

# NextSeq 1000 en 2000

## Handleiding sequencingsysteem

Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

**HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.**

**ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).**

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html) voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

# Revisiegeschiedenis

Documentnr.	Datum	Omschrijving van wijziging
1000000109376 v04	april 2021	Instructies voor het importeren van basislijnbestanden zijn toegevoegd. DRAGEN DNA Amplicon-workflow is toegevoegd. Functionaliteiten voor NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3. zijn toegevoegd. Informatie over het selecteren van een proxyserver is toegevoegd. Transport- en opslagtemperatuur van RSB met Tween 20 is bijgewerkt. DRAGEN RNA-workflow is bijgewerkt met differentiële genexpressie. Sequencinguitvoermapstructuur is bijgewerkt. Aanbevelingen monsterblad v2-indeling zijn bijgewerkt.
1000000109376 v03	november 2020	Catalogusnummers zijn gecorrigeerd. Informatie over het toevoegen van nieuwe gebruikers is toegevoegd.

Documentnr.	Datum	Omschrijving van wijziging
1000000109376 v02	oktober 2020	<p>NextSeq 1000/2000 P3-reagenskit is toegevoegd.</p> <p>DRAGEN Single Cell RNA workflow (DRAGEN-Enkele cel RNA-workflow) is toegevoegd.</p> <p>DRAGEN Enrichment workflow (DRAGEN-Verrijking-workflow) is toegevoegd.</p> <p>FASTQ-compressie-opties zijn toegevoegd.</p> <p>Instructies voor het installeren van DRAGEN-pijplijn- en licentie-updates zijn toegevoegd.</p> <p>Instructies voor het importeren van aangepaste referentiegenomen zijn toegevoegd.</p> <p>Laadvolume en -concentraties voor bibliotheektypen zijn bijgewerkt.</p> <p>Bibliotheekverdunningsinstructies zijn bijgewerkt.</p> <p>Instructies voor het automatisch spoelen van de reagenscartridge zijn toegevoegd.</p> <p>Informatie over het aantal ondersteunde aantal cycli is bijgewerkt.</p> <p>Opties om het instrument aan te passen zijn bijgewerkt.</p> <p>Instructies voor runinstelling instrument zijn bijgewerkt.</p> <p>DRAGEN-sequencinguitvoerstructuur is bijgewerkt.</p> <p>Informatie over DRAGEN-QC-rapporten.</p> <p>Informatie over het verwijderen van aangepaste referentiegenomen van de harde schijf is toegevoegd.</p> <p>Informatie over het uitvoeren van systeemcontroles is toegevoegd.</p> <p>Monsterblad v2-instellingen zijn bijgewerkt.</p>

Documentnr.	Datum	Omschrijving van wijziging
1000000109376 v01	juni 2020	<p>Softwarebeschrijvingen voor NextSeq 1000/2000-besturingssoftware zijn bijgewerkt.</p> <p>In de hele handleiding is duidelijker onderscheid gemaakt tussen de modi Cloud, Hybrid, Local en Standalone (Cloud, Hybride, Lokaal en Standalone). Instructies voor het opslaan en ontdooien van cartridges zijn bijgewerkt.</p> <p>Informatie over het aantal ondersteunde cycli is bijgewerkt.</p> <p>Instructies voor het instellen van secundaire analyse zijn bijgewerkt.</p> <p>Catalogusnummers van de reagenskits zijn bijgewerkt.</p> <p>Schema sequencingprotocol is bijgewerkt.</p> <p>Instructies voor het specificeren van een netwerkstation als standaarduitvoermap zijn bijgewerkt.</p> <p>Tabel van ondersteunde bibliotheektypen is bijgewerkt.</p> <p>Instructies voor het importeren van een aangepast referentiegenoom zijn toegevoegd.</p> <p>Instructies voor het instellen van een run met een aangepaste indexkit en een aangepaste bibliotheekvoorbereidingskit zijn toegevoegd.</p> <p>Gebruikersaccount- en wachtwoordvereisten zijn bijgewerkt.</p> <p>Details over DRAGEN-uitvoermapstructuur zijn toegevoegd.</p> <p>Instructies voor het aftappen van gebruikte reagentia uit de cartridge zijn verduidelijkt.</p> <p>Achtergrondinformatie over de Q-tabel is toegevoegd.</p> <p>Instructies voor het installeren van besturingssoftware-updates zijn bijgewerkt.</p>

Documentnr.	Datum	Omschrijving van wijziging
1000000109376 v01	juni 2020	Instructies voor het opnieuw uitvoeren van een run zijn toegevoegd. Instructies voor het bijwerken van de DRAGEN-pijplijnen en -licentie zijn toegevoegd. Instructies om het instrument aan te passen zijn toegevoegd. De illustraties zijn aangepast aan de nieuwe etikettering. In de hele handleiding is klep veranderd in kap. Beschrijving van de twee ethernetpoorten is toegevoegd.
1000000109376 v00	Maart 2020	Eerste uitgave.

# Inhoudsopgave

Systeemoverzicht .....	1
Aanvullende hulpmiddelen .....	2
Hardware van het instrument .....	3
Geïntegreerde software .....	5
Procesbeheer .....	6
Schema sequencingprotocol .....	8
Hoe sequencing in zijn werkt gaat .....	8
Systeemconfiguratie .....	11
Vereisten gebruikersaccount .....	11
BaseSpace Sequence Hub en Proactive Support configureren .....	13
De standaardlocatie van de uitvoermap opgeven .....	15
Aangepaste referentiegenomen importeren .....	18
Ruisbasislijnbestanden importeren .....	19
Runmodus configureren .....	20
Instrumentaanpassing .....	21
Verbruiksartikelen en apparatuur .....	24
Verbruiksartikelen voor sequencing .....	24
Aanvullende verbruiksartikelen .....	28
Aanvullende apparatuur .....	30
Protocol .....	31
Overwegingen met betrekking tot sequencing .....	31
Een sequencing-run in de BaseSpace sequentie-hub plannen .....	32
De verpakte cartridge en stroomcel ontdooien .....	41
Bibliotheken verdunnen .....	44
Verbruiksartikelen in de cartridge laden .....	46
Een sequencing-run starten .....	48
Sequencinguitvoer .....	57
Overzicht Real-Time Analysis .....	57
Workflow Real-Time Analysis .....	59
Sequencinguitvoerbestanden .....	63
Uitvoerbestanden DRAGEN-secundaire analyse .....	64
Uitvoermapstructuur secundaire DRAGEN-analyse .....	74
Onderhoud .....	78
Ruimte op harde schijf vrijmaken .....	78
Software-updates .....	79
DRAGEN-workflow- en -licentie-updates .....	80

Het luchtfilter vervangen .....	82
Problemen oplossen .....	84
Oplossing foutmeldingen .....	84
Verbruiksartikelen terugzetten in de opslag .....	85
Een run annuleren .....	85
Een run opnieuw uitvoeren .....	86
Het instrument uit- en weer inschakelen .....	86
Een systeemcontrole uitvoeren .....	87
Fabrieksinstellingen terugzetten .....	88
Installatie-image vastleggen .....	88
Vastgelegde image terugzetten .....	89
Hulpmiddelen en referenties .....	90
Monsterblad v2-instellingen .....	90
Donkere cyclus-sequencing .....	105
Index .....	107
<b>Technische ondersteuning .....</b>	<b>111</b>



# Systeemoverzicht

Het Illumina® NextSeq™ 1000-sequencingstelsel en het Illumina® NextSeq™ 2000-sequencingstelsel maken een gerichte benadering van NGS<sup>1</sup> mogelijk. Dit toepassingsgerichte stelsel combineert de sequencingtechnologie van Illumina met een kostenbesparend desktopinstrument dat de volgende kenmerken heeft:

- **Toegankelijkheid en betrouwbaarheid** — NextSeq 1000/2000 beschikt over lokale DRAGEN-analyse en interne denaturatie en verdunning. Het stelsel heeft een ingebouwde beeldvormingsmodule en vloeistofcomponenten zijn in het verbruiksartikelencompartiment ingebouwd voor eenvoudiger onderhoud van het instrument.
- **Verbruiksartikel in één stap laden** — Een cartridge voor eenmalig gebruik is voorgevuld met alle reagentia die voor een run nodig zijn. De bibliotheek en een stroomcel worden rechtstreeks in de cartridge geladen die vervolgens op het instrument wordt geladen. De geïntegreerde identificatie maakt nauwkeurige tracering mogelijk.
- **NextSeq 1000/2000-software** — Een pakket met geïntegreerde software bestuurt instrumentbewerkingen, verwerkt beelden en genereert basebepalingen.
  - **Cloud mode** (Cloud-modus) — Plan uw run met Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). De geselecteerde analyseworkflow wordt automatisch in de cloud opgestart. Rungegevens en analyseresultaten worden ook naar de cloud geschreven.
  - **Hybrid mode** (Hybride-modus) — Plan uw run met Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). De geselecteerde analyseworkflow wordt vervolgens gestart door DRAGEN op het instrument.
  - **Local mode** (Lokale modus) — Plan uw run lokaal met een monsterblad v2-bestandsindeling. De geselecteerde analyseworkflow wordt automatisch gestart door DRAGEN op het instrument.
  - **Standalone mode** (Standalone-modus) — Plan uw run zonder een monsterblad.

Deze sectie bevat een overzicht van het stelsel, met informatie over hardware, software en gegevensanalyse. Ook staan er belangrijke concepten en terminologie in die u in de hele documentatie kunt tegenkomen. Ga voor uitgebreide specificaties, gegevensbladen, toepassingen en verwante producten naar de [productpagina van de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen](#) op de website van Illumina.

---

<sup>1</sup>sequencing van de volgende generatie

## Aanvullende hulpmiddelen

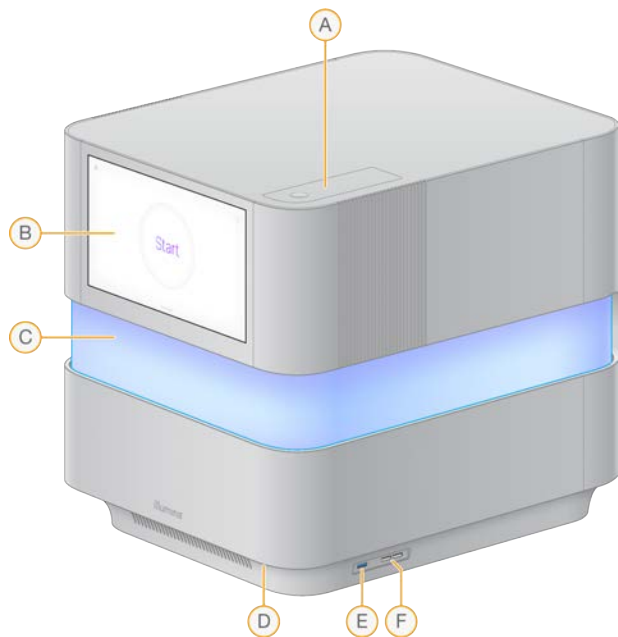
De [ondersteuningspagina's voor de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingsystemen](#) op de website van Illumina bieden aanvullende systeemhulpmiddelen. Deze middelen zijn onder andere software, training, compatibele producten en de volgende documentatie. Controleer altijd de ondersteuningspagina's voor de meest recente versies.

Hulpmiddel	Omschrijving
<a href="#">Keuzeoptie aangepast protocol</a>	Een tool voor het genereren van end-to-end instructies die zijn afgestemd op uw bibliotheekvoorbereidingsmethode, run-parameters en analysemethode, met opties voor het afstellen van het detailniveau.
<i>Handleiding Veiligheid en naleving NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingsysteem (documentnr. 1000000111928)</i>	Geeft informatie over overwegingen aangaande operationele veiligheid, nalevingsverklaringen en instrumentetikettering.
<i>Handleiding Naleving RFID-lezermodule (documentnr. 1000000002699)</i>	Dit document bevat informatie over de RFID-lezer van het instrument, nalevingscertificaten en veiligheidsoverwegingen.
<i>Handleiding Denatureren en verdunnen van bibliotheken voor NextSeq 1000 en 2000, (documentnr. 1000000139235).</i>	Bevat instructies over het handmatig denatureren en verdunnen van geprepareerde bibliotheken voor een sequencing-run en over het prepareren van een optionele PhiX-controle.
<i>Handleiding voor aangepaste primers NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139569)</i>	Geeft informatie over het vervangen van Illumina-sequencingprimers door aangepaste sequencingprimers.
<i>Handleiding Voorbereiding locatie NextSeq 2000-sequencingsysteem (documentnr. 1000000109378)</i>	Dit document bevat de specificaties voor de laboratoriumruimte, de elektrische vereisten en de overwegingen ten aanzien van de omgeving en het netwerk.
<i>BaseSpace help (help.basespace.illumina.com)</i>	Geeft informatie over het gebruik van de BaseSpace™ sequentie-hub en de beschikbare analyseopties.
<i>Handleiding Pooling indexadapters (documentnr. 1000000041074)</i>	Biedt richtlijnen voor pooling en strategieën voor dubbele indexing.
<i>Illumina-adaptersequenties (documentnr. 1000000002694)</i>	Biedt een lijst met adaptersequenties voor Illumina-bibliotheekvoorbereidingssets.

## Hardware van het instrument

De NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingsystemen zijn voorzien van een aan/uit-knop, monitor, statusbalk, compartiment voor verbruiksartikelen en USB-poorten.

Afbeelding 1 Externe systeemonderdelen



- A. **Luchtfiltercompartiment** — Geeft toegang tot het vervangbare luchtfilter.
- B. **Aanraakschermmonitor** — Voor configuratie en installatie op het instrument via de besturingssoftware-interface.
- C. **Statusbalk** — De lichtkleur geeft aan wat de voortgang van de workflow in het systeem is. Blauw en paars duiden op interactiviteit (bv. pre-runcontroles) en veelkleurig duidt op speciale momenten en gegevens (bv. voltooiing sequencing). Kritieke fouten worden aangegeven met een rood lampje.
- D. **Aan/uit-knop** — Regelt de voeding van het instrument en geeft aan of het systeem aan staat (brandt), uit staat (brandt niet) of uit staat maar met wisselstroomvoeding (knippert).
- E. **USB 3.0-poort** — Voor het aansluiten van een externe draagbare schijf voor gegevensoverdracht.
- F. **USB 2.0-poorten** — Voor het aansluiten van een muis en toetsenbord.

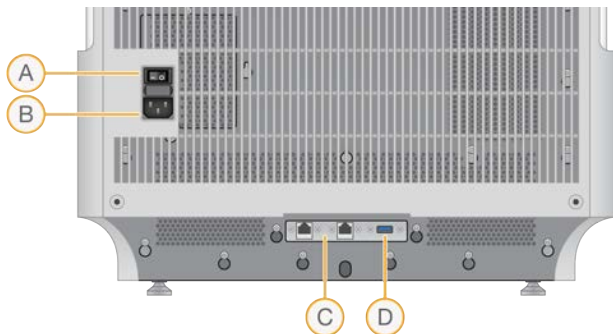
## Aansluitingen voeding en randapparatuur

U kunt het instrument voorzichtig verplaatsen om bij de aan/uit-schakelaar, de USB-poort en andere hulpaansluitingen aan de achterkant van het instrument te komen.

Aan de achterkant van het instrument bevinden zich de schakelaar en de ingang die de voeding van het instrument regelen, en twee ethernetpoorten voor een optionele ethernetverbinding. Via een USB 3.0-poort kan een externe draagbare schijf worden aangesloten voor gegevensoverdracht (exFAT wordt niet ondersteund op dit Linux-platform).

NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingsystemen zijn uitgerust met twee ethernetpoorten om de functies en flexibiliteit van het systeem uit te breiden. Zo kan bijvoorbeeld de ene ethernetpoort worden gebruikt voor communicatie met een intern netwerkstation en de andere voor externe communicatie, zoals BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) of Proactive Support (Proactive-ondersteuning).

