustatyta).
Indeksas	Sujungti 1-asis indekso nuskaitymas ir 2-asis indekso nuskaitymas iš mėginių lapo, atskirti brūkšneliu. Jei nuskaitymas neatitinka jokio mėginio, lauke rodoma <code>undetermined</code> (nenustatyta).
Nuskaitymų sk.	Išskirstytų mėginio PF nuskaitymų skaičius nurodytame takelyje.
Tobulų indekso nuskaitymų sk.	Nuskaitymų, visiškai atitinkančių jungtines indeksų sekas, nurodytas mėginių lape, skaičius.
Vienos neatitikties indekso nuskaitymų sk.	Nuskaitymų su viena klaida jungtinėse indeksų sekose, nurodytose mėginių lape, skaičius.
Bazių (PF), kurių įvertis yra $\geq Q30$, sk.	Bazių, įskaitant adapterius, atitinkančių nuskaitymus, kurie peržengia $Q30$ kokybės slenkstinę vertę, skaičius.
Vidutinis kokybės įvertis (PF)	Nuskaitymų, atitinkančių mėginį nurodytame takelyje, vidutinis kokybės įvertis. Ši vertė apima adapterių bazes.

Adapterių metrikų ataskaitos

Adapterių metrikų faile pateikiamas su kiekvienu nuskaitymu susietų adapterių ir mėginių bazių skaičius.

Pateikiama toliau nurodyta informacija.

Metrika	Aprašas
Takelis	Pratekamosios kiuvetės takelis, kuriame buvo nustatyta mėginio seka.
Sample_ID	Mėginio ID iš mėginių lapo. Jei nuskaitymas neatitinka jokio mėginio, lauke rodoma <code>undetermined</code> (nenustatyta).

Metrika	Aprašas
index	„index1“ seka iš mėginių lapo. Jei „index“ nebuvo nurodytas mėginių lape arba mėginio ID vertė yra <code>undetermined</code> (nenustatyta), šis laukas yra tuščias.
index2	„index2“ seka iš mėginių lapo. Jei „index2“ nebuvo nurodytas mėginių lape arba mėginio ID vertė yra <code>undetermined</code> (nenustatyta), šis laukas yra tuščias.
R1_ AdapterBases	Bazių skaičius, atitinkantis mėginių lapo lauko „AdapterRead1“ vertę.
R1_ SampleBases	Pakoreguotos pradžios / pabaigos arba užmaskuotų 1 nuskaitymo bazių skaičius atitinkamame takelyje ir mėginyje.
R2_ AdapterBases	Bazių skaičius, atitinkantis mėginių lapo lauko „AdapterRead2“ vertę.
R2_ SampleBases	Pakoreguotos pradžios / pabaigos arba užmaskuotų 2 nuskaitymo bazių skaičius atitinkamame takelyje ir mėginyje.
Nuskaitymų sk.	Mėginio nuskaitymų skaičius nurodytame takelyje.

Indeksų šokinėjimo skaičių ataskaita

Indeksų šokinėjimo skaičių ataskaitoje pateikiamas kiekvieno numatomo ir peršokto indekso nuskaitymų skaičius atliekant dviejų indeksų serijas. Ataskaitoje pateikiami tik unikalūs dvigubi kiekvieno takelio indeksai, kai nėra viename indekse nenustatomas brūkšnių kodų susidūrimas. Norint generuoti kokio nors takelio indeksų šokinėjimo metrikas, kiekvienos įrašų poros kiekviename indekse hamingo atstumas turi būti bent $2N + 1$, kai N reiškia indekso nurodytą leistinąją brūkšnių kodų neatitiktį.

Pateikiama toliau nurodyta informacija.

Vykdamas neindeksuojamas serijas, vieno indekso serijas ar naudojant takelius, kuriuose nėra unikalių dvigubų indeksų, faile pateikiamos tik antraštės.

Metrika	Aprašas
Takelis	Pratekamosios kiuvetės takelis, kuriame buvo nustatyta mėginio seka.
Nuskaitymų sk.	Mėginio nuskaitymų skaičius nurodytame takelyje.
Mėginio ID	Mėginio ID iš mėginių lapo. Jei nuskaitymas neatitinka jokio mėginio, lauke rodoma <code>undetermined</code> (nenustatyta).
index	„index1“ seka iš mėginių lapo. Jei nuskaitymas yra vieno galo arba mėginio ID vertė yra <code>undetermined</code> (nenustatyta), šis laukas yra tuščias.
index2	„index2“ seka iš mėginių lapo. Jei nuskaitymas yra vieno galo arba mėginio ID vertė yra <code>undetermined</code> (nenustatyta), šis laukas yra tuščias.

Viršutinių nežinomų brūkšninių kodų ataskaita

Viršutinių nežinomų brūkšninių kodų ataskaitoje pateikiama 100 viršutinių takelio indeksų ar indeksų porų, kurie nebuvo identifikuoti mėginių lape pagal leidžiamų neatitikčių skaičių. Jei kaip 100-asis indeksų skaičiaus įrašas pateikiamos kelios indeksų vertės, kaip 100-asis įrašas pateikiamos visos to paties skaičiaus indeksų vertės.

Pateikiama toliau nurodyta informacija.

Metrika	Aprašas
Takelis	Pratekamosios kiuvetės takelis, kuriame buvo nustatyta mėginio seka.
index	Kiekvieno nežinomo indekso seka indekse „Read1“. Jei nežinomų indeksų nerandama, šis laukas yra tuščias.
index2	Kiekvieno nežinomo indekso seka indekse „Read2“. Jei seriją sudarė vienas nuskaitymas arba jei nežinomų indeksų nebuvo rasta, šis laukas yra tuščias.
Nuskaitymų sk.	Mėginio nuskaitymų skaičius nurodytame takelyje.

„Illumina“ DRAGEN KK ataskaitos

Naudojant visas komandų grandines DRAGEN „FastQC“ KK diagramas generuoja pagal numatytąsias nuostatas. Apibendrinti KK rezultatai saugomi aplanke `AggregatedFastqcMetrics`, o kiekvieno mėginio rezultatai saugomi aplanke `<mėginio_pavadinimas>`.

Jei mėginių skaičius yra didesnis nei 512, KK ataskaitos negeneruojamos.

Pateikiamos toliau nurodytos KK diagramos.

KK diagrama	Aprašas
adapter_content	Kiekvienos bazių poros sekų procentas.
positional_mean_quality	Vidutinis kiekvienos nuskaitymo padėties „Phred“ bazių kokybės įvertis.
gc_content	Kiekvieno nuskaitymo seką naudojamo nuskaitymo GC turinio procentas.
positional_quality.read_1	Bazių su konkrečiu nukleotidu ir esančių tam tikroje 1-ojo nuskaitymo vietoje vidutinė „Phred“ kokybės vertė.
gc_quality	
positional_quality.read_2	Bazių su konkrečiu nukleotidu ir esančių tam tikroje 2-ojo nuskaitymo vietoje vidutinė „Phred“ kokybės vertė.
n_content	

KK diagrama	Aprašas
read_length	Kiekvieno nuskaitymo sekos ilgis.
positional_base_content.read_1	Kiekvieno konkretaus nukleotido bazių skaičius nurodytose 1-ojo nuskaitymo vietose.
read_quality	Kiekvieno nuskaitymo seką naudojamą nuskaitymo vidutinis „Phred“ kokybės įvertis.
positional_base_content.read_2	Kiekvieno konkretaus nukleotido bazių skaičius nurodytose 2-ojo nuskaitymo vietose.

DRAGEN antrinės analizės išvesties aplanko struktūra

Numatyta, kad DRAGEN išvesties failus generuoja išvesties aplanke, kuris pasirinktas kortelėje „Settings“ (nuostatos). Faile `report.html` DRAGEN sukuria kiekvienos darbo eigos suvestinės ataskaitą.

📁 Data

📄 `report.html`

📄 `report_files`

📁 AggregateFastQCPlots

📄 `*.png`

📄 `*stderr_.txt`

📄 `*stdout_.txt`

📄 `dragen_prev_48_hrs.log`

📄 `dln_prev_48_hrs.log`

📄 `SampleSheet.csv`

📄 Serijų įvesties failai (pvz., BED, GTF failai)

📁 mėginio_pavadinimas

📁 `enrich_caller , germline_seq, dna_amplicon_seq, rna_seq arba scrna_seq`

📁 mėginio_pavadinimas

📄 `*.png`

📄 `dragen_*.log`

📄 `mėginio_pavadinimas.*.metrics.csv`

📄 `[DNA]mėginio_pavadinimas.*.vcf.gz`

[DNA] mėginio_pavadinimas.*.gvcf.gz – nepasiekama, kai naudojama DRAGEN „Bio-IT“ platformos amplikonų (sominė) komandų grandinė.