Afbeelding 2 Onderdelen op het achterpaneel

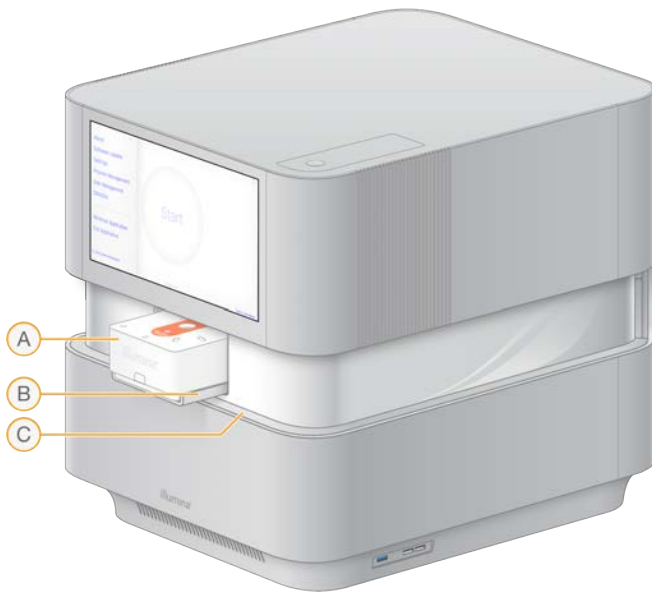


- A. **Tuimelschakelaar** — Voor het in- of uitschakelen van de voeding.
- B. **Ingang voeding** — Netsnoeraansluiting.
- C. **Ethernetpoorten (2)** — Optionele ethernetkabelaansluiting.
- D. **USB 3.0-poort** — Voor het aansluiten van een externe harde schijf voor gegevensoverdracht.

## Compartiment voor verbruiksartikelen

Het compartiment voor verbruiksartikelen bevat de cartridge, met de stroomcel en verdunde bibliotheek, voor een sequencing-run.

Afbeelding 3 Compartiment voor verbruiksartikelen geladen



- A. **Cartridge** — Bevat de stroomcel, bibliotheek en reagentia, en verzamelt gebruikte reagentia tijdens de run.
- B. **Bak** — Hierin zit de cartridge tijdens sequencing.
- C. **Kap** — Geeft toegang tot het compartiment voor verbruiksartikelen.

## Geïntegreerde software

Het systeemsoftwarepakket bevat geïntegreerde toepassingen waarmee sequencing-runs en analyses kunnen worden uitgevoerd.

- **NextSeq 1000/2000-besturingssoftware** — Regelt de werking van het instrument en biedt een interface voor het configureren van het systeem, het instellen van een sequencing-run en het monitoren van de runstatistieken tijdens de sequencing.
- **Real-Time Analysis (RTA3)** — Voert beeldanalyses en basebepalingen uit tijdens de run. Zie [Sequencinguitvoer op pagina 57](#) voor meer informatie.
- **Universal Copy Service** — Kopieert sequencinguitvoerbestanden vanuit de runmap naar BaseSpace Sequence Hub (indien van toepassing) en de uitvoermap waar u ze kunt openen.

De besturingssoftware is interactief en voert geautomatiseerde achtergrondprocessen uit. Real-Time Analysis en Universal Copy Service zijn alleen op de achtergrond actief.

## Systeminformatie

Selecteer het besturingssoftwaremenu in de linkerbovenhoek om de sectie About (Algemene informatie) te openen. De sectie About (Algemene informatie) bevat de contactgegevens van Illumina en de volgende systeeminformatie:

- Instrument Serial Number (Serienummer instrument)
- Computer Name (Naam computer)
- System Suite Version (Systeempakketversie)
- Image OS Version (Versie besturingsysteemimage)
- Total Run Count (Totaal aantal runs)

## Meldingen en attenderingen

Het meldingspictogram bevindt zich in de rechterbovenhoek. Bij een waarschuwing of fout schuift het rechterpaneel uit om meldingen aan te geven. Selecteer dit pictogram om een lijst te bekijken van Current (huidige) of Historic (eerdere) waarschuwingen en fouten.

- Waarschuwingen vereisen aandacht, maar stoppen de run niet en vragen geen andere actie dan een bevestiging.
- Foutmeldingen vragen een actie alvorens een run te starten of voort te zetten.

## De besturingssoftware minimaliseren

Minimaliseer de besturingssoftware om andere toepassingen te kunnen openen. Bijvoorbeeld om naar de uitvoermap te gaan via de verkenner of te zoeken naar een monsterblad.

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Minimize Application** (Applicatie minimaliseren). De besturingssoftware is geminimaliseerd.
2. Om de besturingssoftware te maximaliseren, selecteert u in de werkbalk de optie **NextSeq 1000/2000 Control Software** (NextSeq 1000/2000-besturingssoftware).

## Procesbeheer

Het scherm Process Management (Procesbeheer) toont tijdelijke runs die zijn opgeslagen in `/usr/local/illumina/runs`. Elke run wordt geïdentificeerd door de rundatum, naam en ID. Voor elke run wordt ook informatie zoals Run Status (Runstatus), Secondary Analysis (Secundaire analyse), Output Folder (Uitvoermap) en Cloud getoond. Selecteer de run om aanvullende informatie weer te geven, waaronder Workflow, Average % Q30 (Gemiddeld % Q30), Total Reads PF (Totaal aantal bepalingen PF) en Total Yield (Totale resultaat). Zie [Ruimte op harde schijf vrijmaken op pagina 78](#) om runs te verwijderen en ruimte vrij te maken. Zie [Een run opnieuw uitvoeren op pagina 86](#) om een analyse op het instrument opnieuw uit te voeren.

## Status of Run

De sectie Status of Run (Runstatus) geeft de status weer van de sequencing-run:

- **In Progress** (Bezig) — Sequencing-run is bezig.
- **Complete** (Voltooid) — Sequencing-run is voltooid.
- **Stopped** (Stopgezet) — Sequencing-run werd stopgezet.
- **Errored** (Fout(en) opgetreden) — Sequencing-run heeft een fout.

## Status of Secondary Analysis

De sectie Status of Secondary Analysis (Status secundaire analyse) geeft de status weer van de secundaire DRAGEN-analyse op het instrument. Als de analyse wordt uitgevoerd in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub), staat hier n.v.t. vermeld.

- **Not Started** (Niet gestart) — DRAGEN-analyse nog niet gestart.
- **In Progress** (Bezig) — DRAGEN-analyse is bezig.
- **Stopped** (Stopgezet) — DRAGEN-analyse is stopgezet.
- **Errored** (Fout(en) opgetreden) — DRAGEN-analyse heeft een fout.
- **Complete** (Voltooid) — DRAGEN-analyse is voltooid.

## Status of Output Folder

De sectie Status of Output Folder (Status uitvoermap) geeft de status weer van bestanden die naar de uitvoermap worden gekopieerd:

- **In Progress** (Bezig) — Bestanden worden naar de uitvoermap gekopieerd.
- **Complete** (Voltooid) — Bestanden zijn succesvol naar de uitvoermap gekopieerd.

## Status of Cloud (BaseSpace Sequence Hub)

De sectie Status of Cloud (BaseSpace Sequence Hub) (Status cloud (BaseSpace sequentie-hub)) geeft de status weer van bestanden die via de cloud naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) zijn geüpload.

- **In Progress** (Bezig) — De besturingssoftware uploadt bestanden naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).
- **Complete** (Voltooid) — Bestanden zijn succesvol geüpload naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).

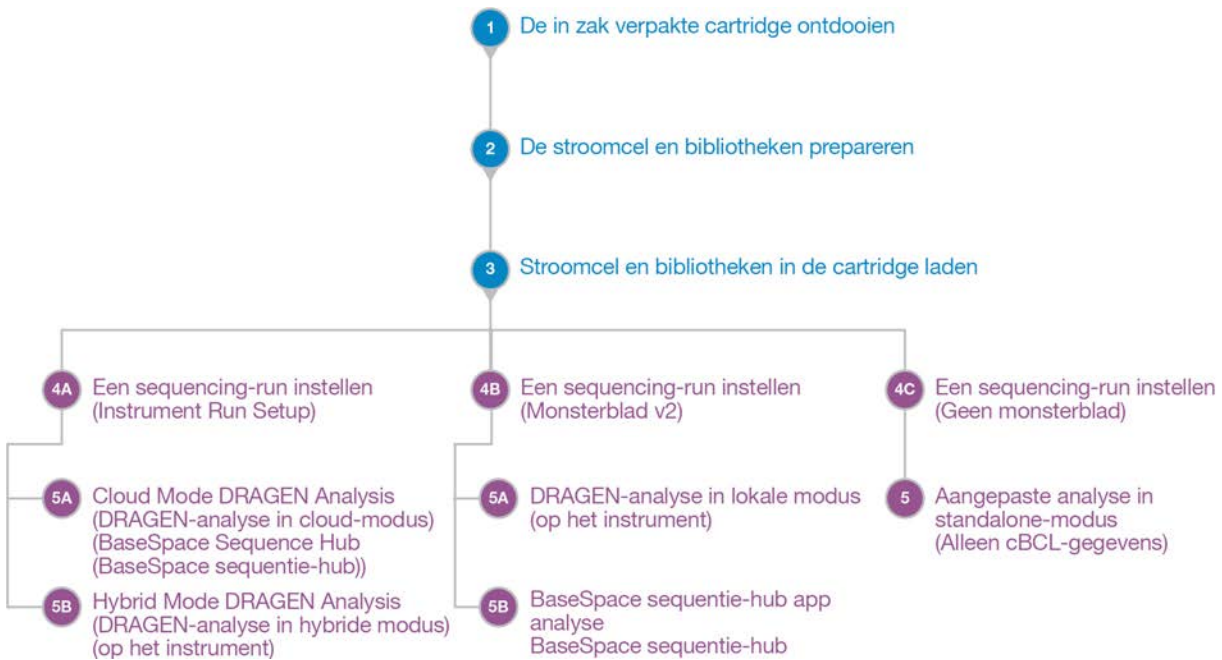
## Een statusprobleem oplossen

- Als de run bezig is: sluit het scherm Process Management (Procesbeheer), wacht ongeveer vijf minuten en open het scherm weer.

- Als de run niet bezig is: schakel het instrument uit en weer in, en open het scherm Process Management (Procesbeheer) opnieuw. Zie [Het instrument uit- en weer inschakelen op pagina 86](#).

## Schema sequencingprotocol

Het volgende schema toont het sequencingprotocol met de NextSeq 1000/2000.



## Hoe sequencing in zijn werkt gaat

Sequencing op de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen omvat vorming van clusters, sequencing en analyse. Elke stap wordt tijdens een sequencingrun automatisch uitgevoerd. Afhankelijk van de systeemconfiguratie wordt na voltooiing van een run een aanvullende analyse uitgevoerd, maar niet op het instrument.

### Vorming van clusters

De bibliotheek<sup>1</sup> wordt automatisch gedenatureerd in enkele strengen en verder verdund in het instrument. Tijdens vorming van clusters worden enkele DNA-moleculen aan het oppervlak van de stroomcel gebonden en geamplificeerd tot ze clusters<sup>2</sup> vormen. De vorming van clusters duurt ~4 uur.

<sup>1</sup>Een DNA- of RNA-monster waaraan adapters zijn bevestigd voor sequencing. Voorbereidingsmethoden variëren.

<sup>2</sup>Een kloongroep DNA-strengen op een stroomcel die één bepaling van een sequencing produceren. Elke DNA-streng bevat een sjabloon die wordt versterkt totdat het cluster uit honderden of duizenden kopieën bestaat. Een stroomcel met 10.000 clusters produceert bijvoorbeeld 10.000 afzonderlijke bepalingen of 20.000 paired-end bepalingen.



## Sequencing

Van de clusters worden beelden gevormd met behulp van tweekanaalschemie, een groen kanaal en een blauw kanaal, om gegevens voor de vier nucleotiden te coderen. Nadat de ene tegel op de stroomcel beeldvorming heeft ondergaan, gebeurt hetzelfde met de volgende. Het proces wordt voor elke sequencingcyclus herhaald (~5 minuten per cyclus). Na de beeldanalyse voert de Real-Time Analysis-software basebepaling<sup>1</sup>, filtering en kwaliteitsscorebepaling<sup>2</sup> uit.

## Primaire analyse

Tijdens de run zal de besturingssoftware automatisch basebepalingsbestanden<sup>3</sup> (\*.cbcl) naar de aangegeven uitvoermap verzenden voor gegevensanalyse. Tijdens de sequencing-run voert de realtime analysesoftware (RTA3-software) beeldanalyses, basebepalingen en demultiplexing<sup>4</sup> uit. Als de sequencing voltooid is, begint de secundaire analyse. De methode van secundaire gegevensanalyse is afhankelijk van uw toepassings- en systeemconfiguratie.

## Secundaire analyse

BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) is de cloud computing-omgeving van Illumina voor runmonitoring, gegevensanalyse, opslag en samenwerking. Het host DRAGEN- en BaseSpace sequentie-hub-apps, die veelgebruikte analysemethoden voor sequencing ondersteunen.

Na voltooiing van de initiële sequentieanalyse voert DRAGEN een secundaire analyse uit met behulp van een van de beschikbare analysepijplijnen.

Bij gebruik van de Cloud of Hybrid mode (Cloud- of Hybride-modus) haalt DRAGEN het monsterblad, het referentiegenoom en de run-invoerbestanden op uit de Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). In de Cloud mode (Cloud-modus) worden de cBCL-gegevens automatisch geüpload naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub), en de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) start de secundaire DRAGEN-analyse. In de Hybrid mode (Hybride-modus) wordt de secundaire DRAGEN-analyse op het instrument uitgevoerd, en kunnen de uitvoerbestanden in een geselecteerde map of in de cloud worden opgeslagen.

Bij gebruik van de Local mode (Lokale modus) haalt DRAGEN het geleverde monsterblad, het referentiegenoom en de run-invoerbestanden op uit de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen. De secundaire DRAGEN-analyse wordt op het instrument uitgevoerd en de

---

<sup>1</sup>Een basis (A, C, G of T) bepalen voor elk cluster in een tegel bij een specifieke cyclus.

<sup>2</sup>Berekent een set kwaliteitsvoorspellers voor elke basisbepaling en gebruikt de waarde van de voorspellers om de Q-score op te zoeken.

<sup>3</sup>Bevat de basisbepaling en de gekoppelde kwaliteitsscore voor elk cluster van elke sequencingcyclus.

<sup>4</sup>Een analyseproces dat bepalingen differentieert voor elke bibliotheek in een pool.

uitvoerbestanden worden opgeslagen in een geselecteerde uitvoermap. Als Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) geselecteerd is, kan de analyse na voltooiing van de sequencing ook worden gestart via de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub)-apps.

Bij gebruik van de Standalone mode (Standalone-modus) stelt u een run in zonder een monsterblad. Deze workflow wordt aanbevolen voor aangepaste analyseworkflows die cBCL-gegevens gebruiken.

- Raadpleeg voor meer informatie over de BaseSpace sequentie-hub de [BaseSpace Sequence Hub Online Help](#).
- Raadpleeg voor meer informatie over DRAGEN de [ondersteuningspagina van het DRAGEN Bio-IT Platform](#).
- Zie [BaseSpace-apps](#) voor een overzicht van alle apps.

# Stysteemconfiguratie

Deze sectie bevat instructies voor het instellen van uw systeem, met beschrijvingen van de software-instellingen.

Deze instructies beschrijven voornamelijk de besturingssoftware, met wat informatie over het configureren van het netwerk en het besturingssysteem.

**i** | Bij gebruik van Google Chrome op het instrument wordt u gevraagd uw inlogsleutelhanger te ontgrendelen. U kunt de prompt veilig negeren en annuleren.

## Vereisten gebruikersaccount

Het Linux-besturingssysteem beschikt over drie accounts:

- root (hoofdbeheerder)
- ilmnadmin (beheerder)
- ilmnuser (gebruiker)

Het beheerdersaccount is alleen bedoeld voor het toepassen van systeemupdates, zoals het bijwerken van de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware, of voor gebruik door IT-medewerkers om een permanent netwerkstation te koppelen.

Voer alle overige functies, inclusief sequencing, uit vanuit het gebruikersaccount.

### Vereisten voor wachtwoord

Nadat de installatie van het instrument is voltooid, start de servicetechnicus voor alle drie de accounts een wachtwoordwijziging. Update elk wachtwoord elke 180 dagen wanneer daar om wordt gevraagd.

Tabel 1 Standaard wachtwoordbeleid

Beleid	Instelling
Wachtwoordgeschiedenis bijhouden	Vijf wachtwoorden onthouden
Vergrendelingsdrempel	Tien ongeldige aanmeldpogingen
Minimum wachtwoordlengte	Tien karakters
Minimale variëteit aan tekens	Drie van elk van de volgende tekens: cijfer, hoofdletter, kleine letter en symbool
Maximaal aantal herhaalde tekens	Drie tekens

Beleid	Instelling
Wachtwoord moet aan complexiteitsvereisten voldoen	Uitgeschakeld
Sla wachtwoorden op met omkeerbare versleuteling	Uitgeschakeld

## Een nieuwe gebruiker toevoegen

1. Log in bij ilmnadmin.
2. Selecteer de aan/uit-knop en open vervolgens het ilmnadmin-vervolgkeuzemenu.
3. Selecteer **Account Settings** (Accountinstellingen).
4. Selecteer **Unlock** (Ontgrendelen) en voer vervolgens het ilmnadmin-wachtwoord in.
5. Selecteer **Add User** (Gebruiker toevoegen).
6. Selecteer het accounttype Standard (Standaard) en voer vervolgens een nieuwe gebruikersnaam in.
7. Selecteer **Set password now** (Wachtwoord nu instellen) en voer vervolgens een wachtwoord in.
8. Selecteer **Add** (Toevoegen).  
De nieuwe gebruiker wordt toegevoegd aan de gebruikerslijst.
9. Geef de gebruiker als volgt toegang tot de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware.
  - a. Open de terminal.
  - b. Voer het volgende in:  

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <nieuwe gebruikersnaam>
```
  - c. Voer het ilmnadmin-wachtwoord in als hierom wordt gevraagd.
10. Om te controleren of de gebruikersrechten met succes zijn ingesteld, doet u het volgende.
  - a. Log in bij het nieuwe gebruikersaccount.
  - b. Navigeer naar de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware.
  - c. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
  - d. Kijk of u onder Default Output Folder (Standaard uitvoermap) het pad van de uitvoermap kunt selecteren en opslaan.  
Als u het pad van de uitvoermap zonder fouten kunt selecteren en opslaan, zijn de rechten succesvol ingesteld.

## Wachtwoord opnieuw instellen

In deze sectie wordt behandeld hoe u het ilmnuser-, ilmnadmin- of root-wachtwoord opnieuw kunt instellen. Wachtwoordherstel is niet beschikbaar. Door uw wachtwoord opnieuw in te stellen wordt de blokkering van uw account na te veel mislukte pogingen om het wachtwoord in te voeren, niet opgeheven. U moet 10 minuten wachten voordat u uw wachtwoord opnieuw kunt instellen of kunt

proberen in te loggen.

### ilmnuser-wachtwoord opnieuw instellen

U kunt het ilmuser-wachtwoord opnieuw instellen als u het ilmadmin- of root-wachtwoord kent.

1. Log in bij ilmadmin.
2. Open de terminal.
3. Voer `sudo passwd ilmuser` in.
4. Voer het ilmadmin-wachtwoord in als hierom wordt gevraagd.
5. Voer een nieuw ilmuser-wachtwoord in als hierom wordt gevraagd.
6. Typ het nieuwe ilmuser-wachtwoord opnieuw als hierom wordt gevraagd om het nieuwe wachtwoord te bevestigen.

### ilmadmin-wachtwoord opnieuw instellen

U kunt het ilmadmin-wachtwoord opnieuw instellen als u het root-wachtwoord kent.

1. Log in bij root.
2. Open de terminal.
3. Voer `passwd ilmadmin` in om het ilmadmin-wachtwoord te wijzigen of voer `passwd ilmuser` in om het ilmuser-wachtwoord te wijzigen.
4. Voer het nieuwe wachtwoord in als hierom wordt gevraagd.
5. Typ het nieuwe wachtwoord opnieuw als hierom wordt gevraagd om het nieuwe wachtwoord te bevestigen.

### Root-wachtwoord opnieuw instellen

Stel het root-wachtwoord op een van de volgende manieren opnieuw in:

- Als u het wachtwoord kent van het moment waarop het laatste OS-beeld werd vastgelegd, herstelt u naar dat opgeslagen beeld.
- Als u het wachtwoord niet meer weet, neemt u contact op met de technische ondersteuning van Illumina.

## BaseSpace Sequence Hub en Proactive Support configureren

Ga als volgt te werk om de BaseSpace sequentie-hub en Proactieve ondersteuning op uw systeem te configureren. Raadpleeg voor het instellen van een BaseSpace sequentie-hub-account de [online help voor de BaseSpace sequentie-hub](#).

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Instellingen**.

2. Selecteer voor de instellingen van de BaseSpace sequentie-hub en de Proactieve ondersteuning een van de volgende opties:

Optie	Beschrijving en vereisten
<b>Alleen Proactieve ondersteuning*</b>	Stuur prestatiegegevens instrument naar Illumina voor een snellere probleemoplossing. Dit vereist een internetverbinding.
<b>Proactive and Run Monitoring</b>	Verzend InterOp- en logbestanden naar BaseSpace sequentie-hub voor externe runmonitoring. Deze optie is standaard. Hiervoor zijn een BaseSpace sequentie-hub-account en een internetverbinding vereist.
<b>Proactive, Run Monitoring and Storage</b>	- Verzendt InterOp-bestanden, logbestanden en rungegevens naar BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) voor externe monitoring en analyse. Hiervoor is een BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub)-account, een internetverbinding en een voorbeeldblad vereist.
<b>None</b>	Ontkoppel runs van BaseSpace sequentie-hub-accounts en verzend geen instrumentprestatiegegevens voor Illumina Proactive-ondersteuning.

\* Afhankelijk van de versie van de besturingssoftware kan de naam van deze instelling op de software-interface verschillen van de naam in deze handleiding.

Wanneer een van deze opties is geselecteerd, is Proactive-ondersteuning ingeschakeld. Voor None (Geen) geldt dit niet. Dit is een gratis service waarmee u uw prestatiegegevens kunt zien op het MyIllumina Customer Dashboard (MyIllumina-klantendashboard) en de serviceteams van Illumina kunnen zorgen voor een snellere probleemoplossing.

**i** | Proactive and Run Monitoring is standaard ingeschakeld. Om deze service uit te schakelen, kiest u **None** (Geen).

3. Selecteer **Save** (Opslaan) om de configuratie te voltooien als u in stap 2 de optie None (Geen) heeft geselecteerd. Ga verder tot en met stap 6 als dat niet het geval is.
4. Selecteer in de hostinglocatielijst de locatie van de BaseSpace sequentie-hub-server waarnaar gegevens worden geüpload.  
Zorg ervoor dat u de hostinglocatie in of zo dicht mogelijk bij uw regio gebruikt.
5. Als u over een Enterprise-abonnement beschikt, voert u de domeinnaam (URL) in die wordt gebruikt voor uw BaseSpace sequentie-hub-account.  
Bijvoorbeeld: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
6. Selecteer **Save** (Opslaan).

## De standaardlocatie van de uitvoermap opgeven

Selecteer aan de hand van de instructies in deze sectie een standaardlocatie van de uitvoermap. De uitvoermap is voor elke run te wijzigen tijdens de runinstelling. De software slaat cBCL-bestanden<sup>1</sup> en andere rungegevens op in de uitvoermap.

Er is een uitvoermap vereist tenzij BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) is geconfigureerd voor Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag). Gebruik alleen een externe schijf of netwerkschijf als de standaarduitvoermap. Het gebruik van een uitvoermap op het instrument heeft een negatief effect op uw sequencing-run.

### Een externe schijf als uitvoermap opgeven

Ga als volgt te werk om een externe draagbare schijf te selecteren als de standaarduitvoermap. Het wordt aanbevolen een schijf met eigen voeding die is geformatteerd naar NFTS of GPT/EXTA te gebruiken.

1. Sluit een externe draagbare schijf aan via de USB 3.0-poort aan de zij- of achterkant van het instrument.  
Controleer of de externe draagbare schijf schrijfrechten heeft. Als deze is ingesteld op Read Only (Alleen lezen), kan de besturingssoftware er geen gegevens in opslaan.
2. Maak een nieuwe map aan op de externe draagbare schijf. Deze map wordt de standaardlocatie van de uitvoermap.  
De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware heeft ten minste twee niveaus van geneste mappen nodig om de locatie te herkennen als een externe draagbare schijf.
3. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
4. Onder Default Output Folder (Standaard uitvoermap) selecteert u het bestaande mappad en navigeert u naar de nieuwe map op de externe draagbare schijf.
5. **[Optioneel]** Als u onder Run Mode (Runmodus) **Online Run Setup** (Online runinstelling) heeft geselecteerd, selecteert u een optie uit het vervolgkeuzemenu Hosting Location (Hostinglocatie).
6. Selecteer **Save** (Opslaan).

### Een netwerkstation als standaarduitvoermap opgeven

Ga als volgt te werk om een permanent netwerkstation te koppelen en de standaarduitvoermaplocatie te specificeren. Server Message Block (SMB)/Common Internet File Systems (CIFS) en Network File System (NFS) zijn de enige ondersteunde methoden voor het permanent koppelen van een netwerkstation op de NextSeq 1000/2000.

---

<sup>1</sup>Bevat de basisbepaling en de gekoppelde kwaliteitsscore voor elk cluster van elke sequencingcyclus.

## Koppelingsinstructies voor SMB/CIFS

1. Als de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware open is, selecteer dan **Minimize Application** (Toepassing minimaliseren).
2. Log in bij ilmnadmin.
3. Selecteer **Applications** (Toepassingen).
4. Selecteer onder Favorites (Favorieten) **Terminal** (Terminal).
5. Voer in: `sudo touch /root/.smbcreds` en selecteer dan **Enter** (Invoeren).
6. Voer het ilmnadmin-wachtwoord in als hierom wordt gevraagd.  
Telkens wanneer u een `sudo`-opdrachtregel gebruikt, is het ilmnadmin-wachtwoord vereist.
7. Voer in: `sudo gedit /root/.smbcreds` en selecteer dan **Enter** (Invoeren) om een tekstbestand te openen met de naam `smbcreds`.
8. Als het `.smbcreds`-tekstbestand wordt geopend, voer dan uw netwerkinloggegevens in in de volgende indeling.  

```
gebruikersnaam=<user name>
wachtwoord=<password>
domein=<domain_name>
```

Voor gebruikersnaam-, wachtwoord- en domeingegevens zijn geen haakjes nodig.  
Domeingegevens zijn alleen nodig als het externe account deel uitmaakt van een domein.
9. Selecteer **Save** (Opslaan) en sluit het bestand af.
10. Identificeer de servernaam en de sharenaam voor uw SMB/CIFS-server.  
De servernaam en de sharenaam mogen geen spaties bevatten, bijvoorbeeld:  
Servernaam: `192.168.500.100` of `Myserver-myinstitute-03`  
Sharenaam: `/share1`
11. Voer in de terminal in: `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` en selecteer dan **Enter** (Invoeren) om leestoegang te verlenen tot het `.smbcreds`-tekstbestand.
12. Voer in: `sudo mkdir /mnt/<local name>`.  
`<local name>` is de naam van de nieuwe directory in uw netwerkstation en kan spaties bevatten.  
Dit is de directory die op het instrument zal verschijnen.
13. Selecteer **Enter** (Invoeren).
14. Voer in: `sudo gedit /etc/fstab` en selecteer dan **Enter** (Invoeren).
15. Als het `fstab`-bestand wordt geopend, voert u aan het einde van het bestand het volgende in en vervolgens selecteert u **Enter** (Invoeren).  

```
//<Server name>/<Share name> /mnt/<local name> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
```
16. Selecteer **Save** (Opslaan) en sluit het bestand af.



17. Voer in de terminal in: `sudo mount -a -vvv` en selecteer dan **Enter** (Invoeren).  
Het netwerkstation is nu gekoppeld als `/mnt/<local name>`.
18. Om te controleren of het koppelen succesvol was, voert u in: `<df | grep <local name>>` en vervolgens selecteert u **Enter** (Invoeren).  
De naam van de fileshare zou moeten verschijnen.
19. Voer in: `sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>` om een submap aan te maken in de lokale map. De `<output directory>` is uw standaarduitvoermaplocatie.  
De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware heeft ten minste twee niveaus van geneste mappen nodig om de locatie te herkennen als een gekoppeld netwerkstation.
20. Schakel het instrument uit en weer in. Zie [Het instrument uit- en weer inschakelen op pagina 86](#).
21. Stel het permanent gekoppelde netwerkstation in als de standaarduitvoermap. Zie [Het permanente netwerkstation specificeren als de standaarduitvoermap op pagina 18](#).

## Koppelingsinstructies voor NFS

1. Als de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware open is, selecteer dan **Minimize Application** (Toepassing minimaliseren).
2. Log in bij ilmnadmin.
3. Identificeer de servernaam voor uw NFS-server.  
De servernaam mag geen spaties bevatten, bijvoorbeeld:  
Servernaam: `192.168.500.100 of Myserver-myinstitute-03`
4. Selecteer **Applications** (Toepassingen).
5. Selecteer onder Favorites (Favorieten) **Terminal** (Terminal).
6. Voer in: `sudo mkdir /mnt/<local name>` en selecteer vervolgens **Enter** (Invoeren)  
`<local name>` is de naam van de nieuwe directory in uw netwerkstation.
7. Voer in: `sudo gedit /etc/fstab` en selecteer dan **Enter** (Invoeren).
8. Als het fstab-bestand wordt geopend, voert u het volgende in en vervolgens selecteert u **Enter** (Invoeren).  