[mėginio_pavadinimas.*.bam or sample_name.*.cram

[žurnalai

[RNA] mėginio_pavadinimas.fusion_candidates.filter_info

[RNA] mėginio_pavadinimas.fusion_candidates.final

[RNA] mėginio_pavadinimas.quant.genes.sf

[RNA] mėginio_pavadinimas.quant.sf

[mėginio_pavadinimas.metrics.json

[scRNA] sample_dragen-scRNA-report.*.html

[scRNA] mėginio_pavadinimas.scRNA.barcodeSummary.tsv

[Germline] mėginio_pavadinimas.roh_metrics.csv

[Germline] mėginio_pavadinimas.roh.bed

[Germline] mėginio_pavadinimas.cyp2d6.tsv

[mėginio_pavadinimas.fastqc_metrics.csv

[mėginio_pavadinimas.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

[žurnalai


[*.txt

[CSV


[fastq – pasiekama, tik jei „KeepFastq“ nustatyta kaip „true“.


 *.fastq.gz


 **ora_fastq** – pasiekama, tik jei „FastqCompressionFormat“ nustatyta kaip „dragen“.


 *.fastq.ora


 **RunInstrumentAnalyticsMetrics**


 **0001**

 dataset.json


 fastqc_metrics.csv


 **0002**

 dataset.json


 fastqc_metrics.csv


 Adapter_Metrics.csv

 Demultiplex_Stats.csv


 Index_Hopping_Counts.csv

 **Reports**


 Demultiplex_Stats.csv


 RunInfo.xml

 Trim_Metrics.csv

 fastq_list.csv

 SampleSheet.csv

 Index_Hopping_Counts.csv

 Top_Unknown_Barcodes.csv

 **Read1InstrumentAnalyticsMetrics** – skirta tik pagal galą suporuotiems nuskaitymams.

 **0001**


 dataset.json

 **0002**

 dataset.json


 Adapter_Metrics.csv

 Demultiplex_Stats.csv

 Index_Hopping_Counts.csv

 **Read1Metrics** – skirta tik pagal galą suporuotiems nuskaitymams.

 Adapter_Metrics.csv


 Index_Hopping_Counts.csv

Priežiūra

Šiame skyriuje aprašomos procedūros, kurias būtina atlikti norint palaikyti tinkamai veikiančią sistemą. Sužinokite, kaip įdiegti programinės įrangos naujinius, pakeisti oro filtrą ir atlikti kitas periodinės priežiūros procedūras. Visada naudojant naujausią valdymo programinę įrangą užtikrinama, kad sistemoje būtų įdiegtos naujausios klaidų pataisos ir funkcijos, užtikrinančios optimalų veikimą.

Vietos standžiajame diske atlaisvinimas

Sekai nustatyti reikia maždaug 200 GB vietos vietiniame standžiajame diske. Kai lieka mažai vietos, rodomas įspėjamas pranešimas. Atlikdami toliau nurodytus veiksmus (laikiniame serijų aplanke panaikindami baigtas serijas ir įdiegtus atskaitinius genomus), atlaisvinkite vietos.

 Serijas naikinkite tik naudodami „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą, o ne rankiniu būdu operacinėje sistemoje. Jei serijas naikinsite rankiniu būdu, tai gali neigiamai paveikti valdymo programinę įrangą.

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Disk Management** (diskų tvarkymas). Rodomas ekranas „Disk Management“ (diskų tvarkymas), kuriame pateikiamas vietiniame standžiajame diske įrašytų serijų ir atskaitinių genomų sąrašas.
2. Ties norima panaikinti serija pasirinkite **Delete Run** (panaikinti seriją). Ištrinant seriją panaikinamas ir vietinis serijų aplankas. Išvesties aplankas, kuris yra serijų aplanko kopija, išsaugomas.
3. Dialogo lange pasirinkite **Yes, Delete Run** (taip, panaikinti seriją), kad patvirtintumėte serijos panaikinimą.
4. 2 ir 3 veiksmus pakartokite su kiekviena serija, kurią norite panaikinti.
5. Ties norimu panaikinti genomu pasirinkite **Delete Genome** (panaikinti genomą).
6. Dialogo lange pasirinkite **Yes, Delete Genome** (taip, panaikinti genomą).
7. 5 ir 6 veiksmus pakartokite su kiekvienu genomu, kurį norite panaikinti.
8. Baigę uždarykite langą „Disk Management“ (diskų tvarkymas) ir grįžkite į pagrindinį ekraną.

Programinės įrangos naujinimas

Programinės įrangos naujinimas užtikrina, kad jūsų sistemoje būtų naujausios funkcijos ir pataisos. Programinės įrangos naujiniai įtraukiami į sistemos rinkinį, kuris apima toliau nurodytą programinę įrangą.

- „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinė įranga
- „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ receptai

- Universalioji kopijavimo paslauga
- Analizė realiuoju laiku

i | DRAGEN moduliai į sistemos rinkinį neįtraukti. Jei reikia, įdiekite juos atskirai. DRAGEN modulio programinę įrangą rasite pagalbos puslapiuose.

Sistema konfigūruojama atsisiųsti programinės įrangos naujinius automatiškai arba rankiniu būdu.

- **Automatic updates** (automatinis naujinimas) – naujiniai automatiškai atsiunčiami iš „BaseSpace“ sekos centro, kad juos įdiegtumėte. Norint naudotis šia parinktimi reikalingas interneto ryšys, bet ne „BaseSpace“ sekos centro paskyra.
- **Manual updates** (rankinis naujinimas) – naujiniai rankiniu būdu atsiunčiami iš žiniatinklio, įrašomi vietoje arba nešiojamajame diske ir diegiami iš įrašymo vietos. Norint naudoti šią parinktį, prietaisui interneto ryšio nereikia.

Automatinio programinės įrangos naujinio diegimas

1. Įsitikinkite, kad nevykdomas sekos nustatymas ar antrinė analizė prietaise.
2. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
3. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Software Update** (programinės įrangos naujinimas).
Sistemose, sukonfigūruotose atsinaujinti automatiškai, pateikiamas įspėjimas, kai atsiranda programinės įrangos naujinys.
4. Norėdami patikrinti, ar yra naujinių, pasirinkite **Check Online for Software Update** (internete patikrinti, ar yra programinės įrangos naujinių).
5. Pasirinkite **Update Now** (naujinti dabar) ir atsisiųskite naują programinės įrangos versiją.
Kai atsisiuntimas baigiamas, valdymo programinė įranga uždaroma ir rodomas diegimo vedlys. Valdymo programinė įranga bus automatiškai paleista iš naujo. Bet koks integruotosios programinės įrangos naujinimas atliekamas automatiškai, po paleidimo iš naujo.

i | Pradėjus diegti, naujinimo atšaukti negalima. Naujinimą galite atšaukti tik atsisiųsdami naujinį.

Rankinio programinės įrangos naujinio diegimas

1. Prisijunkite prie „ilmnadmin“.
2. Įsitikinkite, kad nevykdomas sekos nustatymas ar antrinė analizė prietaise.
3. Kai atsiranda programinės įrangos naujinys, atsisiųskite rinkinio diegimo programą (*.tar.gz) iš [„NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų pagalbos puslapio](#). Įrašykite diegimo programą vietiniame arba nešiojamajame diske.
4. Jei diegimo programą įrašėte nešiojamajame diske, prijunkite jį prie vieno iš USB 3.0 prievadų, esančių prietaiso šone ir gale.

5. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Software Update** (programinės įrangos naujinimas).
6. Pasirinkite **Choose...** (pasirinkti) ir raskite diegimo programą.
7. Pasirinkdami **Update Now** (naujinti dabar) pradėkite diegimą.
Kai diejami naujiniai, valdymo programinė įranga rodo užimtumo indikatorių.
Valdymo programinė įranga bus automatiškai paleista iš naujo. Bet koks integruotosios programinės įrangos naujinimas atliekamas automatiškai, po paleidimo iš naujo.



Pradėjus diegti, naujinimo atšaukti negalima. Naujinimą galite atšaukti tik atsisiųsdami naujinį.

DRAGEN darbo eiga ir licencijos atnaujinimas

Įdiegti DRAGEN darbo eigas ir atnaujinti DRAGEN licenciją gali tik sistemos administratoriai.

DRAGEN licencijos atnaujinimas internetu

Jei „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ yra prijungta prie interneto, DRAGEN „Bio-IT“ platformos licenciją atnaujinkite toliau nurodytu būdu.

1. Kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos skyrių, kad gautumėte naują licencijos raktą.
2. Palaukus 24 valandas, licencija atnaujinama automatiškai, arba licenciją galite atnaujinti iš karto, kaip nurodyta toliau.
 - a. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **DRAGEN**.
 - b. Pasirinkite **Check Online** (tikrinti internete), kad patikrintumėte, ar nėra naujo DRAGEN licencijos rakto.
 - c. Jei jis yra, pasirinkite **Update** (atnaujinti).

DRAGEN licencijos atnaujinimas neprisijungus prie interneto

Jei „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ nėra prijungta prie interneto, DRAGEN „Bio-IT“ platformos licenciją atnaujinkite toliau nurodytu būdu.

1. Kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos skyrių, kad gautumėte naują licencijos raktą. Failą `license.zip` įrašykite vietiniame arba nešiojamajame diske.
2. Jei *.zip failą įrašėte nešiojamajame diske, prijunkite jį prie vieno iš USB 3.0 prievadų, esančių prietaiso šone ir gale. Prireikus prietaisą iš lėto perkelkite, kad galėtumėte pasiekti galinę pusę.
3. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **DRAGEN**.
4. Pasirinkę **Choose** (pasirinkti), nueikite prie *.zip failo, tada pasirinkite **Open** (atidaryti).