```
Server name://share //mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0
```
9. Selecteer **Save** (Opslaan) en sluit het bestand af.
10. Voer in de terminal in: `sudo mount -a -vvv` en selecteer dan **Enter** (Invoeren).  
Het netwerkstation is nu gekoppeld in de `/mnt/directory` in de map `<local name>`.
11. Maak een nieuwe `<sub folder>` aan in de map `<local name>`. De submap is uw standaarduitvoermaplocatie.  
De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware heeft ten minste twee niveaus van geneste mappen nodig om de locatie te herkennen als een gekoppeld netwerkstation.
12. Schakel het instrument uit en weer in. Zie [Het instrument uit- en weer inschakelen op pagina 86](#).

13. Stel het permanent gekoppelde netwerkstation in als de standaarduitvoermap. Zie [Het permanente netwerkstation specificeren als de standaarduitvoermap op pagina 18](#).

## Het permanente netwerkstation specificeren als de standaarduitvoermap

1. Log in bij ilmuser.
2. Selecteer in het NextSeq 1000/2000-besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
3. Selecteer onder Default Output Folder (standaarduitvoermap) de permanente netwerkstationkoppeling die de locatie `/mnt/<local name>/<output directory>` heeft.
4. **[Optioneel]** Als u onder Run Mode (Runmodus) **Online Run Setup** (Online runinstelling) heeft geselecteerd, selecteert u een optie uit het vervolgkeuzemenu Hosting Location (Hostinglocatie).
5. Selecteer **Save** (Opslaan).

## Aangepaste referentiegenomen importeren

Nieuwe aangepaste referentiegenomen kunnen alleen met het beheerdersaccount worden geïmporteerd. Raadpleeg voor een lijst van alle compatibele referentiegenomen de pagina NextSeq 1000/2000 Product Compatibility (-productcompatibiliteit).

1. Maak een referentiegenoom aan met de app Reference Builder for Illumina Instruments BaseSpace Sequence Hub (Referentiebouwer voor BaseSpace sequentie-hub van Illumina Instruments). Zie voor meer informatie de *Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help* (Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0).
2. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **Process Management** (Procesbeheer).
3. Controleer of er geen sequencing-runs of secundaire analyses op het instrument bezig zijn.
4. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Minimize Application** (toepassing minimaliseren).
5. Log in bij ilmnadmin.
6. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **DRAGEN**.
7. Selecteer in de sectie Genome (Genoom) **View Installed Genomes** (Geïnstalleerde genomen weergeven) om een lijst weer te geven van alle momenteel geïnstalleerde Illumina-genomen en aangepaste genomen.
8. Sluit het modale venster.
9. Selecteer onder Import New Reference Genomes (Nieuwe referentiegenomen importeren) **Choose** (Kiezen), navigeer naar het referentiegenoombestand (\*.tar.gz) op de draagbaar of gekoppeld netwerkstation en selecteer vervolgens **Open** (Openen).
10. Selecteer **Import** (Importeren).

## Ruisbasislijnbestanden importeren

Als u de DRAGEN Enrichment workflow (DRAGEN-Verrijking-workflow) in de somatische modus gebruikt, kunt u een ruisbasislijnbestand gebruiken voor het wegfilteren van sequencing- of systematische ruis. U kunt standaard aangepaste ruisbestanden downloaden van de [Illumina Support Site](#) (Illumina-ondersteuningssite) of een aangepast ruisbasislijnbestand aanmaken.

### Een aangepast ruisbasislijnbestand genereren

In de somatische modus kunt u een aangepast ruisbasislijnbestand genereren. Het ruisbasislijnbestand wordt opgebouwd uit normale monsters die niet matchen met de persoon van wie de monsters afkomstig zijn. Het aanbevolen aantal normale monsters is 50.

Maak op een van de volgende manieren een aangepast ruisbasislijnbestand:

- Met behulp van de DRAGEN Bio-IT Platform-server. Zie voor instructies de *DRAGEN Bio-IT Platform Online Help*.
- Met behulp van de DRAGEN Baseline Builder App (DRAGEN-basislijnbouwer-app) op de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) Genereer FASTQ-bestanden met behulp van de BCL Convert (BCL-conversie)-pijplijn in Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) van de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). Nadat de sequencing-run is voltooid en er 50 monsters beschikbaar zijn, voert u de FASTQ-bestanden in in de DRAGEN Baseline Builder App (DRAGEN-basislijnbouwer-app).

### Basislijnbestanden importeren via de gebruikersinterface

Na het importeren van het basislijnbestand kunt u uw sequencing-run instellen met behulp van de DRAGEN Enrichment workflow (DRAGEN-Verrijking-workflow) in de somatische modus.

1. Download een standaard basislijnbestand van de [Illumina Support Site](#) (Illumina-ondersteuningssite) of download het aangepaste basislijnbestand van de DRAGEN-server of de DRAGEN Baseline Builder App (DRAGEN-basislijnbouwer-app).
2. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Minimize Application** (toepassing minimaliseren).
3. Log in bij ilmnadmin.
4. Selecteer **Applications** (Toepassingen) en selecteer vervolgens **Favorites** (Favorieten).
5. Selecteer **+Other Locations** (+Andere locaties) en selecteer vervolgens **Computer**.
6. Dubbelklik **usr** en vervolgens **local** (lokaal).
7. Dubbelklik **illumina** en vervolgens **aux\_files**.
8. Sleep het ruisbasisbestand naar **aux\_files**.

## Basislijnbestanden importeren via de terminal

Na het importeren van het basislijnbestand kunt u uw sequencing-run instellen met behulp van de DRAGEN Enrichment workflow (DRAGEN-Verrijking-workflow) in de somatische modus.

1. Download een standaard basislijnbestand van de [Illumina Support Site](#) (Illumina-ondersteuningssite) of download het aangepaste basislijnbestand van de DRAGEN-server of de DRAGEN Baseline Builder App (DRAGEN-basislijnbouwer-app).
2. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Minimize Application** (toepassing minimaliseren).
3. Log in bij ilmnadmin.
4. Selecteer **Applications** (Toepassingen).
5. Selecteer onder Favorites (Favorieten) **Terminal** (Terminal).
6. Voer de volgende opdrachtregel in.

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

## Runmodus configureren

De runmodus is van toepassing op alle runs en bepaalt waar de runparameters worden ingevoerd en hoe de gegevens worden geanalyseerd:

### Cloud- of Hybride-modus

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Selecteer **Online Run Setup** (Online runinstelling) onder BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support (BaseSpace sequentie-hub service & Proactive-ondersteuning).
3. Configureer de aanvullende instellingen zoals u wenst door het volgende te selecteren:
  - a. **Proactive and Run Monitoring** (Proactive en runmonitoring) of **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, runmonitoring en opslag).
  - b. Vervolgkeuzemenu voor **Hosting Location** (hostinglocatie).
  - c. **[Optioneel]** Geef een **Private Domain Name** (Privédomeinnaam) op.
4. Selecteer **Save** (Opslaan).

### Lokale of Standalone-modus

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Selecteer **Local Run Setup** (Lokale runinstelling) onder BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support (BaseSpace sequentie-hub service & Proactive-ondersteuning).
3. Configureer de aanvullende instellingen zoals u wenst door het volgende te selecteren:
  - a. **Proactive Support Only** (Alleen Proactive-ondersteuning), **Proactive and Run Monitoring** (Proactive en runmonitoring), **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, runmonitoring en opslag) of **None** (Geen).



BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) zal een functionaliteit alleen opnieuw uitvoeren als **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, runmonitoring en opslag) is geselecteerd. In geval van een ongeldig monsterblad kunt u dan correcties aanbrengen op het monsterblad en de demultiplexinganalyse opnieuw uitvoeren. Zie [Een run opnieuw uitvoeren op pagina 86](#) als u een run op het instrument wilt herhalen.

- b. Vervolgkeuzemenu voor **Hosting Location** (hostinglocatie).
  - c. **[Optioneel]** Geef een **Private Domain Name** (Privédomeinnaam) op.
4. Selecteer **Save** (Opslaan).

## Overwegingen ten aanzien van het monsterblad voor lokale of standalone-modus

Voor een analyse met DRAGEN gebruikt u de monsterblad in v2-bestandsindeling. De monsterblad in v2-bestandsindeling is ook compatibel met BaseSpace sequentie-hubapps waar DRAGEN niet is ingeschakeld. Voor informatie over het aanmaken van een monsterblad in de v2-bestandsindeling, zie [Monsterblad v2-instellingen op pagina 90](#).

## Instrumentaanpassing

In deze sectie staat informatie over het configureren van de beschikbare aanpassingsinstellingen. Raadpleeg voor het instellen van een standaarduitvoermap [De standaardlocatie van de uitvoermap opgeven op pagina 15](#).

### Het instrument benoemen

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Selecteer Instrument Nickname (Bijnaam instrument) en voer een voorkeursnaam voor het instrument in.  
Deze naam wordt dan boven aan elk scherm weergegeven.
3. Selecteer **Save** (Opslaan).

### Voorkeuren instellen voor denatureren en verdunnen

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Kies of bibliotheken automatisch moeten worden gedensureerd en verdund in het instrument. De standaardinstelling is de optie die u voor de vorige run heeft gekozen.
  - Als u bibliotheken handmatig in het instrument wilt denatureren en verdunnen, selecteert u het selectievakje **Denature and Dilute On Board** (Intern denatureren en verdunnen).
  - Als u bibliotheken handmatig wilt denatureren en verdunnen, deselecteert u het selectievakje **Denature and Dilute On Board** (Intern denatureren en verdunnen).

Raadpleeg de *Handleiding Denatureren en verdunnen van bibliotheken voor NextSeq 1000 en 2000* (documentnr. 1000000139235) voor instructies over het handmatig denatureren en verdunnen van bibliotheken.

## Voorkeur voor automatische reagensspoeling instellen

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Kies of het systeem na elke run automatisch ongebruikte reagentia naar het compartiment voor gebruikte reagentia moet spoelen om de afvoer van reagensafval na runs te stroomlijnen:
  - Om automatisch te spoelen, vinkt u het selectievakje **Purge Reagent Cartridge** (Reagenscartridge spoelen) aan.
  - Om automatisch spoelen over te slaan, vinkt u het selectievakje **Purge Reagent Cartridge** (Reagenscartridge spoelen) uit (dit is de standaardinstelling).Door het spoelen van ongebruikte reagentia duurt de workflow tot 2 uur langer.
3. Selecteer **Save** (Opslaan).

## Software-updates configureren

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Bepaal of het systeem al dan niet automatisch moet controleren op software-updates.
  - Voor automatisch controleren selecteert u het selectievakje **Autocheck for software updates** (Autom. controleren op software-updates).
  - Voor handmatig controleren deselecteert u het selectievakje **Autocheck for software updates** (Autom. controleren op software-updates).Voor het regelmatig controleren op software-updates is een internetverbinding nodig. Zie [Software-updates op pagina 79](#) voor meer informatie over het installeren van software-updates.
3. Selecteer **Save** (Opslaan).

## Helderheid lcd wijzigen

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Stel de regelaar voor de helderheid van het lcd in op het gewenste percentage.
3. Selecteer **Save** (Opslaan).

## Een proxyserver instellen

Proxyserverondersteuning is alleen beschikbaar in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3.

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Settings** (Instellingen).
2. Selecteer de huidige proxy-instellingen om het scherm Proxy Settings (Proxy-instellingen) te openen.

3. Vink het selectievakje **Enable Proxy** Proxy inschakelen aan en voer vervolgens het IP-poortadres van de server in.
4. **[Optioneel]** Als voor de proxyserver verificatie vereist is, vink dan het selectievakje **Requires Username and Password** (Gebruikersnaam en wachtwoord vereist) aan en voer de gebruikersnaam en het wachtwoord in.
5. Selecteer **Save** (Opslaan) om de proxy-informatie op te slaan en te valideren.
6. Selecteer een van de volgende opties:
  - Selecteer **Yes, I'm Finished** (Ja, ik ben klaar) om het systeem opnieuw op te starten en de nieuwe proxy-instellingen toe te passen.
  - Selecteer **No, Take Me Back** (Nee, ga terug) om terug te keren naar het scherm Settings (Instellingen). De nieuwe proxy-instellingen worden opgeslagen, maar worden pas toegepast als u het systeem opnieuw opstart.

# Verbruiksartikelen en apparatuur

Deze sectie behandelt alle in de reagenskit meegeleverde componenten en hun opslagcondities. U kunt ook zien welke aanvullende verbruiksartikelen en apparatuur u moet aanschaffen voor het voltooien van het protocol en het uitvoeren van de onderhouds- en probleemoplossingsprocedures.


## Verbruiksartikelen voor sequencing

Voor het uitvoeren van sequencing met de NextSeq 1000/2000 is één Illumina NextSeq 1000/2000 P2-reagenskit voor eenmalig gebruik of één Illumina NextSeq 1000/2000 P3-reagenskit nodig. De NextSeq 1000/2000 P2-reagenskit is verkrijgbaar in drie maten (100-cycli, 200-cycli, 300-cycli) en de NextSeq 1000/2000 P3-reagenskit is verkrijgbaar in vier maten (50-cycli, 100-cycli, 200-cycli, 300-cycli).

Het NextSeq 1000-sequencingssysteem is alleen compatibel met de Illumina NextSeq 1000/2000 P2-reagenskit.

De reagenskit bevat de cartridge en de stroomcel voor sequencing. De instructies bij ontvangst van de NextSeq 1000/2000 P2-reagenskit of de Illumina NextSeq 1000/2000 P3-reagenskit zijn:

- Bewaar de onderdelen direct bij de aangegeven temperatuur voor een goede werking.
- Maak geen zilverfoliezakken open tot u dat volgens de instructies moet doen.
- Bewaar de cartridges in hun doos om te voorkomen dat de foliezak scheurt of geperforeerd wordt.
- Bewaar de cartridges met de pijlen naar boven.

 Als het etiket op de cartridge niet naar boven is gericht, heeft dit een negatief effect op de sequencinggegevens.

Tabel 2 Kitonderdelen

Verbruiksartikel	Aantal	Opslagtemperatuur	Afmetingen
Cartridge	1	-25 °C tot -15 °C	29,2 cm × 17,8 cm × 12,7 cm (11,5 in × 7 in × 5 in)
Stroomcel	1	2 °C tot 8 °C*	21,6 cm × 12,7 cm × 1,9 cm (8,5 in × 5 in × 0,75 in)
RSB met Tween 20	1	-25 °C tot -15 °C	4 cm × 6,6 cm × 5 cm (1,6 in × 2,6 in × 2 in)

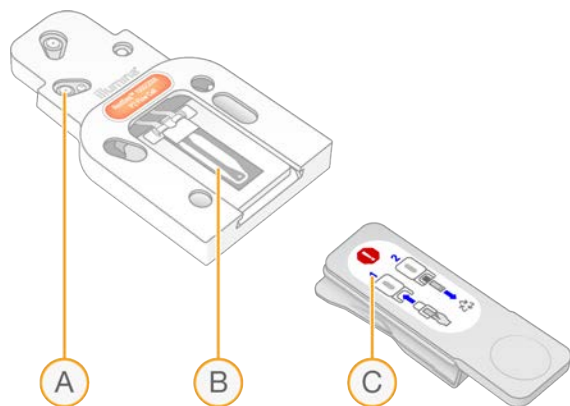
\*Verzonden bij kamertemperatuur.



Beide verbruiksartikelen zijn voorzien van een identicator ten behoeve van tracering en controle op compatibiliteit. De cartridge en de stroomcel maken gebruik van RFID<sup>1</sup>.

## Stroomcel

De stroomcel is een stroomcel met patroon en een enkele baan. De glazen stroomcel zit in een plastic cartridge. Een grijze lip bedekt de stroomcel en steekt eruit voor een veilige hantering.



- A. Plastic cartridge
- B. Stroomcel
- C. Grijze lip

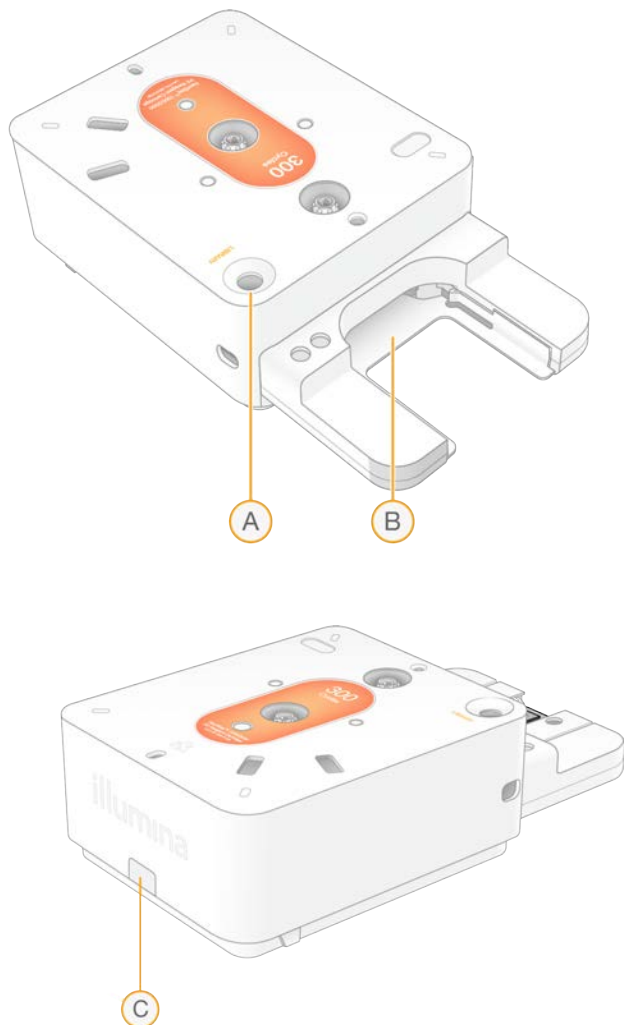
Het binnenoppervlak van de stroomcel is bedekt met miljoenen nanowells. Clusters worden in de nanowells gegenereerd vanwaaruit de sequencingreactie wordt uitgevoerd. De rangschikking van de nanowells in een patroon vergroot de hoeveelheid uitgevoerde bepalingen en gegevens.

---

<sup>1</sup>identificatie radiofrequentie

## Cartridge

De sequencingreagenscartridge is voorgevuld met clustering-, sequencing-, paired-end- en indexeringsreagentia. Een met folie afgesloten reservoir is bestemd voor bibliotheken en een opening aan de voorzijde is bestemd voor de stroomcel.



- A. Bibliotheekreservoir
- B. Stroomcelopening
- C. Aftapplug

De cartridge bevat alle verbruiksartikelen voor een run: reagentia, bibliotheek en stroomcel. De bibliotheek en de stroomcel worden in de ontdoode cartridge geladen. Deze wordt vervolgens op het instrument geladen. Zodra de run start, worden reagentia en bibliotheken automatisch vanuit de cartridge naar de stroomcel gestuurd.

De cartridge bevat pompen, kleppen en alle vloeistoffen voor het systeem, waaronder een reservoir aan de onderkant om gebruikte reagentia op te vangen. Omdat de cartridge na de run wordt afgevoerd, hoeven de instrumenten niet te worden gewassen.


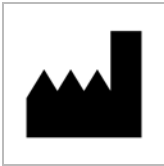


## Ondersteund aantal cycli




Het etiket op de cartridge geeft aan hoeveel cycli zijn geanalyseerd, niet hoeveel cycli er zijn uitgevoerd. De stroomcel is compatibel met elk aantal cycli en elk type bepaling.

Alle 100-cycli- en 200-cycli-cartridges omvatten 38 extra cycli. De 300-cycli-cartridge omvat 27 extra cycli. De 300-cycli-cartridge bevat bijvoorbeeld voldoende reagentia voor maximaal 327 sequencingcycli. Zie [Aantal cycli in een bepaling op pagina 32](#) voor informatie over het aantal cycli voor sequencing.

## Omschrijving van de symbolen

In de volgende tabel worden de symbolen beschreven die op het verbruiksartikel of de verpakking van het verbruiksartikel staan.

Symbool	Omschrijving
	De datum waarop het verbruiksartikel vervalst. Voor het beste resultaat moet het verbruiksartikel vóór deze datum worden gebruikt.
	Geeft de fabrikant aan (Illumina).
	De beoogde toepassing is Research Use Only (RUO, alleen voor onderzoeksdoeleinden).
	Verwijst naar het onderdeelnummer, zodat het verbruiksartikel kan worden geïdentificeerd. <sup>1</sup>

Symbol	Omschrijving
	Verwijst naar de batchcode waarmee de batch of lot wordt aangeduid waarbinnen het verbruiksartikel werd geproduceerd. <sup>1</sup>
	Verwijst naar een gevaar voor de gezondheid.
	Bereik opslagtemperatuur in graden Celsius. Bewaar het verbruiksartikel binnen het aangegeven temperatuurbereik. <sup>2</sup>

## Aanvullende verbruiksartikelen

Schaf de volgende verbruiksartikelen voor sequencing en onderhoud aan.

### Verbruiksartikelen voor sequencing

Tabel 3 Verbruiksartikelen voor sequencing

Verbruiksartikel	Leverancier	Doel
Wegwerphandschoenen, poedervrij	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Algemeen gebruik.
NextSeq 1000/2000 P2 (v3)-reagenskit	Illumina: catalogusnr. 20046811 (100 cycli) catalogusnr. 20046812 (200 cycli) catalogusnr. 20046813 (300 cycli)	Biedt de reagenscartridge, stroomcel en de NextSeq 1000/2000 RSB met Tween 20 voor een enkele run. Compatibel met NextSeq 1000 en NextSeq 2000.

Verbruiksartikel	Leverancier	Doel
NextSeq 2000 P3-reagenskit	Illumina: catalogusnr. 20046810 (50 cycli) catalogusnr. 20040559 (100 cycli) catalogusnr. 20040560 (200 cycli) catalogusnr. 20040561 (300 cycli)	Biedt de reagenscartridge, stroomcel en de NextSeq 1000/2000 RSB met Tween 20 voor een enkele run. Alleen compatibel met de NextSeq 2000.
Microbuisjes, 1,5 ml	Fisher Scientific, catalogusnr. 14-222-158 of gelijkwaardige buisjes met lage retentie	Verdunnen van bibliotheken tot de ladingsconcentratie.
Pipettips, 10 µl	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Verdunnen van bibliotheken.
Pipettips, 20 µl	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Verdunnen en laden van bibliotheken.
Pipettips, 200 µl	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Verdunnen van bibliotheken.
Pipettips, 1000 µl	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Doorprikken van de folie van het bibliotheekreservoir.
[Optioneel] PhiX Control v3	Illumina, catalogusnr. FC-110-3001	Uitvoeren van een run van alleen PhiX of verrijking in een PhiX-controle.
[Optioneel] papieren doekjes	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Drogen van de cartridge na een waterbad.

## Verbruiksartikelen voor onderhoud

Tabel 4 Verbruiksartikelen voor onderhoud

Verbruiksartikel	Leverancier	Doel
Wegwerphandschoenen, poedervrij	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Algemeen gebruik.
Vervangend luchtfilter NextSeq 1000/2000*	Illumina, catalogusnr. 20029759	Vervangen van het luchtfilter om de zes maanden.

\* Instrument wordt geleverd met één geïnstalleerd en één als reserve. Wanneer de garantie is verlopen, moeten vervangende onderdelen door de gebruiker worden geleverd. Bewaar het product in de verpakking totdat het wordt gebruikt.

## Aanvullende apparatuur

Schaf in verband met de sequencing de volgende apparatuur aan.

Artikel	Bron	Doel
Vriezer, -25 °C tot -15 °C	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Opslaan van de cartridge.
IJsemmer	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Opzij zetten van bibliotheken tot sequencing.
Pipet, 10 µl	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Verdunnen van bibliotheken tot de ladingsconcentratie.
Pipet, 20 µl	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Verdunnen van bibliotheken tot de ladingsconcentratie en het laden van bibliotheken in de cartridge.
Pipet, 200 µl	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Verdunnen van bibliotheken tot de ladingsconcentratie.
Koelkast, 2 °C tot 8 °C	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Opslaan van de stroomcel of ontthooien van de cartridge.
[Optioneel] Een van de volgende waterbaden met temperatuurregeling of een gelijkwaardig type bad dat op 25 °C kan worden gehouden:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thermo Fisher Scientific, catalogusnr. TSCIR 35</li> <li>• Shel Lab, catalogusnr. SWBC22</li> </ul>	Ontthooien van de cartridge.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thermo Scientific Precision circulerend waterbad van 35 liter (voor 5 cartridges tegelijk)</li> <li>• SHEL LAB digitaal circulerend waterbad van 22 liter (voor 3 cartridges tegelijk)</li> </ul>		

# Protocol

Deze sectie bevat stapsgewijze instructies voor het voorbereiden van verbruiksartikelen, het verdunnen van bibliotheken en het instellen van een sequencing-run in een van de vier run-modi (Cloud, Hybrid en Local werken onder DRAGEN of BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub), terwijl de Standalone mode (standalone-modus) een standalone-run is, bedoeld voor het genereren van cBCL-gegevens die alleen voor aangepaste analyseworkflows worden gebruikt).

Wanneer reagentia en andere chemicaliën worden gehanteerd, moeten een veiligheidsbril, een labjas en poedervrije handschoenen worden gedragen.

Zorg dat de benodigde verbruiksartikelen en apparatuur voorhanden zijn alvorens een protocol te starten. Zie [Verbruiksartikelen en apparatuur op pagina 24](#)

Volg de protocollen in de aangegeven volgorde met de genoemde volumes, temperaturen en duur.

## Overwegingen met betrekking tot sequencing

Bestudeer voordat u met het protocol begint de volgende informatie om u voor te bereiden op het verdunnen van de bibliotheken en het instellen van de run. Het verkrijgen van de optimale laadconcentratie is van cruciaal belang om de sequencing en analyse met succes uit te voeren. Het invoeren van het juiste aantal cycli in een bepaling draagt bij aan een optimale gegevensuitvoer.

### Laadvolume en -concentraties

Het laadvolume is 20 µl. De laadconcentratie varieert per bibliotheektype:

Bibliotheektype	Laadconcentratie (pM)
AmpliSeq™ voor Illumina-bibliotheek PLUS	750
Illumina DNA-Prep	750
Illumina DNA-Prep met Verrijking	1000
Illumina strengspecifiek totaal RNA met Ribo-Zero Plus	750
Illumina strengspecifiek mRNA Prep	750
Illumina DNA PCR-vrij	1000
100% PhiX	650
TruSeq DNA Nano 350	1200
TruSeq DNA Nano 550	1500
TruSeq strengspecifiek mRNA	1000

Voor andere bibliotheektypes is de aanbevolen aanvangslaadconcentratie 650 pM. Optimaliseer deze concentratie in opvolgende runs om te bepalen welke laadconcentratie consistent resulteert in gegevens die voldoen aan de specificaties.

**i** | Gebruik voor het optimaliseren van de laadconcentratie de meting Loading Concentration (Laadconcentratie, in %) in het uitvoerbestand `PrimaryAnalysisMetrics.csv`, dat beschikbaar is nadat de run is voltooid. Als de laadconcentratie < 95% is, verhoogt u in volgende runs de laadconcentratie in stappen van 100 pM.

## Aantal cycli in een bepaling

Voor elke bepaling geldt dat het invoeren van minimaal 26 cycli en maximaal 151 cycli bijdraagt aan een goede gegevenskwaliteit. Het exacte aantal cycli is afhankelijk van uw experiment. De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware vereist ten minste 1 cyclus voor Read 1 (Bepaling 1), maar geeft een waarschuwing weer wanneer het aantal cycli in Read 1 (Bepaling 1) minder dan 26 bedraagt.

Het totale aantal cycli voor Read 1 (Bepaling 1), Index 1, Index 2 en Read 2 (Bepaling 2) mag niet groter zijn dan het aantal door de kit ondersteunde cycli plus 38 cycli voor kits met 100 en 200 cycli en 27 cycli voor P3-kits met 300 cycli. De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware geeft een waarschuwing weer wanneer Index 1 en Index 2 minder dan 6 cycli zijn. De waarschuwing wordt niet gegeven als Index 1 of Index 2 0 cycli is.

Het minimum- en maximaal aantal cycli omvat een extra cyclus. Voeg altijd één cyclus toe aan de gewenste bepaling lengte als correctie voor de effecten van fasering en prefasering. De bepaling lengte is het aantal **sequencing** cycli in veld Read 1 (Bepaling 1) en Read 2 (Bepaling 2), met uitzondering van extra cycli en indexcycli. Raadpleeg voor meer informatie Faseringcorrectie in [Workflow Real-Time Analysis op pagina 59](#).

Voorbeeld runinstelling:

- Voer voor een bepaling lengte van 35 (enkele bepaling) **36** in het veld Read 1 (Bepaling 1) in.
- Voer voor een bepaling lengte van 150 per bepaling (paired-end) **151** in het veld Read 1 (Bepaling 1) in en **151** in het veld Read 2 (Bepaling 2) in.

## Een sequencing-run in de BaseSpace sequentie-hub plannen

Maak uw runinstellingen aan en configureer deze met behulp van Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). Als u een run instelt in de Cloud mode (Cloud-modus) of Hybrid mode (Hybride-modus), verzendt u de run-configuratie naar de lijst met geplande runs van uw BaseSpace sequentie-hub-account op het tabblad Planned Runs (Geplande runs). Runs die beschikbaar zijn voor sequencing in de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingsystemen worden weergegeven in het tabblad Planned Runs (Geplande runs). Als u een run in de Local mode (Lokale modus) instelt, gebruik dan Instrument Run Setup (Runinstelling instrument)



om uw monsterblad in v2-bestandsindeling aan te maken en te exporteren. Zie ook [Monsterblad v2-instellingen op pagina 90](#) voor het aanmaken van een monsterblad zonder BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) met behulp van een aangeleverd sjabloon.

BaseSpace Sequence Hub Instrument Run Setup (Runinstelling instrument in BaseSpace sequentie-hub) ondersteunt niet meer dan 1536 monsters.

## Een run instellen

1. Navigeer naar BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).
2. Voer uw e-mailadres en BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub)-wachtwoord in en selecteer vervolgens **Sign In** (Aanmelden).
3. Selecteer het tabblad **Runs** en selecteer vervolgens de vervolgkeuzelijst **New Run** (Nieuwe run).
4. Selecteer **NextSeq 1000/2000**.
5. Voer in het veld Run Name (Runnaam) een unieke naam naar eigen keuze in om de huidige run aan te duiden.

De runnaam kan maximaal 225 alfanumerieke tekens, spaties, streepjes en onderstrepingstekens bevatten.

6. Selecteer een van de volgende analyselocaties.
  - **BaseSpace** — Sequencinggegevens in de cloud analyseren.
  - **Local** (Lokaal) — Sequencinggegevens op het instrument analyseren of een monsterblad v2 voor de modi Local (Lokaal) of Hybrid (Hybride) genereren.
7. Selecteer een analysetype en -versie.

Zie voor meer informatie over secundaire analyses [Uitvoerbestanden DRAGEN-secundaire analyse op pagina 64](#) of de documentatie over de BaseSpace sequentie-hub-app. Als u DRAGEN-enkele cel RNA-analyse heeft gekozen, ga dan naar de pagina NextSeq 1000/2000 Products Files (Productbestanden) voor informatie over de compatibiliteit van enkele cel RNA-bibliotheekvoorbereidingskits van derden.



Voor analyse op het instrument moet de geselecteerde versie overeenkomen met de versie van DRAGEN die op het instrument is geïnstalleerd. Raadpleeg [DRAGEN-workflow- en -licentie-updates op pagina 80](#) om te controleren welke versie van DRAGEN op het instrument is geïnstalleerd.

8. **[Optioneel]** Stel aangepaste indexkits als volgt in.

Bij het gebruik van meer dan één bibliotheek moeten de bibliotheken dezelfde indexbepalingslengten hebben.

  - a. Selecteer **Add Custom Index Adapter Kit** (Aangepaste indexadapterkit toevoegen) in het vervolgkeuzemenu Index Adapter Kit (Indexadapterkit).
  - b. Selecteer een sjabloontype en voer de naam van de kit, de adaptersequenties, de indexstrategieën en de indexsequenties in.

Zorg ervoor dat de tweede index (i5)-adaptersequenties de voorwaartse richting hebben.

- c. Selecteer **Create New Kit** (Nieuwe kit aanmaken).
9. **[Optioneel]** Stel een aangepaste bibliotheekvoorbereidingskit als volgt in.
  - a. Selecteer **Add Custom Library Prep Kit** (Aangepaste bibliotheekvoorbereidingskit toevoegen) in het vervolgkeuzemenu Library Prep Kit (Bibliotheekvoorbereidingskit).
  - b. Voer voor uw aangepaste bibliotheekvoorbereidingskit de naam, bepalingstypen, standaardbepalingscycli en compatibele indexadapterkits in.
  - c. Selecteer **Create New Kit** (Nieuwe kit aanmaken).
10. Selecteer de volgende instrumentinstellingen. Afhankelijk van de bibliotheekvoorbereidingskit worden aanbevolen opties automatisch geselecteerd. Voor sommige bibliotheekvoorbereidingskits is het aantal indexbepalingen en bepalingstypen hard-coded en niet te wijzigen.
  - Bibliotheekvoorbereidingskit
  - Indexadapterkit
  - Aantal indexbepalingen
  - Bepalingstype
  - Aantal sequencingcycli per bepaling

**i** | Als Not Specified (Niet gespecificeerd) is geselecteerd voor de bibliotheekvoorbereidingskit, wordt het aantal indexbepalingen niet bijgewerkt totdat de indexsequenties zijn ingevoerd in de sectie Sample Data (Monstergegevens).
11. Voer op een van de volgende manieren de monsterinformatie in in het spreadsheet Sample Data (Monstergegevens). Om monsters te groeperen voor de samenvoeging van gegevens tijdens downstreamanalyse, kent u aan de groep een naam toe in de kolom Project.
  - Selecteer **Import Data** (Gegevens importeren) en selecteer vervolgens uw monsterblad. Zorg ervoor dat uw monsterblad voldoet aan de indelingsvereisten. Zie [Monsterblad v2-instellingen op pagina 90](#). Wijziging van uw monsterblad nadat het eerst is gedownload, kan ertoe leiden dat de analyse mislukt.
  - Plak monster-ID's en indexplaatputjesposities of i7- en i5-indexen rechtstreeks vanuit een extern bestand. Voer voordat u gaat plakken het aantal monsterrijen in in het veld Rows (Rijen) en selecteer vervolgens **+**. Monster-ID's kunnen maximaal 20 alfanumerieke tekens, verbindingstreepjes en onderstrepingstekens bevatten.

**i** | Voor indexplaten met een vaste layout moet de positie van de putjes worden ingevoerd. Indexen zonder een vaste layout moeten worden ingevoerd voor i7- en i5-indexen. i5-indexen moeten worden ingevoerd in de voorwaartse richting.
  - Voer handmatig monster-ID's en de putjesposities of indexen ervan in. Als Not Specified (Niet gespecificeerd) is geselecteerd voor de bibliotheekvoorbereidingskit, voer dan Index 2 (i5)-sequenties in de voorwaartse richting in.