DRAGEN darbo eigų diegimas internetu

Jei „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ yra prijungta prie interneto, DRAGEN darbo eigas galite diegti tiesiai „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinėje įrangoje. DRAGEN darbo eigas internetu diegti galima tik naudojant 1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą.

1. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **Process Management** (procesų valdymas).
2. Įsitikinkite, kad nevykdomas sekos nustatymas ar antrinė analizė prietaise.
3. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **DRAGEN**.
„Version“ (versija) dalyje „Available Workflows“ (galimos darbo eigos) išvardytos visos šiuo metu sistemoje įdiegtos darbo eigos.
4. Norėdami įdiegti DRAGEN darbo eigas „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinėje įrangoje, pasirinkite **Check Online** (tikrinti internete).
Internetu diegti galima ne visas DRAGEN versijas ir darbo eigas. Norėdami naudoti papildomų darbo eigų, jas diekite neprisijungę prie interneto.
5. Pažymėkite norimų įdiegti darbo eigų žymimąjį langelį. Jei dar neįdiegta, pirmiausia būtinai įdiekite naujausią BCL konvertavimo versiją.
Informaciją apie naujausią darbo eigos versiją galite peržiūrėti laidos pastabose.
6. Norėdami pradėti diegti, pasirinkite **Install** (diegti).
7. Kaip sistemos slaptažodį įveskite „ilmnadmin“ ir pasirinkite **Authenticate** (autentifikuoti).

DRAGEN darbo eigų diegimas neprisijungus prie interneto

1. Kai pasiekiamas DRAGEN darbo eigos naujinys, jo diegimo programą (*.tar.gz) atsisiųskite iš [DRAGEN pagalbos puslapio](#). Įrašykite diegimo programą vietiniame arba nešiojamajame diske.
2. Jei diegimo programą įrašėte nešiojamajame diske, prijunkite jį prie vieno iš USB 3.0 prievadų, esančių prietaiso šone ir gale. Prireikus prietaisą iš lėto perkelkite, kad galėtumėte pasiekti galinę pusę.
3. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **Process Management** (procesų valdymas).
4. Įsitikinkite, kad nevykdomas sekos nustatymas ar antrinė analizė prietaise.
5. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **DRAGEN**.
6. Dalyje „Version“ (versija) pasirinkite **Browse for New Version** (ieškoti naujos versijos) ir nueikite iki diegimo programos.
7. Norėdami pradėti diegti, pasirinkite **Install** (diegti).
8. Kaip sistemos slaptažodį įveskite „ilmnadmin“ ir pasirinkite **Authenticate** (autentifikuoti).

Oro filtro keitimas

Vadovaudamiesi toliau pateiktais nurodymais, kas 6 mėnesius pakeiskite oro filtrą, kurio galiojimas pasibaigė.

Oro filtras yra vienkartinio naudojimo stačiakampė kasetė, kuri dengia ventiliatorių dešinėje prietaiso pusėje. Jis užtikrina tinkamą aušinimą ir neleidžia į sistemą patekti nešvarumams. Prietaisas tiekiamas su vienu oro filtru ir vienu atsarginiu filtru. Papildomos atsarginės dalys yra įtrauktos į galiojančią prietaiso techninės priežiūros sutartį arba jų galima atskirai įsigyti iš „Illumina“.

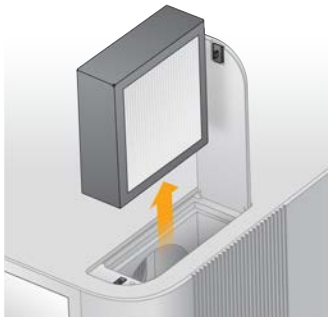
1. Prietaiso viršuje paspauskite viršutinio skydelio dešiniąją dalį, kad jį nuimtumėte, kaip parodyta toliau paveikslėlyje.



2. Atidarykite skydelį.



3. Paspausdami atlaisvinkite oro filtro kasetę, ją išimkite iš skydelio centro ir išmeskite.



4. Į lizdą įstatykite naują oro filtrą ir paspauskite, kad jį įtvirtintumėte.

- Uždarykite viršutinį skydelį ir paspauskite, kad užsifikuotų.



- Grąžinkite prietaisą į pradinę vietą.

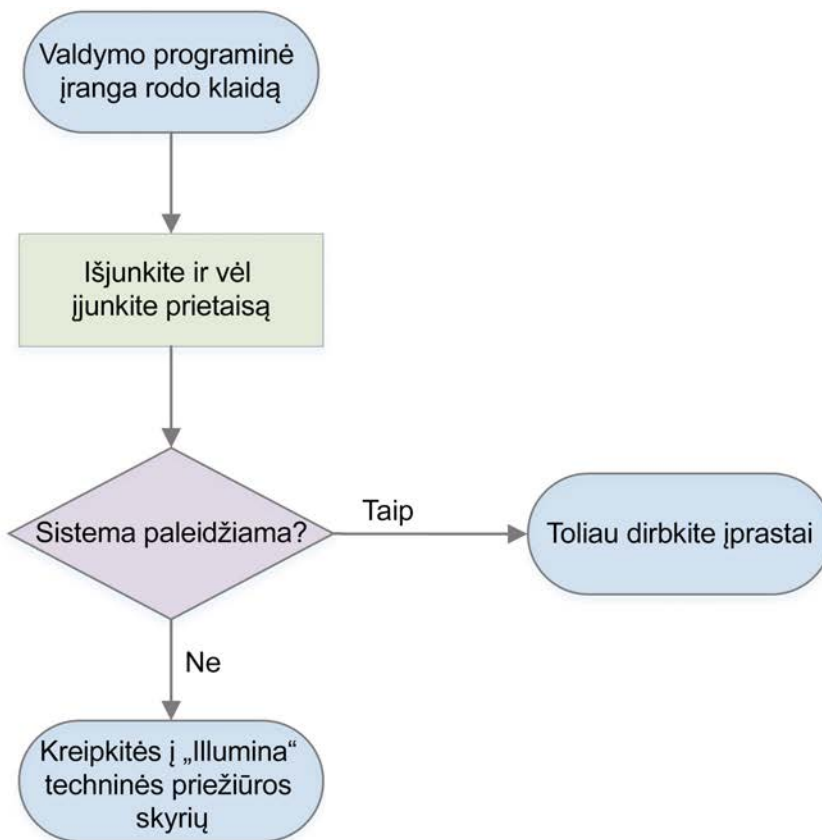
Trikčių šalinimas

Šioje dalyje pateikiami nuoseklūs nurodymai, kaip atšaukti vykdymą, išjungti ir įjungti prietaisą bei atlikti kitas trikčių šalinimo procedūras.

Klaidų pranešimų šalinimas

Šiame priede pateikiamos išsamios instrukcijos, kaip atlikti įvairius trikčių šalinimo veiksmus. Toliau pateiktoje struktūrinėje schemoje apžvelgiama, kaip pašalinti paleidimo, vykdymo sąrankos arba sekos nustatymo metu rodomus klaidų pranešimus, kurių nepavyko pašalinti per pakartotinį bandymą.

Daug klaidų galima pašalinti išjungiant ir vėl įjungiant maitinimą: išjungiant prietaisą ir paleidžiant jį iš naujo. Daugiau informacijos apie prietaiso išjungimą ir įjungimą rasite dalyje [Prietaiso išjungimas ir įjungimas 84 psl.](#)



Eksploatacinių medžiagų grąžinimas į laikymo vietą

Vadovaudamiesi toliau pateiktais nurodymais, galite į laikymo vietą padėti atšildytą kasetę ir pratekamąją kiuvetę, jei įvyktų prietaiso klaida atliekant patikrą prieš vykdymą, kuri atliekama prieš skysčių sistemos patikrą.

1. Pratekamąją kiuvetę atskirkite nuo kasetės.
2. Atskiestą biblioteką išimkite ir išmeskite iš rezervuaro (iki ~18 µl).

! | Kitam vykdymui paruoškite šviežią tos pačios bibliotekos skiedinį, kad išvengtumėte mėginių kryžminio užteršimo rezervuare likusia biblioteka.

3. Laikymo vietoje, kurioje palaikoma temperatūra nuo 2 iki 8 °C, padėkite kasetę taip, kad etiketė būtų atsukta į viršų, o oras galėtų cirkuliuoti visuose šonuose.
Neviršykite 72 val. Jei kasetė buvo atšildoma šaldytuve 12 valandų per naktį, neviršykite 60 val.
4. Pratekamąją kiuvetę vėl įdėkite į originalią sidabrinės folijos pakuotę su sausikliu.
5. Folijos pakuotę užklijuokite lipnia juostele ir padėkite į laikymo vietą, kurioje palaikoma temperatūra nuo 2 iki 8 °C.
Neviršykite 72 val.