12. Selecteer **Next** (Volgende).

## Secundaire analyse instellen

Configureer de instellingen voor het analysetype dat voor uw run is geselecteerd. Zie voor meer informatie over DRAGEN-analyseworkflows de sectie [Uitvoerbestanden DRAGEN-secundaire analyse op pagina 64](#).

### Illumina DRAGEN BCL Convert

Voer de volgende stappen uit om de analyse Illumina DRAGEN BCL Convert (Illumina DRAGEN BCL-conversie) te configureren.

1. Voer de volgende optionele instellingen in.

Instelling	Omschrijving
AdapterRead1	Adaptersequentie voor read 1 (bepaling1). Laat bij gebruik van een Illumina-bibliotheekvoorbereidingskit het veld AdapterRead1 leeg.
AdapterRead2	Adaptersequentie voor read 2 (bepaling 2). Laat bij gebruik van een Illumina-bibliotheekvoorbereidingskit het veld AdapterRead2 leeg.
BarcodeMismatchesIndex1	Het aantal toegestane mismatches tussen de eerste indexbepaling en indexsequentie. De standaardwaarde is 1. Als een streepjescode 6 bp is, is de aanbevolen waarde 0.
BarcodeMismatchesIndex2	Het aantal toegestane mismatches tussen de tweede indexbepaling en indexsequentie. De standaardwaarde is 1. Als een streepjescode 6 bp is, is de aanbevolen waarde 0.
OverrideCycles	String om UMI-cycli te specificeren en cycli van een bepaling te maskeren. De volgende waarden zijn toegestaan: <ul style="list-style-type: none"> <li>• N — Duidt te negeren cycli aan.</li> <li>• Y — Duidt sequencingcycli aan.</li> <li>• I — Duidt indexcycli aan.</li> <li>• U — Duidt te trimmen UMI-cycli aan.</li> </ul> Elk element wordt gescheiden door puntkomma's. Invoer van OverrideCycles kan bijvoorbeeld zijn: U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

2. Selecteer of u een kopie van uw FASTQ-bestanden wilt opslaan. FASTQ-bestanden worden alleen gegenereerd als u de optie FASTQ-bestanden bewaren selecteert.
3. Selecteer een van de volgende FASTQ-uitvoerindelingen:
  - **gzip** — De FASTQ-bestanden in gzip-indeling opslaan.
  - **DRAGEN** — De FASTQ-bestanden in ora-indeling opslaan.
4. Voltooi de runconfiguratie.
  - Om de runconfiguratie naar uw BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub)-account te verzenden, selecteert u **Submit Run** (Run verzenden). Runs die zijn verzonden naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) verschijnen in de lijst met geplande runs en zijn beschikbaar voor systemen die in de Cloud mode (Cloud-modus) of Hybrid mode (Hybride modus) werken.
  - Om de runconfiguratie op te slaan als een monsterblad in v2-bestandsindeling, selecteert u **Export Sample Sheet** (Monsterblad exporteren) in de vervolgkeuzelijst **Submit Run** (Run verzenden). Het monsterblad is nodig om runs te starten in systemen die in de Local mode (Lokale modus) werken. Deze optie is alleen beschikbaar als Local (lokaal) is gekozen als analyselocatie.

## Illumina DRAGEN Enrichment

Voer de volgende stappen uit om de analyse Illumina DRAGEN Enrichment (Illumina DRAGEN-Verrijking) te configureren.

1. Selecteer een referentiegenoom.  
Gebruik indien mogelijk een referentiegenoom met alt-aware.
2. Selecteer een \*.bed-bestand met de beoogde doelregio's of upload een nieuw aangepast bestand. Zorg ervoor dat het referentiegenoom van het BED-bestand overeenkomt met het referentiegenoom dat in stap 1 is geselecteerd. Gebruik voor een nieuw aangepast BED-bestand de volgende naamindeling: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
  - **Local mode** (Lokale modus) — Selecteer **Select Custom File (Local)** (Aangepast bestand selecteren (lokaal)) om een upload voor enkele run te doen of **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)) voor herhaald gebruik.
  - **Cloud of Hybrid mode** (Cloud- of Hybride modus) — Selecteer **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)). Het aangepaste BED-bestand is alleen beschikbaar in de Workgroup (werkgroep) waarnaar het werd geüpload.
3. Selecteer de kiemlijn- of de somatische variantbepaler.
4. **[Optioneel]** Selecteer bij gebruik van de somatische variantbepaler een ruisbasislijnbestand. Zie [Ruisbasislijnbestanden importeren op pagina 19](#) (Ruisbasislijnbestanden importeren) voor meer informatie.
5. Selecteer een map-/uitlijn-uitvoerindeling.

6. Selecteer of u een kopie van uw FASTQ-bestanden wilt opslaan. FASTQ-bestanden worden alleen gegenereerd als u de optie FASTQ-bestanden bewaren selecteert.
7. Selecteer een van de volgende FASTQ-uitvoerindelingen:
  - **gzip** — De FASTQ-bestanden in gzip-indeling opslaan.
  - **DRAGEN** — De FASTQ-bestanden in ora-indeling opslaan.
8. Voltooi de runconfiguratie.
  - Om de runconfiguratie naar uw BaseSpace sequentie-hub-account te verzenden, selecteert u **Submit Run** (Run verzenden). Runs die zijn verzonden naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) verschijnen in de lijst met geplande runs en zijn beschikbaar voor systemen die in de Cloud mode (Cloud-modus) of Hybrid mode (Hybride-modus) werken.
  - Om de runconfiguratie op te slaan als een monsterblad in v2-bestandsindeling, selecteert u **Export Sample Sheet** (Monsterblad exporteren) in de vervolgkeuzelijst **Submit Run** (Run verzenden). De monsterblad- en secundaire analyse-hulpbestanden worden gedownload in een \*.zip-map en zijn nodig om runs te starten in systemen die werken in de Local mode (lokale modus). Deze optie is alleen beschikbaar als Local (lokaal) is gekozen als analyselocatie.

## Illumina DRAGEN Germline

Voer de volgende stappen uit om de analyse Illumina DRAGEN Germline (Illumina DRAGEN kiemlijn) te configureren.

1. Selecteer uw referentiegenoom.  
Gebruik indien mogelijk een referentiegenoom met alt-aware.
2. Selecteer een map-/uitlijn-uitvoerindeling.
3. Selecteer of u een kopie van uw FASTQ-bestanden wilt opslaan. FASTQ-bestanden worden alleen gegenereerd als u de optie FASTQ-bestanden bewaren selecteert.
4. Selecteer een van de volgende FASTQ-uitvoerindelingen:
  - **gzip** — De FASTQ-bestanden in gzip-indeling opslaan.
  - **DRAGEN** — De FASTQ-bestanden in ora-indeling opslaan.
5. Voltooi de runconfiguratie.
  - Om de runconfiguratie naar uw BaseSpace sequentie-hub-account te verzenden, selecteert u **Submit Run** (Run verzenden). Runs die zijn verzonden naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) verschijnen in de lijst met geplande runs en zijn beschikbaar voor systemen die in de Cloud mode (Cloud-modus) of Hybrid mode (Hybride-modus) werken.

- Om de runconfiguratie op te slaan als een monsterblad in v2-bestandsindeling, selecteert u **Export Sample Sheet** (Monsterblad exporteren) in de vervolgkeuzelijst **Submit Run** (Run verzenden). De monsterblad- en secundaire analyse-hulpbestanden worden gedownload in een \*.zip-map en zijn nodig om runs te starten in systemen die werken in de Local mode (lokale modus). Deze optie is alleen beschikbaar als Local (lokaal) is gekozen als analyselocatie.

## Illumina DRAGEN RNA

Voer de volgende stappen uit om de analyse Illumina DRAGEN RNA te configureren.

1. Selecteer uw referentiegenoom.  
Gebruik indien mogelijk een referentiegenoom zonder alt-aware.
2. Selecteer uw map-/uitlijn-uitvoerindeling.
3. Selecteer of u een kopie van uw FASTQ-bestanden wilt opslaan. FASTQ-bestanden worden alleen gegenereerd als u de optie FASTQ-bestanden bewaren selecteert.
4. Selecteer een van de volgende FASTQ-uitvoerindelingen:
  - **gzip** — De FASTQ-bestanden in gzip-indeling opslaan.
  - **DRAGEN** — De FASTQ-bestanden in ora-indeling opslaan.
5. **[Optioneel]** Upload een RNA-annotatiebestand in Gene Transfer Format (GTF, Genoverdrachtindeling).
  - **Local mode** (Lokale modus) — Selecteer **Select Custom File (Local)** (Aangepast bestand selecteren (lokaal)) om een upload voor enkele run te doen of **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)) voor herhaald gebruik.
  - **Cloud of Hybrid mode** (Cloud- of Hybride-modus) — Selecteer **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)). Het GTF-bestand is alleen beschikbaar in de Workgroup (werkgroep) waarnaar het werd geüpload.  
Selecteer na het uploaden van een GTF-bestand naar een BaseSpace Sequence Hub Workgroup (BaseSpace sequentie-hubwerkgroep) het RNA-annotatiebestand in het vervolgkeuzemenu.
6. Selecteer of differentiële expressie moet worden ingeschakeld.
7. Als u differentiële expressie heeft ingeschakeld, selecteer dan voor elk monster een controle- of vergelijkingswaarde.  
In elke vergelijkingsgroep wordt elk monster dat als controle is gemarkeerd, vergeleken met alle monsters die als vergelijking zijn gemarkeerd. Als het monster geen controle- of vergelijkingswaarde bevat, kies dan **na** (niet van toepassing) als de waarde.
8. Voltooi de runconfiguratie.

- Om de runconfiguratie naar uw BaseSpace sequentie-hub-account te verzenden, selecteert u **Submit Run** (Run verzenden). Runs die zijn verzonden naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) verschijnen in de lijst met geplande runs en zijn beschikbaar voor systemen die in de Cloud mode (Cloud-modus) of Hybrid mode (Hybride-modus) werken.
- Om de runconfiguratie op te slaan als een monsterblad in v2-bestandsindeling, selecteert u **Export Sample Sheet** (Monsterblad exporteren) in de vervolgkeuzelijst **Submit Run** (Run verzenden). De monsterblad- en secundaire analyse-hulpbestanden worden gedownload in een \*.zip-map als een optioneel GTF-bestand is aangemaakt en zijn nodig om runs te starten in systemen die werken in de Local mode (lokale modus). Deze optie is alleen beschikbaar als Local (lokaal) is gekozen als analyselocatie.

## Illumina DRAGEN Single Cell RNA

Voer de volgende stappen uit om de analyse Illumina DRAGEN Single Cell RNA (Illumina DRAGEN enkele cel RNA) te configureren.

1. Selecteer uw referentiegenoom.  
Gebruik indien mogelijk een referentiegenoom zonder alt-aware.
2. **[Optioneel]** Upload een RNA-annotatiebestand in Gene Transfer Format (GTF, Genoverdrachtindeling).
  - **Local mode** (Lokale modus) — Selecteer **Select Custom File (Local)** (Aangepast bestand selecteren (lokaal)) om een upload voor enkele run te doen of **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)) voor herhaald gebruik.
  - **Cloud of Hybrid mode** (Cloud- of Hybride-modus) — Selecteer **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)). Het GTF-bestand is alleen beschikbaar in de Workgroup (werkgroep) waarnaar het werd geüpload.  
Selecteer na het uploaden van een GTF-bestand naar een BaseSpace Sequence Hub Workgroup (BaseSpace sequentie-hubwerkgroep) het RNA-annotatiebestand in het vervolgkeuzemenu.
3. Selecteer uw map-/uitlijn-uitvoerindeling.
4. Selecteer of u een kopie van uw FASTQ-bestanden wilt opslaan. FASTQ-bestanden worden alleen gegenereerd als u de optie FASTQ-bestanden bewaren selecteert.
5. Selecteer een van de volgende FASTQ-uitvoerindelingen:
  - **gzip** — De FASTQ-bestanden in gzip-indeling opslaan.
  - **DRAGEN** — De FASTQ-bestanden in ora-indeling opslaan.
6. Selecteer de configuratie die identiek is aan het type van uw bibliotheekvoorbereidingskit.  
Als u bijvoorbeeld Single Cell RNA Library Kit 1 (Enkele cel RNA bibliotheek kit 1) heeft geselecteerd als uw bibliotheekvoorbereidingskit, selecteert u Type 1 als het configuratietype.
7. Selecteer de streepjescodebepaling.

8. **[Optioneel]** Bewerk het aantal basen in de streepjescodes en de UMI. De waarden worden automatisch ingevuld op basis van de bibliotheekvoorbereidingskit en het configuratietype die u heeft geselecteerd.
9. Selecteer de strengoriëntatie.
10. **[Optioneel]** Selecteer een bestand met uw streepjescodesequenties of upload een nieuw aangepast bestand.
11. Bij gebruik van een configuratie van het type Advanced/Custom (Geavanceerde/aangepast) voert u waarden in voor het aantal genegeerde cycli, de positie van de streepjescode en de positie van de UMI.
12. Voltooi de runconfiguratie.
  - Om de runconfiguratie naar uw BaseSpace sequentie-hub-account te verzenden, selecteert u **Submit Run** (Run verzenden). Runs die zijn verzonden naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) verschijnen in de lijst met geplande runs en zijn beschikbaar voor systemen die in de Cloud mode (Cloud-modus) of Hybrid mode (Hybride-modus) werken.
  - Om de runconfiguratie op te slaan als een monsterblad in v2-bestandsindeling, selecteert u **Export Sample Sheet** (Monsterblad exporteren) in de vervolgkeuzelijst **Submit Run** (Run verzenden). De monsterblad- en secundaire analyse-hulpbestanden worden gedownload in een \*.zip-map als een optioneel GTF-bestand is aangemaakt en zijn nodig om runs te starten in systemen die werken in de Local mode (lokale modus). Deze optie is alleen beschikbaar als Local (Lokaal) is gekozen als analyselocatie.

## Illumina DRAGEN Amplicon

Voer de volgende stappen uit om de analyse Illumina DRAGEN Amplicon te configureren.

1. Selecteer uw referentiegenoom.
2. Selecteer een \*.bed-bestand met de beoogde doelregio's of upload een nieuw aangepast bestand. Zorg ervoor dat het referentiegenoom van het BED-bestand overeenkomt met het referentiegenoom dat in stap 1 is geselecteerd. Gebruik voor een nieuw aangepast BED-bestand de volgende naamindeling: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
  - **Cloud of Hybrid mode** (Cloud- of Hybride-modus) — Selecteer **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)). Het aangepaste BED-bestand is alleen beschikbaar in de Workgroup (werkgroep) waarnaar het werd geüpload.
  - **Local mode** (Lokale modus) — Selecteer **Select Custom File (Local)** (Aangepast bestand selecteren (lokaal)) om een upload voor enkele run te doen of **Upload Custom File (BaseSpace)** (Aangepast bestand uploaden (BaseSpace)) voor herhaald gebruik.
3. Selecteer de kiemlijn- of de somatische variantbepaler.
4. Selecteer uw map-/uitlijn-uitvoerindeling.



5. **[Local]** (Lokaal) Selecteer of u een kopie van uw FASTQ-bestanden wilt opslaan. FASTQ-bestanden worden alleen gegenereerd als u de optie FASTQ-bestanden bewaren selecteert.
6. Selecteer of u een kopie van uw FASTQ-bestanden wilt opslaan. FASTQ-bestanden worden alleen gegenereerd als u de optie FASTQ-bestanden bewaren selecteert.
7. Selecteer een van de volgende FASTQ-uitvoerindelingen:
  - **gzip** — De FASTQ-bestanden in gzip-indeling opslaan.
  - **DRAGEN** — De FASTQ-bestanden in ora-indeling opslaan.
8. Voltooi de runconfiguratie.
  - Om de runconfiguratie naar uw BaseSpace sequentie-hub-account te verzenden, selecteert u **Submit Run** (Run verzenden). Runs die zijn verzonden naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) verschijnen in de lijst met geplande runs en zijn beschikbaar voor systemen die in de Cloud mode (Cloud-modus) of Hybrid mode (Hybride-modus) werken.
  - **[Local (Lokaal)]** Om de runconfiguratie op te slaan als een monsterblad in v2-bestandsindeling, selecteert u **Export Sample Sheet** (Monsterblad exporteren) in de vervolgkeuzelijst **Submit Run** (Run verzenden). De monsterblad- en secundaire analyse-hulpbestanden worden gedownload in een \*.zip-map en zijn nodig om runs te starten in systemen die werken in de Local mode (lokale modus). Deze optie is alleen beschikbaar als Local (Lokaal) is gekozen als analyselocatie.

## De verpakte cartridge en stroomcel ontdooien

In deze stap wordt de cartridge *in de ongeopende zak* ontdooit en de stroomcel voorbereid. Ontdooi de verpakte cartridge met behulp van een van de drie methoden: waterbad met temperatuurregeling, koelkast of lucht bij kamertemperatuur. Gebruik de cartridge direct na het ontdooien, zonder deze opnieuw te bevriezen. Kunt u de cartridge niet onmiddellijk na het ontdooien gebruiken, raadpleeg dan [Verbruiksartikelen terugzetten in de opslag op pagina 85](#).

Afbeelding 4 Verpakte cartridge




### Cartridge ontdooien in een waterbad met temperatuurregeling


1. Trek een nieuw paar poedervrije handschoenen aan en haal de cartridge uit de opslag.
2. Haal de cartridge uit de doos, maar **open de zilverfoliezak nog niet**.
- !** Door een gescheurde of geperforeerde zak in een waterbad te ontdooien, kan de sequencing mislukken. Ontdooi in plaats daarvan bij kamertemperatuur of in de koelkast.
3. Ontdooi de verpakte cartridge gedurende 6 uur in een waterbad met temperatuurregeling van 25 °C:
  - Zorg voor een waterdiepte van ten minste 9,5–10 cm, ongeacht het aantal cartridges dat u ontdooit.
  - Stel een waterbad met temperatuurregeling in op 25 °C.
  - Plaats de zak met het etiket naar boven in het waterbad zonder deze onder te dompelen.**!** Probeer de cartridge niet te verzwaren om deze onder te dompelen. Als het etiket op de zak niet naar boven is gericht of de cartridge tijdens het ontdooien omdraait, heeft dit een negatief effect op de sequencinggegevens.
  - Niet langer dan 8 uur in het waterbad laten.
  - Ontdooi niet meer patronen tegelijkertijd dan er in het waterbad passen. Voor compatibele waterbaden, zie [Aanvullende apparatuur op pagina 30](#).
  - Cartridges niet stapelen.
4. Neem de cartridge uit het waterbad en droog deze met keukenpapier.

## Cartridge in de koelkast ontdooien

1. Trek een nieuw paar poedervrije handschoenen aan.
2. Neem de cartridge een dag voor de geplande run uit de opslag bij een temperatuur van  $-25\text{ °C}$  tot  $-15\text{ °C}$ .
3. Haal de cartridge uit de doos, maar *open de zilverfoliezak nog niet*.
4. Plaats de cartridge bij kamertemperatuur op zodanige wijze dat het etiket naar boven is gericht en dat lucht langs de zijkanten en de bovenkant kan circuleren.

 Als het etiket op de zak niet naar boven is gericht, heeft dit een negatief effect op de sequencinggegevens.


5. Laat gedurende 6 uur ontdooien bij kamertemperatuur.
6. Plaats de cartridge op zodanige wijze in een koelkast van  $2\text{ °C}$  tot  $8\text{ °C}$  dat het etiket naar boven is gericht en dat lucht langs de zijkanten kan circuleren.

 Als het etiket op de zak niet naar boven is gericht, heeft dit een negatief effect op de sequencinggegevens.

7. Laat gedurende 12 uur in de koelkast ontdooien. Dit mag niet langer dan 72 uur duren.

## Cartridge bij kamertemperatuur ontdooien

1. Trek een nieuw paar poedervrije handschoenen aan.
2. Neem de cartridge uit de opslag bij een temperatuur van  $-25\text{ °C}$  tot  $-15\text{ °C}$ .
3. Haal de cartridge uit de doos, maar *open de zilverfoliezak nog niet*.
4. Plaats de cartridge op zodanige wijze dat het etiket naar boven is gericht en dat lucht langs de zijkanten en de bovenkant kan circuleren.

 Als het etiket op de zak niet naar boven is gericht, heeft dit een negatief effect op de sequencinggegevens.

5. Laat gedurende 9 uur ontdooien bij kamertemperatuur. Dit mag niet langer dan 16 uur duren.

## De stroomcel en cartridge prepareren

1. Prepareer de stroomcel op de volgende manier:
  - a. Neem een nieuwe stroomcel uit de opslag bij een temperatuur van  $2\text{ °C}$  tot  $8\text{ °C}$ .
  - b. Als u de stroomcel uit de verpakking haalt, laat de ongeopende verpakking dan eerst 10–15 minuten bij kamertemperatuur staan om condensatie te voorkomen. Door de stroomcel te prepareren komt deze tijdig op kamertemperatuur.
2. Als het ontdooien in de koelkast plaatsvindt:
  - a. Neem de ontdooide cartridge uit de opslag bij een temperatuur van  $2\text{ °C}$  tot  $8\text{ °C}$ .

- b. Laat de ongeopende cartridge gedurende ten minste 15 minuten voor de sequencing bij kamertemperatuur staan. Dit mag niet langer dan 1 uur duren.

## Bibliotheken verdunnen

Bij gebruik van interne denaturering en verdunning worden de bibliotheken in deze stap verdund tot de toepasselijke laadconcentratie. Een optionele PhiX<sup>1</sup>-spike-in van 2% zorgt voor aanvullende metrische gegevens, basediversiteit of een positieve controle. Het percentage PhiX-spike-in moet hoger zijn voor bibliotheken met een lagere basediversiteit.

Gebruik bij handmatige denaturatie en verdunning van bibliotheken de *Handleiding Denatureren en verdunnen van bibliotheken voor NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139235)*. Deze stap geldt alleen voor interne denaturatie en verdunning.

### De bibliotheek verdunnen tot 2 nM

- [Optioneel] Haal 10 nM PhiX-voorraad uit de opslag van -25 °C tot -15 °C.  
PhiX is alleen nodig voor een optionele spike-in of een run van alleen PhiX.
- [Optioneel] Ontdooi het PhiX gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur en kwantificeer vervolgens met behulp van een fluorescentiemethode, zoals Qubit, om de PhiX-concentratie te bevestigen.  
Als kwantificering niet mogelijk is, ga dan verder met een concentratie van 10 nM.
- Vortex de bibliotheek of PhiX kort en centrifugeer dan gedurende 1 minuut bij 280 × g.
- Prepareer met behulp van RSB met Tween 20 als verdunningsmiddel ten minste 24 µl 2 nM-bibliotheek in een microbuisje met lage retentie.  
Ga voor instructies voor PhiX-spike-in naar [Een PhiX-controle toevoegen \(optioneel\) op pagina 45](#).
- Vortex kort en centrifugeer dan gedurende 1 minuut bij 280 × g.

### 2 nM-bibliotheek verdunnen tot laadconcentratie

- Combineer de volgende volumes in een microbuisje met lage retentie om 24 µl bibliotheek, verdund tot de juiste laadconcentratie, te prepareren:

Bibliotheektype*	Laadconcentratie (pM)	Volume 2 nM-bibliotheek (µl)	Volume RSB met Tween 20 (µl)
Ampliseq voor Illumina-bibliotheek PLUS	750	9	15
Illumina DNA-Prep	750	9	15

<sup>1</sup>PhiX is een kleine, gebruiksklare Illumina-bibliotheek waarin gebalanceerde nucleotide worden vertegenwoordigd.

Bibliotheektype*	Laadconcentratie (pM)	Volume 2 nM-bibliotheek (µl)	Volume RSB met Tween 20 (µl)
Illumina DNA-Prep met Verrijking	1000	12	12
Illumina strengspecifiek totaal RNA met Ribo-Zero Plus	750	9	15
Illumina strengspecifiek mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-vrij	1000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1200	14,4	9,6
TruSeq DNA Nano 550	1500	18	6
TruSeq strengspecifiek mRNA	1000	12	12
100% PhiX	650	7,8	16,2

\* Voor bibliotheektypen die niet in de lijst staan, begint u met een laadconcentratie van 650 pM en optimaliseert u deze in daaropvolgende runs.

Deze tabel bevat voorbeeldlaadconcentraties. Het NextSeq 1000/2000-systeem is compatibel met alle bibliotheekvoorbereidingskits van Illumina, maar de optimale laadconcentratie kan verschillen.

- Vortex kort en centrifugeer dan gedurende 1 minuut bij  $280 \times g$ .
- Laat de verdunde bibliotheek op ijs staan tot u gaat beginnen met de sequencing. Sequentieer verdunde bibliotheken aan de hand van de laadconcentratie op de dag dat ze zijn verdund.
- Ga als volgt verder.
  - Zie [Een PhiX-controle toevoegen \(optioneel\) op pagina 45](#) als u PhiX wilt toevoegen.
  - Zie [Verbruiksartikelen in de cartridge laden op pagina 46](#) als u geen PhiX wilt toevoegen of een run van alleen PhiX uitvoert.

### Een PhiX-controle toevoegen (optioneel)

- Combineer de volgende volumes in een microbuisje met lage retentie om 20 µl 1 nM-PhiX te prepareren:
  - 10 nM-PhiX (2 µl)
  - RSB met Tween 20 (18 µl)
- Vortex kort en centrifugeer dan gedurende 1 minuut bij  $280 \times g$ .
- Voeg 1 µl 1 nM-PhiX toe aan 24 µl bibliotheek, verdund tot de uiteindelijke laadconcentratie. Deze volumes resulteren in een ~ 2% PhiX-spike-in. Het daadwerkelijke percentage verschilt, afhankelijk van de kwaliteit en kwantiteit van de bibliotheek.

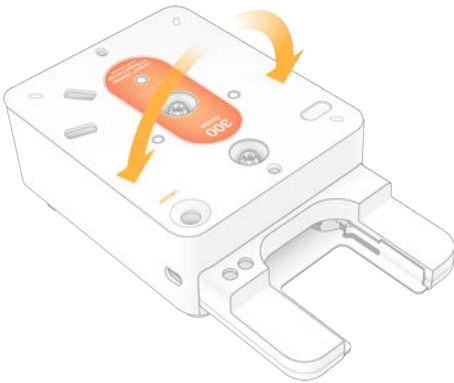
- Laat de bibliotheek met PhiX-spike-in op ijs staan tot u gaat beginnen met de sequencing.  
Voer de sequencing van bibliotheken met PhiX-spike-in uit op de dag van verdunning.

## Verbruiksartikelen in de cartridge laden

In deze stap wordt de cartridge klaargemaakt voor sequencing door de vooraf gevulde reagentia te mengen en de verdunde bibliotheken en de stroomcel te laden.

### De cartridge voorbereiden

- Open de cartridgezak door aan weerszijden de inkeping aan de bovenzijde af te scheuren of af te knippen.
- Verwijder de cartridge uit de zak. Gooi de zak en het droogmiddel weg.
- Draai de cartridge tien maal om om de reagentia te mengen.  
Tijdens het omkeren kunnen de inwendige onderdelen rammelen, dit is normaal.



### De stroomcel laden

- Open de zilverfolieverpakking door aan weerszijden de insnijding aan de bovenzijde af te scheuren of af te knippen.  
Kunt u de stroomcel niet onmiddellijk gebruiken, raadpleeg dan [Verbruiksartikelen terugzetten in de opslag op pagina 85](#) (Verbruiksartikelen terugzetten in opslag).

2. Trek de stroomcel uit de verpakking.

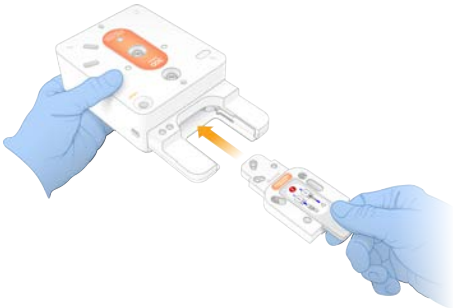
Leg de folieverpakking en het droogmiddel opzij voor het geval u de stroomcel moet terugzetten in de opslag. Het droogmiddel zit in een zakje onderin de folieverpakking. Gooi dit zakje weg als de sequencing begint.



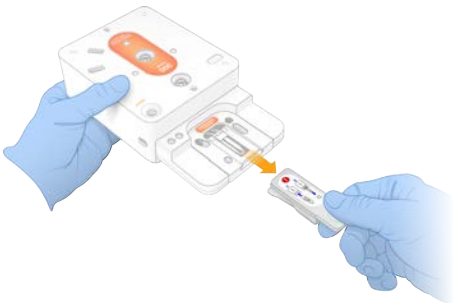
3. Houd de stroomcel vast bij de grijze lip met het etiket op de lip naar boven gericht.

4. Duw om de stroomcel in de opening aan de voorzijde van de cartridge te plaatsen.

Er volgt een hoorbare klik wanneer de stroomcel in positie zit. Wanneer de cartridge correct is geladen, steekt de grijze lip uit de cartridge.



5. Trek de grijze lip naar u toe om hem te verwijderen en de stroomcel bloot te leggen. Recycle de lip.



## Bibliotheeken laden

1. Prik met de punt van een nieuwe P1000-pipet het bibliotheekreservoir aan en duw de folie naar de randen om het gat groter te maken.
2. Gooi de punt van de pipet weg om contaminatie te voorkomen.


- Plaats 20 µl verdunde bibliotheek op de **bodem** van het reservoir door de pipetpunt langzaam tot op de bodem van het reservoir te brengen alvorens hem leeg te drukken. Raak daarbij de folie niet aan.




## Een sequencing-run starten

Met deze stap wordt een sequencing-run in een van de vier modi gestart:


- **Cloud mode** (Cloud-modus) — Run wordt geselecteerd uit een lijst van geplande runs in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware. Tijdens de sequencing worden de cBCL-gegevens geüpload naar de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). Na de sequencing start DRAGEN automatisch in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).
- **Hybrid mode** (Hybride-modus) — Run wordt geselecteerd uit een lijst van geplande runs in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware. Na de sequencing start de analyse op het instrument automatisch. cBCL-gegevens en uitvoerbestanden van de DRAGEN-secundaire analyse worden opgeslagen in de geselecteerde uitvoermap.
- **Local mode** (Lokale modus) — Een monsterblad in v2-bestandsindeling wordt handmatig geïmporteerd in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware. Na de sequencing start de analyse op het instrument automatisch. cBCL-gegevens en uitvoerbestanden van de secundaire DRAGEN-analyse worden opgeslagen in de geselecteerde uitvoermap. Als Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) geselecteerd is, kan de analyse na voltooiing van de sequencing ook worden gestart via de BaseSpace sequentie-hub-apps.
- **Standalone mode** (Standalone-modus) — Stel een run in volgens de instructies in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware om cBCL-gegevens te genereren.

 Door de kap tijdens de pre-runcontrole of tijdens de run te openen, kan de run mislukken.




-  | Houd uw handen uit de buurt van het instrument tijdens het openen en sluiten van de kap om letsel te voorkomen.

## Een Cloud- of Hybride-run starten

1. Configureer de runmodus, zoals beschreven in [Runmodus configureren op pagina 20](#).
  2. Selecteer **Start** (Starten).
  3. Voer uw aanmeldgegevens voor de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) in en selecteer dan **Sign In** (Aanmelden).
  4. Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) heeft geselecteerd, selecteer dan de Workgroup (Werkgroep) met uw run die is aangemaakt in Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).
-  | Om fouten te voorkomen is het nodig een werkgroep te selecteren. Controleer of u een werkgroep heeft geselecteerd voordat u verder gaat.
5. Selecteer **Next** (Volgende).
  6. Selecteer uw run.
  7. Controleer of de versie van Analysis (Analyse), Run Length (Runlengte) en Secondary Analysis (Secundaire analyse) overeenkomen met de juiste run.  
Als Analysis (Analyse) Cloud\_ weergeeft, duidt dit aan dat de analyse plaatsvindt in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).
  8. Selecteer **Review** (Controleren).
  9. **[Optioneel]** Voer aangepaste bepalingprimer- en aangepaste indexprimerlocaties in.  
Raadpleeg voor informatie over het voorbereiden en toevoegen van aangepaste primers de *Handleiding Aangepaste primers voor NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139569)*. Ga naar de pagina Compatible Products (Compatibele producten) voor uw bibliotheekvoorbereidingskit om te controleren of aangepaste primers van Illumina nodig zijn.
  10. **[Optioneel]** Selecteer een aangepast voorschrift. Zie voor meer informatie [Donkere cyclus-sequencing op pagina 105](#).  
Het aangepaste voorschrift wordt automatisch geselecteerd bij gebruik van de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3 en de Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kit (strengspecifiek totaal RNA voorbereiding met Ribo-Zero Plus kit) of de Illumina Stranded mRNA Prep kit (strengspecifiek mRNA voorbereidingskit).
  11. **[Optioneel]** Als u bibliotheken handmatig wilt denatureren en verdunnen, deselecteert u het selectievakje **Denature and Dilute On Board** (Intern denatureren en verdunnen). Zie de *Handleiding Denatureren en verdunnen van bibliotheken voor NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139235)*.  
De standaardselectie is geconfigureerd in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftwareinstellingen.

12. **[Optioneel]** Om de uitvoermap te wijzigen, selecteert u het veld Output Folder (Uitvoermap) en voert u een nieuwe locatie in.  
Het veld Output Folder (Uitvoermap) wordt automatisch ingevuld vanuit uw standaardinstellingen en is vereist tenzij **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, runmonitoring en opslag) geselecteerd is.  
Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) heeft geselecteerd, wordt weergegeven dat Save to BaseSpace Sequence Hub (Opslaan naar BaseSpace sequentie-hub) is ingeschakeld.  
Als u Proactive and Run Monitoring (Proactive en runmonitoring) heeft geselecteerd, wordt weergegeven dat Save to BaseSpace Sequence Hub (Opslaan naar BaseSpace sequentie-hub) is uitgeschakeld.
13. Controleer uw runinformatie en selecteer vervolgens **Prep** (Voorbereiden).

### Een Local (Lokale) run starten

1. Configureer de runmodus, zoals beschreven in [Runmodus configureren op pagina 20](#).
  2. Selecteer **Start** (Starten).
  3. Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) of Proactive and Run Monitoring (Proactive en runmonitoring) heeft geselecteerd, voer dan uw aanmeldgegevens voor de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) in en selecteer vervolgens **Sign In** (Aanmelden).