Vykdomo atšaukimas

1. Pasirinkite **End Run** (baigti vykdymą).
2. Norėdami automatiškai išvalyti reagentų kasetę, pažymėkite žymimąjį langelį **Purge Reagent Cartridge** (išvalyti reagentų kasetę).
Numatytoji pasirinktis sukonfigūruota „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinės įrangos nuostatose.
3. Pasirinkite **Yes, end the sequencing run** (taip, baigti sekos nustatymo vykdymą).
Vykdomo atšaukimas yra galutinis. Programinė įranga negali tęsti serijos, o eksploatacinių medžiagų negalima naudoti pakartotinai po išankstinių serijos patikrų prietaiso patikros dalies.
4. Pasirinkę **Eject Cartridge** (išstumti kasetę), atidarykite apsauginį skydelį ir išstumkite dėklą.
5. Išimkite kasetę iš dėklo.
6. Kasetę pasilikite arba utilizuokite (tai priklauso nuo to, kada įvyko atšaukimas).

Aplinkybė	Šaltinis
Atšaukėte prieš prietaiso patikrą, atliekamą prieš vykdant, arba jos metu ir norite pakartotinai naudoti eksploatacines medžiagas.	Žr. Eksploatacinių medžiagų grąžinimas į laikymo vietą 83 psl.
Visos kitos aplinkybės.	Žr. Eksploatacinių medžiagų išėmimas 54 psl.

7. Pasirinkite **Close Door** (uždaryti dureles), kad iš naujo įdėtumėte dėklą ir grįžtumėte į pagrindinį ekraną.

Jutikliai patvirtina, kad kasetė išimta.

Pakartotinis vykdymo įtraukimas į eilę

Jei ekrane „Process Management“ (procesų valdymas) prie „Status of Secondary Analysis“ (antrinės analizės būseną) rodoma klaida, galite vykdymą pakartotinai įtraukti į eilę, kad prietaise vėl būtų atlikta sugeneruotų cBCL failų DRAGEN analizė. Norint naudoti pakartotinio įtraukimo į eilę funkciją, prietaise vis dar turi būti pradinis vykdymo aplankas. Naudojant šią pakartotinio įtraukimo į eilę funkciją, vykdymai pakartotinai neįtraukiami į „BaseSpace“ sekos centro eilę. Norėdami pakartotinai įtraukti į „BaseSpace“ sekos centro eilę, žr. dalį „Mėginių lapo pataisymas“, esančią „BaseSpace“ sekos centro pagalbos centre.

1. Atnaujinkite savo 2 v. mėginių lapą, o tada jį įrašykite į nešiojamąjį arba prijungtą tinklo diską.
2. Jei mėginių lapą įrašėte nešiojamajame diske, prijunkite jį prie vieno iš USB 3.0 prievadų, esančių prietaiso šone ir gale. Prireikus prietaisą iš lėto perkelkite, kad galėtumėte pasiekti galinę pusę.
3. Pasirinkite valdymo programinės įrangos meniu, tada – **Process Management** (procesų valdymas).
4. Įsitikinkite, kad nevykdomas sekos nustatymas ar antrinės analizės prietaise.
5. Prie baigto vykdymo, kurį norite pakartotinai įtraukti į eilę, pasirinkite **Requeue** (pakartotinai įtraukti į eilę).
6. Pasirinkę **Choose** (pasirinkti), nueikite prie atnaujinto mėginių lapo, tada pasirinkite **Open** (atidaryti).
7. Pasirinkite **Start Requeue** (pradėti pakartotinį įtraukimą į eilę).

Prietaiso išjungimas ir įjungimas

Prietaiso maitinimo išjungimas ir įjungimas saugiai sustabdo ir iš naujo paleidžia sistemą, kad būtų atkurtas nutrūkęs ryšys, suderinti techniniai duomenys arba pašalintos inicijavimo klaidos. Programinės įrangos pranešimuose nurodoma, kada reikia išjungti ir įjungti prietaisą klaidai arba įspėjimui pašalinti.

1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **Shut Down Instrument** (išjungti prietaisą).
2. Jei nepavyko išjungti sistemos, laikykite prietaiso dešinėje pusėje esantį maitinimo mygtuką, kol lemputės užges.
3. Kai maitinimo mygtukas sumirksi, galiniame skydelyje esantį svirtinį jungiklį perjunkite į išjungimo padėtį (O).

Išjungus maitinimo mygtukas gali ir toliau mirksėti.

8 pav. Svertinio jungiklio vieta



4. Palaukite 30 sekundžių.
5. Svertinį jungiklį perjunkite į įjungimo padėtį (I).
6. Kai maitinimo mygtukas sumirksi, palaukite 30 sekundžių, tada jį paspauskite.

9 pav. Maitinimo mygtuko vieta



7. Palaukite apie 5 minutes, kol operacinė sistema bus įkelta. Kai operacinė sistema bus įkelta, prisijunkite prie sistemos.
Valdymo programinė įranga paleidžiama ir inicijuoja sistemą. Palaukite apie 5 minutes, kol sistema bus inicijuota. Kai inicijavimas bus baigtas, matysite ekraną „Home“ (pagrindinis).

Sistemos patikros atlikimas

Sistemos patikra nėra būtina, jei sistema veikia įprastai ar atliekant prietaiso priežiūros darbus. Tačiau „Illumina“ techninės pagalbos skyriaus atstovas gali paprašyti atlikti sistemos patikrą trikčių šalinimo tikslais.

Ketrios posistemų patikros užtrunka apie 58 minutes, per kurias pašalinamos klaidos, aptiktos prieš vykdymą atliekant patikrą, ir kitos problemos. Bandymais patikrinama, ar komponentai tinkamai sulygiuoti ir veikia.

Bandymų rezultatai pateikiami aplanke `system-check`, esantį čia: `/usr/local/illumina/system-check`.

Prieš atlikdami sistemos patikras būtinai išimkite kasetę.

Sistemos patikros vykdymas


1. Valdymo programinės įrangos meniu pasirinkite **System Checks** (sistemos patikros).
2. Pažymėkite žymimąjį langelį prie bet kurios iš toliau nurodytų sistemos patikrų, kurias norite atlikti.
 - **Network Connectivity** (tinklo ryšys) – patikrinama tinklo ryšio būseną ir veikimas.
 - **Enclosure** (gaubtas) – patikrinama, kaip veikia šilumos sistema ir apsauginio skydelio pakėlimo mechanizmas.
 - **Motion** (judėjimas) – patikrinamos Z platformos ir XY platformos judėjimo ribos bei veikimas.
 - **Optics** (optika) – patikrinama, kaip veikia atvaizdavimo modulis.
3. Pasirinkite **Start** (pradėti).

Gamyklinių nuostatų atkūrimas

Atkurkite gamyklines sistemos nuostatas, kad sugrąžintumėte senesnę programinės įrangos versiją arba ištaisytumėte nepageidaujamą konfigūraciją. Šią funkciją gali naudoti tik „Illumina“ atstovas.

Įdiegto atvaizdžio fiksavimas

Užfiksuokite sistemos atvaizdį, kad sukurtumėte sėkmingai veikiančios programinės įrangos įdiegties atsarginę kopiją. Šį sistemos atvaizdį vėliau galima atkurti. Rekomenduojama sistemos atvaizdį užfiksuoti, kai tik baigiate pradinį diegimą, ir, padedant „Illumina“ atstovui, pakeisti slaptažodį.

1. Paleiskite „Linux“ iš naujo.
2. Paraginti pasirinkti operacinę sistemą, pasirinkite **Capture Installed Image** (fiksuoti įdiegtą atvaizdį). Operacinės sistemos parinktys trumpai parodomos prieš automatiškai pasirenkant „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą.
 -  Kadangi atmintyje saugomas tik vienas atvaizdis, anksčiau užfiksuotas atvaizdis bus perrašytas.
3. Palaukite apie 30 minučių, kol sistema užfiksuos tuo metu įdiegtą atvaizdį. Fiksavimo metu sistema gali būti keletą kartų paleista iš naujo. Baigus operaciją, sistema paleidžiama iš naujo, o tuo metu įdiegtas atvaizdis išsaugomas atmintyje.

Užfiksuoto atvaizdžio atkūrimas

Sistemą atkurdami į anksčiau užfiksuotą atvaizdį, galite pašalinti dėl nepageidaujamos konfigūracijos atsiradusias triktis.

1. Paleiskite „Linux“ iš naujo.
2. Paraginti pasirinkti operacinę sistemą, pasirinkite **Restore Installed Image** (atkurti įdiegtą atvaizdį).

Operacinės sistemos parinktys trumpai parodomos prieš automatiškai pasirenkant „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą.

i | Slaptažodžiai yra susieti su sistemos atvaizdžiu. Atkūrę atvaizdį, prie sistemos prisijunkite naudodami atkurto atvaizdžio slaptažodį.

3. Palaukite maždaug 30 minučių, kol bus baigtas atkūrimas.

Atkūrimo metu sistema gali būti keletą kartų paleista iš naujo. Baigus operaciją, sistema paleidžiama iš naujo naudojant atkurtą atvaizdį.

Ištekliai ir literatūra

2 v. mėginių lapo nuostatos

Jeigu naudojate režimą „Local“ (vietinis), naudodami mėginių lapo 2 v. failo formatą galite konfigūruoti vykdymo nuostatas. Mėginių lapą sukurkite atlikdami prietaiso paleidimo sąranką arba redaguodami „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų 2 v. mėginių lapo šabloną. Redaguodami mėginių lapą įsitikinkite, kad nurodyta tvarka įtrauktos toliau išvardytos dalys ir laukai, atitinkantys reikalavimus. Baigę redaguoti, naudodami nešiojamąjį arba prijungtą tinklo diską, mėginių lapą perkeltkite į „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemas. Kai valdymo programinėje įrangoje nueinate iki mėginių lapo, jis nukopijuojamas į prietaise esantį prieš vykdymą naudojamą aplanką, kad būtų galima atjungti nešiojamąjį diską.

Įsitikinkite, kad 2 v. mėginių lapo nuostatos atitinka toliau nurodytus reikalavimus.

- Indeksų sekos, nurodytos mėginių lapo dalyje „BCLConvert_Data“, turi atitikti indeksų rinkinį, pasirinktą naudojant „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“.
- Jei naudojate 1.2 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą, sistemoje turi būti įdiegta ir aktyvi mėginių lape nurodyta DRAGEN versija. Informacijos apie diegimą rasite dalyje [Programinės įrangos naujinimas 76 psl.](#)
- Jei naudojate 1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą, sistemoje turi būti įdiegta mėginių lape nurodyta DRAGEN versija. Valdymo programinė įranga iš mėginių lapo automatiškai aptinka DRAGEN versiją ir, jei reikia, paragina pakeisti aktyvias versijas. Informacijos apie diegimą rasite dalyje [Programinės įrangos naujinimas 76 psl.](#)

Jeigu naudojate DRAGEN, turėsite sukonfigūruoti papildomas nuostatas. Daugiau informacijos rasite dalyje [DRAGEN mėginių lapo nuostatos 92 psl.](#)

2 v. mėginių lapo šabloną atsisiųskite iš „NextSeq 1000“ ir „NextSeq 2000“ sekos nustatymo sistemų pagalbos puslapio skilties „Product Files“ (produktų failai). Jei mėginių lapą sukūrėte atlikdami prietaiso paleidimo sąranką, mėginių lapą pakeitus po pradinio atsisiuntimo gali nepavykti atlikti analizės.

Failų pavadinimuose negali būti specialiųjų rašmenų.

Daliai [Header] (antraštė) taikomi reikalavimai

Dalyje [Header] (antraštė) pateikiama bendra informacija apie vykdymą. Toliau pateikiami esami dalies [Header] (antraštė) laukai ir jų aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
FileFormatVersion	Taip	Mėginių lapo versija. Kaip vertę įveskite „2“.
RunName	Ne	Unikalus pageidaujamas vykdymo pavadinimas. Lauke „RunName“ gali būti raidinių ir skaitinių rašmenų, pabraukimo brūkšnių, brūkšnelių ir taškų. Jei lauke „RunName“ yra tarpų arba specialiųjų rašmenų, analizės atlikti nepavyksta.
RunDescription	Ne	Vykdyto aprašas.
InstrumentPlatform	Ne	„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“
InstrumentType	Ne	„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“

Daliai [Reads] (nuskaitymai) taikomi reikalavimai

Dalyje [Reads] (nuskaitymai) aprašoma, kiek sekos nustatymo ciklų naudota 1-ajam bei 2-ajam genomų ir indeksų nuskaitymams. Toliau pateikiami galimi [Reads] (nuskaitymai) laukai ir jų aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
Read1Cycles	Taip	Pirmojo nuskaitymo ciklų skaičius. Vertė turi būti sveikasis skaičius, didesnis už nulį.
Read2Cycles	Ne	Antrojo nuskaitymo ciklų skaičius.
Index1Cycles	Ne	Pirmojo indeksų nuskaitymo ciklų skaičius. Reikia nurodyti, kai nustatoma daugiau nei vieno mėginio seka. Didžiausias skaičius yra 10 ciklų.
Index2Cycles	Ne	Antrojo indeksų nuskaitymo ciklų skaičius. Didžiausias skaičius yra 10 ciklų.

Daliai [Sequencing_Settings] (sekos nustatymo nuostatos) taikomi reikalavimai

Dalyje [Sequencing_Settings] (sekos nustatymo nuostatos) galite nurodyti naudojamą bibliotekų paruošimo rinkinį.

Laukas	Būtinasis	Aprašas
LibraryPrepKits	Ne	<p>Jūsų bibliotekų paruošimo rinkinys. Leidžiamas tik vienas bibliotekų paruošimo rinkinys.</p> <p>Jei, naudojant 1.3 v. „NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“ valdymo programinę įrangą, kaip bibliotekų paruošimo rinkinys nurodomas „Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus“ rinkinys arba „Illumina Stranded mRNA Prep“ rinkinys, būtinasis pasirinktinis receptas pasirenkamas automatiškai. Įveskite vieną iš toliau nurodytų verčių.</p> <ul style="list-style-type: none"> Rinkinys „Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus“ – ILMNStrandedTotalRNA Rinkinys „Illumina Stranded mRNA Prep“ – ILMNStrandedmRNA

Dalims „BCL Convert“ taikomi reikalavimai

BCL konvertavimo dalyse pateikiama informacija apie duomenų konvertavimą iš BCL į FASTQ. BCL konvertavimo parinktis sudaro dvi atskiros dalys: [BCLConvert_Settings] ir [BCLConvert_Data]. BCL konvertavimo dalyse reikia pateikti informaciją apie indeksų adapterių sekas. Norėdami sužinoti suderinamą kiekvieno nuskaitymo ir indekso adapterių seką, žr. „Illumina“ adapterių sekos (dokumento Nr. 1000000002694).

Toliau pateikiami esami [BCLConvert_Settings] laukai ir jų aprašai.

Laukas	Būtinasis	Aprašas
SoftwareVersion	Taip	Šiuo metu sistemoje įdiegtos DRAGEN programinės įrangos versija. Naudokite visus tris sveikuosius skaičius, naudojamus versijos pavadinime. Pavyzdžiui, 3.5.7.
BarcodeMismatchesIndex1	Ne	Leidžiamų pirmojo indekso nuskaitymo ir indekso sekos neatitikčių skaičius. Vertės gali būti 0, 1 arba 2. Numatytoji vertė yra 1.

Laukas	Būtinai	Aprašas
BarcodeMismatchesIndex2	Ne	Leidžiamų antrojo indekso nuskaitymo ir indekso sekos neatitikčių skaičius. Vertės gali būti 0, 1 arba 2. Numatytoji vertė yra 1.
FastqCompressionFormat	Ne	Norėdami FASTQ failus pateikti kaip *.gz failą, įveskite <code>gzip</code> . Norėdami FASTQ failus įrašyti kaip *.ora failą ir naudoti su DRAGEN išskleidimo funkcija, įveskite <code>dragen</code> .
AdapterRead1	Ne	Seka, kuria reikia koreguoti arba maskuoti 1-ojo nuskaitymo galą. 1-ojo nuskaitymo adapterių sekoje yra A, C, G arba T. Pasirinkus „AdapterReader1“, ciklą pradžia / pabaiga koreguojama pagal numatytąsias nuostatas.
AdapterRead2	Ne	Seka, kuria reikia koreguoti arba maskuoti 2-ojo nuskaitymo galą. 2-ojo nuskaitymo adapterių sekoje yra A, C, G arba T. Pasirinkus „AdapterReader2“, ciklą pradžia / pabaiga koreguojama pagal numatytąsias nuostatas.
OverrideCycles	Ne	Eilutė, naudojama UMI ciklams nurodyti ir nuskaitymo ciklams maskuoti. Leidžiamos toliau nurodytos vertės. <ul style="list-style-type: none"> • N – nurodo ciklus, kurių nereikia paisyti. • Y – nurodo sekos nustatymo ciklus. • I – nurodo indekso ciklus. • U – nurodo UMI ciklus, kuriems reikia redaguoti pradžią / pabaigą. Kiekvienas elementas atskiriamas kabliataškiais. Toliau pateikiami įvesties „OverrideCycles“ pavyzdžiai. U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

Toliau pateikiami esami [BCLConvert_Data] laukai ir jų aprašai.

Laukas	Būtinasis	Aprašas
Sample_ID	Taip	Mėginio ID. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų, brūkšnelių bei pabraukimo brūkšnių. Skiriamos didžiosios ir mažosios ID raidės. Kiekvieną identifikatorių atskirkite brūkšneliu arba pabraukimo brūkšniu. Pavyzdžiui, Sample1-DQB1-022515.
Indeksas	Ne	Indekso seka, susieta su mėginiu. Leidžiama tik A, C, T, G. Reikia nurodyti, kai nustatoma daugiau nei vieno mėginio seka.
Index2	Ne	Antrojo indekso seka, susieta su mėginiu. Leidžiama tik A, C, T, G. Įsitinkite, kad antrojo indekso (i5) adapterių sekos nukreiptos į priekį. Atlikdama antrinę analizę DRAGEN i5 indeksus automatiškai pakeičia į atvirkštinius komplementus.
Takelis	Ne	Pratekamosios kiuvetės takelis. Takeliai žymimi vienu sveikuoju skaičiumi.

DRAGEN mėginių lapo nuostatos

Šioje dalyje aprašomi kiekvienos DRAGEN komandų grandinės mėginių lapui taikomi reikalavimai. Savo DRAGEN komandų grandinės nuostatas pridėkite kaip paskutinę mėginių lapo dalį. Galite naudoti tik vieną DRAGEN komandų grandinę.

Kiekvienoje DRAGEN komandų grandinėje yra atskiros nuostatų ir duomenų dalys.

DRAGEN genocitų linijos komandų grandinei taikomi reikalavimai

Toliau pateikiami esami [DragenGermline_Settings] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinasis	Aprašas
SoftwareVersion	Taip	Šiuo metu sistemoje įdiegtos DRAGEN programinės įrangos versija. Naudokite visus tris sveikuosius skaičius, naudojamus versijos pavadinime. Pavyzdžiui, 3.5.7. Programinės įrangos versija turi atitikti versiją, nurodytą dalyje BCLConvert_Settings.

Laukas	Būtinai	Aprašas
ReferenceGenomeDir	Taip	Atskaitinio genomo pavadinimas. Pavyzdžiui, hg19_alt_aware. Naudokite atskaitinio genomo, esančio <code>/usr/local/illumina/genomes</code> , pavadinimą. Norėdami naudoti pasirinktinį atskaitinį genomą, žr. „Illumina“ prietaisų atskaitos kūrimo priemonės 1.0.0 v. programos internetinį žinyną.
MapAlignOutFormat	Ne	Išvesties failo formatas. Leidžiamos vertės yra „bam“ arba „cram“. Jei vertė nenurodyta, numatytoji yra „none“.
KeepFastq	Ne	Norėdami FASTQ išvesties failus įrašyti, įveskite <code>true</code> . Norėdami FASTQ išvesties failus pašalinti, įveskite <code>false</code> .

Toliau pateikiami esami [DragenGermline_Data] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
Sample_ID	Taip	Mėginio ID. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų. Skiriamos didžiosios ir mažosios ID raidės. Kiekvieną identifikatorių atskirkite brūkšneliu. Pavyzdžiui, Sample1-DQB1-022515. Mėginių ID turi sutapti su ID, nurodytais dalyje BCLConvert_Data.

DRAGEN RNR komandų grandinei taikomi reikalavimai

Toliau pateikiami esami [DragenRNA_Settings] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
SoftwareVersion	Taip	Šiuo metu sistemoje įdiegtos DRAGEN programinės įrangos versija. Naudokite visus tris sveikuosius skaičius, naudojamus versijos pavadinime. Pavyzdžiui, 3.5.7. Programinės įrangos versija turi atitikti versiją, nurodytą dalyje BCLConvert_Settings.

Laukas	Būtinai	Aprašas
ReferenceGenomeDir	Taip	Atskaitinio genomo pavadinimas. Pavyzdžiui, hg38_noalt_with_decoy. Naudokite atskaitinio genomo, esančio <code>/usr/local/illumina/genomes</code> , pavadinimą. Norėdami naudoti pasirinktinį atskaitinį genomą, žr. „Illumina“ prietaisų atskaitos kūrimo priemonės 1.0.0 v. programos internetinį žinyną.
RnaGeneAnnotationFile	Ne	Failas, kuriame yra RNR genų anotacijos. Leidžiami tik raidiniai ir skaitiniai rašmenys. Jei failas nepateiktas, naudojamas numatytasis anotacijų failas, įtrauktas į nurodytą atskaitinį genomą.
MapAlignOutFormat	Ne	Išvesties failo formatas. Leidžiamos vertės yra „bam“ arba „cram“. Jei vertė nenurodyta, numatytoji yra „none“.
KeepFastq	Ne	Norėdami FASTQ išvesties failus įrašyti, įveskite <code>true</code> . Norėdami FASTQ išvesties failus pašalinti, įveskite <code>false</code> .
DifferentialExpressionEnable	Ne	Norėdami įjungti diferencinę genų raišką, įveskite <code>true</code> . Įvedus <code>false</code> , diferencinė genų raiška neįtraukiama į analizę.

Toliau pateikiami esami [DragenRna_Data] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
Sample_ID	Taip	Mėginio ID. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų. Skiriamos didžiosios ir mažosios ID raidės. Kiekvieną identifikatorių atskirkite brūkšneliu. Pavyzdžiui, Sample1-DQB1-022515. Mėginių ID turi sutapti su ID, nurodytais dalyje BCLConvert_Data.
Comparison<N>	Ne	Kiekvieno mėginio kontrolinė arba lyginamoji vertė. Jei kontrolinės arba lyginamosios mėginio vertės nėra, mėginiui priskiriama <code>na</code> . Visi mėginiai, pažymėti kaip kontroliniai, lyginami su visais mėginiais, pažymėtais kaip lyginamieji. <code>N</code> vertė nurodo mėginių palyginimo grupę.

DRAGEN gausinimo komandų grandinei taikomi reikalavimai

Toliau pateikiami esami [DrogenEnrichment_Settings] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinis	Aprašas
SoftwareVersion	Taip	Šiuo metu sistemoje įdiegtos DRAGEN programinės įrangos versija. Naudokite visus tris sveikuosius skaičius, naudojamus versijos pavadinime. Pavyzdžiui, 3.5.7. Programinės įrangos versija turi atitikti versiją, nurodytą dalyje BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Taip	Atskaitinio genomo pavadinimas. Pavyzdžiui, hg38_alt_aware. Atskaitinių genomų vieta yra /usr/local/illumina/genomes. Norėdami naudoti pasirinktinį atskaitinį genomą, žr. „Illumina“ prietaisų atskaitos kūrimo priemonės 1.0.0 v. programos internetinį žinyną.
BedFile	Taip	„Bed“ failas, kuriame yra tikslinės sritys.
GermlineOrSomatic	Taip	Norėdami atlikti gausinimo genocitų linijos analizę, įveskite <code>germline</code> . Norėdami atlikti gausinimo somatinę analizę, įveskite <code>somatic</code> .
KeepFastq	Ne	Norėdami FASTQ išvesties failus įrašyti, įveskite <code>true</code> . Norėdami FASTQ išvesties failus pašalinti, įveskite <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	Ne	Išvesties failo formatas. Leidžiamos vertės yra „bam“ arba „cram“. Jei vertė nenurodyta, numatytoji yra „none“.
AuxNoiseBaselineFile	Ne	Bazinio triukšmo failo pavadinimas. Galite naudoti *.txt arba *.gz failo formatą. Baziniai triukšmo failai pasiekiami tik naudojant somatinį režimą. Daugiau informacijos rasite dalyje Bazinių triukšmo failų importavimas 19 psl.

Toliau pateikiami esami [DragenEnrichment_Data] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
Sample_ID	Taip	Mėginio ID. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų. Skiriamos didžiosios ir mažosios ID raidės. Kiekvieną identifikatorių atskirkite brūkšneliu. Pavyzdžiui, Sample1-DQB1-022515. Mėginių ID turi sutapti su ID, nurodytais dalyje BCLConvert_Data.

DRAGEN DNR amplikonų komandų grandinei taikomi reikalavimai

Toliau pateikiami esami [DragenAmplicon_Settings] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
SoftwareVersion	Taip	Šiuo metu sistemoje įdiegtos DRAGEN programinės įrangos versija. Naudokite visus tris sveikuosius skaičius, naudojamus versijos pavadinime. Pavyzdžiui, 3.5.7. Programinės įrangos versija turi atitikti versiją, nurodytą dalyje BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Taip	Atskaitinio genomo pavadinimas. Pavyzdžiui, hg38_alt_aware. Atskaitinių genomų vieta yra /usr/local/illumina/genomes. Norėdami naudoti pasirinktinį atskaitinį genomą, žr. „Illumina“ prietaisų atskaitos kūrimo priemonės 1.0.0 v. programos internetinį žinyną.
DnaBedFile	Taip	„Bed“ failas, kuriame yra tikslinės sritys. „Bed“ failą galima įvesti *.txt arba *.gz failo formatu.
DnaGermlineOrSomatic	Taip	Norėdami atlikti DNR amplikonų genocitų linijos analizę, įveskite <code>germline</code> . Norėdami atlikti DNR amplikonų somatinę analizę, įveskite <code>somatic</code> .
KeepFastq	Ne	Norėdami FASTQ išvesties failus įrašyti, įveskite <code>true</code> . Norėdami FASTQ išvesties failus pašalinti, įveskite <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	Ne	Išvesties failo formatas. Leidžiamos vertės yra „bam“ arba „cram“. Jei vertė nenurodyta, numatytoji yra „none“.

Toliau pateikiami esami [DrogenAmplicon_Data] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
Sample_ID	Taip	Mėginio ID. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų. Skiriamos didžiosios ir mažosios ID raidės. Kiekvieną identifikatorių atskirkite brūkšneliu. Pavyzdžiui, Sample1-DQB1-022515. Mėginių ID turi sutapti su ID, nurodytais dalyje BCLConvert_Data.
DnaOrRna	Taip	Amplikonų analizės, kurią reikia atlikti, tipas. 3.8 v. DRAGEN palaiko tik DNR analizę. Įveskite dna.

DRAGEN vienos ląstelės RNR komandų grandinei taikomi reikalavimai

Toliau pateikiami esami [DrogenSingleCellRNA_Settings] laukai ir aprašai. Informacijos apie trečiųjų šalių rinkinių suderinamumą rasite DRAGEN „Bio-IT“ platformos produktų suderinamumo pagalbos puslapyje.

1–5 vienos ląstelės bibliotekų rinkinys

Toliau pateiktos mėginių lapo nuostatos taikomos tiems bibliotekų paruošimo rinkiniams, kurių genetinė struktūra yra tokia pati, kaip 1–5 DRAGEN vienos ląstelės bibliotekų rinkinių. Norėdami sužinoti savo rinkinio genetinę struktūrą, žr. DRAGEN „Bio-IT“ platformos produktų suderinamumo pagalbos puslapį.

Laukas	Būtinai	Aprašas
SoftwareVersion	Taip	Šiuo metu sistemoje įdiegtos DRAGEN programinės įrangos versija. Naudokite visus tris sveikuosius skaičius, naudojamus versijos pavadinime. Pavyzdžiui, 3.5.7. Programinės įrangos versija turi atitikti versiją, nurodytą dalyje BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Taip	Atskaitinio genomo pavadinimas. Pavyzdžiui, hg38_alt_aware. Atskaitinių genomų vieta yra /usr/local/illumina/genomes. Norėdami naudoti pasirinktinį atskaitinį genomą, žr. „Illumina“ prietaisų atskaitos kūrimo priemonės 1.0.0 v. programos internetinį žinyną.

Laukas	Būtinai	Aprašas
RnaLibraryType	Ne	Įveskite vieną iš toliau nurodytų verčių. <ul style="list-style-type: none"> SF – susukta į priekį. SF yra numatytoji vertė. SR – susukta atgal. U – nesusukta.
RnaGeneAnnotationFile	Ne	Failas, kuriame yra RNR genų anotacijos. Leidžiami tik raidiniai ir skaitiniai rašmenys. Jei failas nepateiktas, naudojamas numatytasis anotacijų failas, įtrauktas į nurodytą atskaitinį genomą.
BarcodeRead	Ne	Brūkšninio kodo nuskaitymo sekos nustatymo vykdymo vieta, kurioje yra ir brūkšninis kodas, ir UMI. Vertėse gali būti Read1 arba Read2. Numatytoji vertė yra Read1.
BarcodePosition	Taip	Bazių, atitinkančių brūkšninį kodą, vieta įvestoje lauko „BarcodeRead“ vertėje. Bazių padėtys indeksuojamas pradedant nuo nulinės padėties. Lauko „BarcodePosition“ vertę įveskite tokiu formatu: 0_<brūkšninio kodo pabaigos padėtis> Pavyzdžiui, jei brūkšniniame kode yra 16 bazių, vertė yra 0_15.
UmiPosition	Taip	Bazių, atitinkančių UMI, vieta įvestoje lauko „BarcodeRead“ vertėje. Lauko „UMIPosition“ vertę įveskite tokiu formatu: <UMI pradžios padėtis>_<UMI pabaigos padėtis> Pavyzdžiui, jei UMI yra 10 bazių, o brūkšniniame kode yra 16, vertė yra 16_25.
BarcodeSequenceWhitelist	Ne	Failo, kuriame yra norimos įtraukti brūkšninių kodų sekos, pavadinimas. Failo pavadinime gali būti tik raidinių ir skaitinių rašmenų, brūkšnelių, pabraukimo brūkšnių ir taškų.
KeepFastq	Ne	Norėdami FASTQ išvesties failus įrašyti, įveskite true. Norėdami FASTQ išvesties failus pašalinti, įveskite false.

Laukas	Būtinai	Aprašas
MapAlignOutFormat	Ne	Išvesties failo formatas. Leidžiamos vertės yra „bam“ arba „cram“. Jei vertė nenurodyta, numatytoji yra „none“.

Toliau pateikiami esami [DragenSingleCellRna_Data] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinai	Aprašas
Sample_ID	Taip	Mėginio ID. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų. Skiriamos didžiosios ir mažosios ID raidės. Kiekvieną identifikatorių atskirkite brūkšneliu. Pavyzdžiui, Sample1-DQB1-022515. Mėginių ID turi sutapti su ID, nurodytais dalyje BCLConvert_Data.

6 vienos ląstelės bibliotekų rinkinys

Toliau pateiktos mėginių lapo nuostatos taikomos tiems bibliotekų paruošimo rinkiniams, kurių genetinė struktūra yra tokia pati, kaip 6 DRAGEN vienos ląstelės bibliotekų rinkinio. Norėdami sužinoti savo rinkinio genetinę struktūrą, žr. DRAGEN „Bio-IT“ platformos produktų suderinamumo pagalbos puslapį.

Laukas	Būtinai	Aprašas
SoftwareVersion	Taip	Šiuo metu sistemoje įdiegtos DRAGEN programinės įrangos versija. Naudokite visus tris sveikuosius skaičius, naudojamus versijos pavadinime. Pavyzdžiui, 3.5.7. Programinės įrangos versija turi atitikti versiją, nurodytą dalyje BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Taip	Atskaitinio genomo pavadinimas. Pavyzdžiui, hg38_alt_aware. Atskaitinių genomų vieta yra /usr/local/illumina/genomes. Norėdami naudoti pasirinktinį atskaitinį genomą, žr. „Illumina“ prietaisų atskaitos kūrimo priemonės 1.0.0 v. programos internetinį žinyną.
RnaLibraryType	Ne	Įveskite vieną iš toliau nurodytų verčių. <ul style="list-style-type: none"> • SF – susukta į priekį. • SR – susukta atgal. • U – nesusukta.

Laukas	Būtinai	Aprašas
RnaGeneAnnotationFile	Ne	Failas, kuriame yra RNR genų anotacijos. Leidžiami tik raidiniai ir skaitiniai rašmenys. Jei failas nepateiktas, naudojamas numatytasis anotacijų failas, įtrauktas į nurodytą atskaitinį genomą.
BarcodeRead	Ne	Brūkšninio kodo nuskaitymo sekos nustatymo vykdymo vieta, kurioje yra ir brūkšninis kodas, ir UMI. Vertėse gali būti <code>Read1</code> arba <code>Read2</code> . Numatytoji vertė yra <code>Read1</code> .
BarcodePosition	Taip	Bazių, atitinkančių brūkšninius kodus, vieta įvestoje lauko „BarcodeRead“ vertėje. Bazių padėtys indeksuojamas pradedant nuo nulinės padėties. Lauko „BarcodePosition“ vertę įveskite tokiu formatu: <code>0_<pirmojo brūkšninio kodo pabaigos padėtis>+<antrojo brūkšninio kodo pradžios padėtis>_<antrojo brūkšninio kodo pabaigos padėtis>+<trečiojo brūkšninio kodo pradžios padėtis>_<trečiojo brūkšninio kodo pabaigos padėtis></code> Pavyzdžiui, naudojant toliau pateiktą struktūrą, būtų gauta vertė <code>0_8+21_29+43_51</code> . <ul style="list-style-type: none"> • 9 bazės pirmajame brūkšniniame kode (<code>0_8</code>). • 12 bazių pirmajame ir antrajame brūkšniniuose koduose. • 9 bazės antrajame brūkšniniame kode (<code>21_29</code>). • 13 bazių antrajame ir trečiajame brūkšniniuose koduose. • 9 bazės trečiajame brūkšniniame kode (<code>43_51</code>).

Laukas	Būtinasis	Aprašas
UmiPosition	Taip	Bazių, atitinkančių UMI, vieta nurodytoje lauko „BarcodeRead“ vertėje. Eilutę įveskite tokiu formatu: <UMI pradžios padėtis>_<UMI pabaigos padėtis> Pavyzdžiui, jei UMI sudaro 8 bazės, o bazių skaičius prieš UMI yra 51, vertė yra 52_59.
BarcodeSequenceWhitelist	Ne	Failo, kuriame yra į baltąjį sąrašą norima įtraukti brūkšninių kodų seka, pavadinimas. Failo pavadinime gali būti tik raidinių ir skaitinių rašmenų, brūkšnelių, pabraukimo brūkšnių ir taškų.
KeepFastq	Ne	Norėdami FASTQ išvesties failus įrašyti, įveskite <code>true</code> . Norėdami FASTQ išvesties failus pašalinti, įveskite <code>false</code> .
MapAlignOutFormat	Ne	Išvesties failo formatas. Leidžiamos vertės yra „bam“ arba „cram“. Jei vertė nenurodyta, numatytoji yra „none“.

Toliau pateikiami esami [DragenSingleCellRna_Data] laukai ir aprašai.

Laukas	Būtinasis	Aprašas
Sample_ID	Taip	Mėginio ID. Mėginio ID gali sudaryti iki 20 raidinių ir skaitinių rašmenų. Skiriamos didžiosios ir mažosios ID raidės. Kiekvieną identifikatorių atskirkite brūkšneliu. Pavyzdžiui, Sample1-DQB1-022515. Mėginių ID turi sutapti su ID, nurodytais dalyje BCLConvert_Data.

Tamsiojo ciklo sekos nustatymas

Šioje dalyje aprašoma, kaip recepte naudoti tamsiojo ciklo sekos nustatymą.

Tamsiojo ciklo sekos nustatymas naudojamas tik sekos nustatymo ciklo cheminės analizės veiksmams atlikti. Norėdami sužinoti, ar būtina naudoti tamsiojo ciklo sekos nustatymą, žr., ar puslapyje „Compatible Products“ (suderinami produktai), esančiame „[Illumina](#)“ [pagalbos svetainėje](#), yra jūsų bibliotekų paruošimo rinkinys.

Norėdami naudoti tamsiojo ciklo sekos nustatymą, atlikite toliau nurodytus veiksmus.

Redaguokite recepto failą

1. Iš „Illumina“ pagalbos svetainės atsisiųskite recepto XML failą.
2. Recepto XML failą redaguokite.
 - a. Atsižvelgdami į savo nuskaitymo ir indekso sekos nustatymo konfigūraciją, identifikuokite atitinkamą protokolo dalį. Viename pasirinktiniame recepte yra šeši skirtingi galimi protokolai, kuriuos galima redaguoti.

Pavyzdžiui, vieno 1-ojo nuskaitymo be indekso sekos nustatymo konfigūracijos protokolas būtų

```
<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >
```
 - b. Prieš `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` ir `<ReadRef ReadName="Read 2"/>` naujoje eilutėje įveskite toliau nurodytą tamsiojo ciklo veiksmą.

```
<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />.
```
 - c. Naujoje eilutėje įveskite kiekvieno būtinojo tamsiojo ciklo veiksmą.
3. Recepto XML failą įrašykite.

Toliau pateiktas recepto su tamsiuoju ciklu pavyzdys.

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

Receptą pridėkite prie serijos

- 1 Valdymo programinėje įrangoje nustatydami vykdymą, dalyje „Custom Recipe“ (pasirinktinis receptas) pasirinkite **Choose** (pasirinkti).
- 2 Pereikite į atnaujintą recepto XML failą.
- 3 Pasirinkite **Open** (atidaryti).
4. Grįžkite į dalį [Sekos nustatymo vykdymo paleidimas 47 psl.](#) (sekos nustatymo vykdymo paleidimas).

Indeksas

”

„BaseSpace“ sekos centras 1
dokumentai 13
nuostatos 13
„Illumina Proactive Support“ 14
„Local Run Manager“ 5
„NextSeq 1000“ / „NextSeq 2000“
reagentai 28
„PhiX Control v3“ 28
„PhiX“ 29
„Windows“
prisijungimas 85

A

alkoholiu suvilgytos servetėlės 29
amplifikacija 8
analizė
metodai 5, 9
atsarginės dalys 80
atvaizdavimas 56-57
automatinis naujinimas 76

B

bandymo rinkinys 29
bazių priskyrimas 5
bazių priskyrimo failai 9, 56, 62
BCL failai 6
bcl2fastq2 56
bibliotekos
denatūravimas 8
bibliotekų skiedimas 8
būsenos juosta 3

C

CBCL failai 61
CE 56
chlorkalkėmis suvilgytos servetėlės 29
ciklų skaičius 32

D

D diskas 76
debesimi pagrįsta analizė 1
dėklai 29
denatūravimas 8
dokumentai 108
domenai 13
duomenų kokybė 60
durelės
uždarymas 52
dviejų kanalų sekos nustatymas 59

E

eksploatacinės medžiagos
nuskaitymas 52
stebėjimas 1
eksploatacinių medžiagų skyrius 3
eksploatacinių medžiagų stebėjimas 1
eterneto kabelis 4
eterneto prievadas 4

F

FASTQ konvertavimas 56
fazių derinimas ir išankstinis fazių
derinimas 59
filtro failai 56, 62

G

galiojimo datos 80
garantija 29
garso nuostatos 21

I

įmonės prenumerata 13
indeksas
ciklai 32

inicijavimas 85
 gedimai 84
intensyvumo vertės 58
internetu ryšys 13
InterOp failai 56, 62
IP adresas 6
įspėjimai 6, 76, 84
išjungimas 84
išsklotinės 56
Išsklotinių numeravimas 58
išvesties aplankas 51, 76

J

juostos 57-58

K

kameros 57
kasetė
 dėjimo kryptis 52
katalogų numeriai 28
kintamoji srovė
 įvestis 4
klaidos 6, 84
 pranešimai 82
 tikimybė 61
klaidų žurnalai 57
klaviatūros 4
klientų aptarnavimas 108
kokybės lentelės 61
kompiuterio pavadinimas 6

L

lašų padėklas
 dėklai 29

M

maitinimo išjungimas ir įjungimas 82
maitinimo laidas 4
maitinimo mygtukas 3, 84
miniatiūros 62

monitorius 3

N

nanotelkiniai 58
našumo duomenys 13
nepriskyrimai 58-59
nukleotidai 59
numatytasis išvesties aplankas 51
numatytosios gamykinės nuostatos 86
nuskaitymo ciklai 32
nuskaitymų ilgis 32
nutrūkęs ryšys 84

O

operacinė sistema 85
oro filtrai
 atsarginės dalys 29
 vieta 80

P

pagalba, techninė 108
pagalbos puslapiai 76
paleidimas iš naujo 86
papildomi ciklai 32
pavadinimas
 kompiuterio pavadinimas 6
 priedaiso pavadinimas 21
paviršių numeravimas 58
pelė 4
PF % 60
PhiX
 prilygiavimas 56
Phred algoritmas 61
piktogramos 6
pirmoji sąranka 80, 86
praleidimas per filtrą (PF) 60
prieglobos vieta 13
priedaiso našumo duomenys 13
privatus domenas 13
procesų valdymas 76

- programinė įranga
 - diegimas 76
 - naujinimo įspėjimai 22
 - senesnės versijos sugražinimas 86
- programinės įrangos diegimas 76
- programinės įrangos paketas 1
- programinės įrangos rinkinys 5

Q

Q įverčiai 61

R

- rankinis programinės įrangos naujinimas 76
- raudonas kanalas 59
- receptai 76
- recepto fragmentai 6
- registracijos triktys 58
- resuspensijos buferinis tirpalas 28
- rinkiniai 28
 - katalogo numeriai 29
- RSB pakaitalas 28
- RunInfo.xml 62

S

- sankaupų filtravimas 60
- sankaupų intensyvumas 58
- sankaupų vietos 56, 62
- sekos nustatymo analizės peržiūros
 - programa 56
- Sekos nustatymo analizės peržiūros
 - programos 58
- senesnės programinės įrangos versijos
 - sugražinimas 86
- serijos aplankas 76
- serijos dydis 76
- serijos numeris 6
- serijų naikinimas 6
- serijų panaikinimas 76
- serverio vieta 13
- sistemos patikros 82

- sistemos rinkinio diegimo programa 76
- skaičiavimo modulis 56
- slinkimas 4
- standusis diskas 6, 76
- suporuota pagal galą 51
- susieti diskai 51
- sutrumpintas pavadinimas 21
- svertinis jungiklis 4, 84

Š

- šablonų generavimas 58
- šaldiklio specifikacijos 29
- šaldytuvo specifikacijos 29
- šviečianti juosta 3

T

- takeliai 57
- techninė pagalba 108
- techniniai dokumentai 61
- techninių duomenų derinimas 84
- tyrumo filtras 60

U

- UNC keliai 51
- universalioji kopijavimo paslauga 76
- Universalioji kopijavimo paslauga 5
- USB priedadai 4

V

- vaizdai 56
- vaizdo analizė 5
- ventiliatoriai 80
- vienas nuskaitymas 51
- vieta diske 6, 76
- vietinė analizė 1
- vykdymai
 - metrikos 56
- vykdymo būseną 6
- vykdymo parametrai
 - redagavimas 51

vykdymo parametrų redagavimas 51
vykdymo sąranka
 pavyzdžiai 32
vykdymų skaičius 6

Ž

žalias kanalas 59
žurnalo failai 57

Techninė pagalba

Dėl techninės pagalbos kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos tarnybą.

Interneto www.illumina.com

svetainė

El. paštas: techsupport@illumina.com

„Illumina“ techninės pagalbos skyriaus telefono numeriai

Regionas	Nemokamas telefono numeris	Tarptautinis
Airija	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Australija	+61 1800 775 688	
Austrija	+43 800 006249	+43 1 9286540
Belgija	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Danija	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Filipinai	+63 180016510798	
Honkongas, Kinija	+852 800 960 230	
Indija	+91 8006500375	
Indonezija		0078036510048
Ispanija	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Italija	+39 800 985513	+39 236003759
Japonija	+81 0800 111 5011	
Jungtinė Karalystė	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Jungtinės Valstijos	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Kanada	+1 800 809 4566	
Kinija		+86 400 066 5835
Malaizija	+60 1800 80 6789	
Naujoji Zelandija	+64 800 451 650	
Nyderlandai	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Norvegija	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Pietų Korėja	+82 80 234 5300	

Regionas	Nemokamas telefono numeris	Tarptautinis
Prancūzija	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Singapūras	1 800 5792 745	
Suomija	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Švedija	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Šveicarija	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Tailandas	+66 1800 011 304	
Taivanas, Kinija	+886 8 06651752	
Vietnamas	+84 1206 5263	
Vokietija	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677

Saugos duomenų lapai (SDL) prieinami „Illumina“ interneto svetainėje support.illumina.com/sds.html.

Produkto dokumentaciją galima atsisiųsti iš interneto svetainės support.illumina.com.



„Illumina“

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 JAV

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ne Šiaurės Amerikoje)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Naudoti tik moksliniams tyrimams. Negalima naudoti atliekant diagnostikos procedūras.

© 2021 m. „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

illumina[®]