  4. Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) heeft geselecteerd, selecteer dan de BaseSpace Sequence Hub Workgroup (BaseSpace sequentie-hubwerkgroep) waarin uw run moet worden opgeslagen en selecteer vervolgens **Next** (Volgende).
-  Om fouten te voorkomen is het nodig een werkgroep te selecteren. Controleer of u een werkgroep heeft geselecteerd voordat u verder gaat.
5. Selecteer onder Start With Sample Sheet (Starten met monsterblad) **Choose...** (Kiezen...) en navigeer naar het monsterblad in v2-indeling op het NextSeq 1000/2000-instrument, de draagbare schijf of het gekoppelde netwerkstation. Bestandsnamen van monsterbladen mogen geen speciale tekens bevatten.  
De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3 detecteert automatisch de DRAGEN-versie van het monsterblad en vraagt u zonodig om over te schakelen op een andere versie. De DRAGEN-versie moet op het systeem geïnstalleerd zijn. Zie voor installatie-informatie [Software-updates op pagina 79](#) (Software-updates).
    - **Instrument Run Setup Used** (Runinstelling instrument gebruikt) — Selecteer de .zip-map met het monsterblad v2 en de ondersteunende bestanden, indien van toepassing. Selecteer anders het monsterblad v2.

- **Instrument Run Setup Not Used** (Runinstelling instrument niet gebruikt) — Controleer of het ondersteunende bestand voor de secundaire analyse zich in dezelfde directory bevindt als het monsterblad v2.

**i** Het geselecteerde monsterblad moet de v2-indeling hebben. Om een monsterblad v2 aan te maken, downloadt u het gegenereerde monsterblad van de Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) of bewerkt u een monsterblad v2-sjabloon dat te vinden is op de NextSeq 1000/2000-ondersteuningspagina. Zie [Monsterblad v2-instellingen op pagina 90](#) (Instellingen monsterblad v2) voor meer informatie over de indeling en vereisten van het monsterblad v2. Zorg ervoor dat alle bestanden die in het monsterblad worden genoemd, zich in dezelfde map bevinden als het monsterblad.

6. Selecteer **Review** (Controleren).
7. **[Optioneel]** Voer aangepaste bepalingprimer- en aangepaste indexprimerlocaties in. Raadpleeg voor informatie over het voorbereiden en toevoegen van aangepaste primers de *Handleiding Aangepaste primers voor NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139569)*. Ga naar de pagina Compatible Products (Compatibele producten) voor uw bibliotheekvoorbereidingskit om te controleren of aangepaste primers van Illumina nodig zijn.
8. **[Optioneel]** Selecteer een aangepast voorschrift. Zie voor meer informatie [Donkere cyclus-sequencing op pagina 105](#).  
Het aangepaste voorschrift wordt automatisch geselecteerd bij gebruik van de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3 en de Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kit (strengspecifiek totaal RNA voorbereiding met Ribo-Zero Plus kit) of de Illumina Stranded mRNA Prep kit (strengspecifiek mRNA voorbereidingskit).
9. **[Optioneel]** Als u bibliotheken handmatig wilt denatureren en verdunnen, deselecteert u het selectievakje **Denature and Dilute On Board** (Intern denatureren en verdunnen). Zie de *Handleiding Denatureren en verdunnen van bibliotheken voor NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139235)*.  
De standaardselectie is geconfigureerd in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftwareinstellingen.
10. **[Optioneel]** Om de uitvoermap te wijzigen, selecteert u het veld Output Folder (Uitvoermap) en voert u een nieuwe locatie in.  
Het veld Output Folder (Uitvoermap) wordt automatisch ingevuld vanuit uw standaardinstellingen en is vereist tenzij Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) geselecteerd is.  
Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) heeft geselecteerd, wordt weergegeven dat Save to BaseSpace Sequence Hub (Opslaan naar BaseSpace sequentie-hub) is ingeschakeld.  
Als u Proactive and Run Monitoring (Proactive en runmonitoring) heeft geselecteerd, wordt weergegeven dat Save to BaseSpace Sequence Hub (Opslaan naar BaseSpace sequentie-hub) is uitgeschakeld.
11. Controleer uw runinformatie en selecteer vervolgens **Prep** (Voorbereiden).

## Een Standalone Run (Standalone-run) starten

1. Configureer de runmodus, zoals beschreven in [Runmodus configureren op pagina 20](#).
2. Selecteer **Start** (Starten).
3. Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) of Proactive and Run Monitoring (Proactive en runmonitoring) heeft geselecteerd, voer dan uw aanmeldgegevens voor de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) in en selecteer vervolgens **Sign In** (Aanmelden).
4. Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) heeft geselecteerd, selecteer dan de BaseSpace Sequence Hub Workgroup (BaseSpace sequentie-hubwerkgroep) waarin uw run moet worden opgeslagen en selecteer vervolgens **Next** (Volgende).
5. Selecteer **Set Up New Run** (Een nieuwe run instellen).
6. Voer in het veld Run Name (Naam run) een unieke naam van uw keuze in om de huidige run te identificeren.  
De runnaam kan alfanumerieke tekens, streepjes, verbindingsstreepjes en onderstrepingstekens bevatten.
7. Selecteer voor het Read Type (Bepalingstype) hoeveel sequencingbepalingen moeten worden uitgevoerd:
  - **Single Read** (Enkele bepaling) — Voer één bepaling uit; dit is de eenvoudigere, snellere optie.
  - **Paired End** (Gekoppeld einde) — Voer twee bepalingen uit, waarvan de consensus kwalitatief betere gegevens oplevert en daarmee een nauwkeurigere uitlijning.
8. Voer het aantal cycli in dat voor elke bepaling is uitgevoerd:  
Er is geen maximum aantal indexcycli, maar de som van de bepalingscyclus en indexcycli moet minder zijn dan het aantal cycli dat op het etiket op de cartridge staat plus 27.  
**Read 1** (Bepaling 1) — Voer **1–151** cycli in.  
**Index 1** — Voer het aantal cycli in voor de Index 1 (i7)-primer. Voer voor een run van alleen PhiX in beide indexvelden de waarde **0** in.  
**Index 2** — Voer het aantal cycli in voor de Index 2 (i5)-primer.  
**Read 2** (Bepaling 1) — Voer tot maximaal **151** cycli in. Deze waarde is doorgaans dezelfde als de waarde van Read 1 (Bepaling 1).
9. Als u Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) heeft geselecteerd, selecteer dan **Choose...** (Kiezen...) om een monsterblad te importeren.  
De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3 detecteert automatisch de DRAGEN-versie van het monsterblad en vraagt u zonodig om over te schakelen op een andere versie. De DRAGEN-versie moet op het systeem geïnstalleerd zijn. Zie [Software-updates op pagina 79](#) voor informatie over het installeren.

- i** | Het geselecteerde monsterblad moet de v2-indeling hebben. Om een monsterblad v2 aan te maken, downloadt u het gegenereerde monsterblad van de Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) of bewerkt u een monsterblad v2-sjabloon dat te vinden is op de NextSeq 1000/2000-ondersteuningspagina. Zie [Monsterblad v2-instellingen op pagina 90](#) voor meer informatie over de indeling en vereisten voor het monsterblad v2. Zorg ervoor dat alle bestanden die in het monsterblad worden genoemd, zich in dezelfde map bevinden als het monsterblad.
10. **[Optioneel]** Voer aangepaste bepalingprimer- en aangepaste indexprimerlocaties in. Raadpleeg voor informatie over het voorbereiden en toevoegen van aangepaste primers de *Handleiding Aangepaste primers voor NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139569)*. Ga naar de pagina Compatible Products (Compatibele producten) voor uw bibliotheekvoorbereidingskit om te controleren of aangepaste primers van Illumina nodig zijn.
  11. **[Optioneel]** Selecteer een aangepast voorschrift. Zie voor meer informatie [Donkere cyclus-sequencing op pagina 105](#)
  12. **[Optioneel]** Als u bibliotheken handmatig wilt denatureren en verdunnen, deselecteert u het selectievakje **Denature and Dilute On Board** (Intern denatureren en verdunnen). Zie de *Handleiding Denatureren en verdunnen van bibliotheken voor NextSeq 1000 en 2000 (documentnr. 1000000139235)*.  
De standaardselectie is geconfigureerd in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftwareinstellingen.
  13. **[Optioneel]** Om de uitvoermap te wijzigen, selecteert u het veld Output Folder (Uitvoermap) en voert u een nieuwe locatie in.  
Het veld Output Folder (Uitvoermap) wordt automatisch ingevuld vanuit uw standaardinstellingen en is vereist tenzij Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) geselecteerd is.
  14. Selecteer **Prep** (Voorbereiden).

## De verbruiksartikelen in het instrument laden

1. Zorg ervoor dat de cartridge vooraf is ontdooid en 10 maal is omgekeerd om te mengen alvorens de stroomcel (grijze lip verwijderd) en de verdunde bibliotheek te laden.
2. Selecteer **Load** (Laden).  
De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware opent de kap en werpt de bak uit.

3. Plaats de cartridge op de bak met het etiket naar boven gericht en de stroomcel in het instrument. Duw de cartridge erin tot deze op zijn plaats klikt.



4. Selecteer **Close** (Sluiten) om de cartridge in te trekken en de kap te sluiten. De NextSeq 1000/2000-besturingssoftware toont na ~3 minuten informatie van de gescande verbruiksartikelen.
5. [Optioneel] Selecteer **Eject Cartridge** (Cartridge uitwerpen) om de cartridge te verwijderen. De kap gaat na 1 minuut open en werpt de cartridge uit.
6. Selecteer **Sequence** (Sequencen).

## Pre-runcontroles

Pre-runcontroles omvatten een instrumentcontrole gevolgd door een vloeistoffencontrole. Bij de vloeistofcontrole worden de cartridge-afluitingen doorboort, waardoor er 3-4 keer een ploppend geluid hoorbaar is vanuit het instrument. Dit is zoals het hoort. Het reagens wordt nu door de stroomcel geleid.

**!** Verbruiksartikelen kunnen niet worden hergebruikt nadat de vloeistofcontrole is begonnen.

1. Wacht ongeveer 15 minuten tot de pre-runcontroles zijn voltooid. Na een geslaagde uitvoering start de run automatisch.
2. Als er tijdens de instrumentcontrole een fout optreedt, selecteer dan **Retry** (Opnieuw) om de controle te herhalen. Wanneer een controle bezig is, beweegt de cirkel voor die controle.
3. Raadpleeg [Oplossing foutmeldingen op pagina 84](#) om terugkerende fouten op te lossen.

## De voortgang van de run bewaken

1. Bewaak de voortgang van de run en de metrische gegevens zoals deze op het scherm Sequencing worden weergegeven.

- **Estimated run completion (Geschatte voltooiing run)** — Een schatting van de datum en tijd van voltooiing van de run. Er zijn 10 eerdere runs nodig om een nauwkeurige runvoltooiingstijd te kunnen schatten.
- **Average %Q30 (Gemiddeld % Q30)** — Het gemiddelde percentage basebepalingen met een Q-score  $\geq 30$ .
- **Projected Yield (Verwacht resultaat)** — Het verwachte aantal basen dat voor de run is bepaald.
- **Total Reads PF (Totaal bepalingen PF)** — Het aantal paired end (indien van toepassing) clusters dat de filter passeert (in miljoenen).
- **Real Time Demux (Realtime demultiplexing)** — Status van demultiplexing indien dit is ingezet aan het begin van Read 2 (Bepaling 2) na voltooiing van Read 1 (Bepaling 1)-, Index 1- en Index 2-cycli. Ook als er geen indexcycli zijn uitgevoerd, wordt de status aangeduid als Complete (Voltooid). Niet beschikbaar voor runs in de Cloud-modus.
- **Real Time Alignment (Realtime uitlijning)** — Status van uitlijning Read 1 (Bepaling 1) indien dit is ingezet aan het begin van Read 2 (Bepaling 2) na voltooiing van Read 1 (Bepaling 1)-, Index 1- en Index 2-cycli. Niet beschikbaar voor runs in de Cloud-modus.

Q30- en resultaat-meetwaarden verschijnen na cyclus 26 (~6 uur na de start van de run).

2. Selecteer het besturingssoftwaremenu en vervolgens **Process Management** (Procesbeheer) om runprocessen te monitoren.
3. Om een run te annuleren, selecteert u **End Run** (Einde run). Zie [Een run annuleren op pagina 85](#) voor meer informatie over het annuleren van runs.
4. Laad de verbruiksartikelen uit het instrument. Verwijder de cartridge binnen 3 dagen uit het instrument.

## Verbruiksartikelen uitladen

1. Wanneer sequencing is voltooid, selecteert u **Eject Cartridge** (Cartridge uitwerpen). De software werpt de gebruikte cartridge uit het instrument.
2. Verwijder de cartridge uit de bak.
3. Verwijder de stroomcel uit de cartridge.
4. Voer de stroomcel, die is voorzien van elektronische onderdelen, af in overeenstemming met de voor uw regio geldende regels.
5. [Optioneel] Verwijder de aftapplug onder het Illumina-logo aan de zijkant van de cartridge boven een geschikte plaats (bijv. gootsteen of container voor gevaarlijk vloeistofafval) met de plug horizontaal of naar beneden gericht, bij uw gezicht vandaan. Voer gebruikte reagentia af in overeenstemming met de voor uw regio geldende regels. Het moment van aftappen hangt af van de grootte van de cartridge als de automatische reagensspoeling niet is ingeschakeld.

**!** Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

6. Gooi de reagenscartridge weg.  
Er is geen post-runwasbeurt nodig omdat de vloeistoffen met de cartridge worden afgevoerd.
7. Selecteer **Close Door** (Deur sluiten) om de bak opnieuw te laden en terug te keren naar het scherm Home (Start).  
De software herlaadt de bak automatisch en de sensoren bevestigen het verwijderen van de cartridge.

## Cartridgebak reinigen

De cartridgebak hoeft alleen te worden gereinigd als het reagens op de cartridgebak is gelekt.

1. Verwijder de cartridge uit het instrument.
2. Trek een nieuw paar poedervrije handschoenen aan en eventuele andere beschermende kleding.
3. Spuit 10% bleekmiddel op een doek.
4. Veeg de cartridgebak schoon met de doek en verwijder vervolgens onmiddellijk de bleekoplossing met een stevig doekje.  
Als het niet onmiddellijk wordt verwijderd, maakt het bleekmiddel vlekken op de cartridgebak.
5. Spuit 70% ethanoloplossing op de cartridgebak en verwijder de oplossing onmiddellijk met een stevig doekje.
6. Zet de cartridgebak terug in de laadstand.



# Sequencinguitvoer

Deze sectie beschrijft de Real-Time Analysis-software, die basebepaling uitvoert, kwaliteitsscores toekent en gegevens uitvoert. De verschillende typen uitvoerbestanden komen aan de orde, en waar u ze na een run kunt vinden.

## Overzicht Real-Time Analysis

De NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen werken met RTA3, een implementatie van Real-Time Analysis-software, op de Compute Engine (CE) van het instrument. RTA3 extraheert intensiteiten uit beelden die van de camera zijn ontvangen, voert basebepaling uit, kent een kwaliteitsscore toe aan basebepalingen, lijnt uit met PhiX en rapporteert gegevens in InterOp-bestanden voor weergave in de besturingssoftware van het instrument.

Om de verwerkingstijd te optimaliseren, slaat RTA3 informatie op in het geheugen. Als RTA3 wordt beëindigd, wordt de verwerking niet hervat en gaan alle rungegevens die in het geheugen worden verwerkt verloren.

### RTA3-invoer

RTA3 vereist tegelbeelden in het lokale systeemgeheugen om te kunnen verwerken. RTA3 ontvangt runinformatie en opdrachten van de besturingssoftware.

### RTA3-uitvoer

Beelden voor elk kleurkanaal worden in het geheugen aan RTA3 doorgegeven als tegels. Op basis van deze beelden voert RTA3 een set op kwaliteit beoordeelde basebepalingsbestanden en filterbestanden uit. Alle andere uitvoer is ondersteunende uitvoerbestanden.

Bestandstype	Omschrijving
Basebepalingsbestand	Elke geanalyseerde tegel wordt opgenomen in een concatenated base call (aaneengeschakeld basebepalings)-bestand (*.cbcl-bestand). Tegels van dezelfde baan en hetzelfde oppervlak worden samengevoegd tot 1 *.cbcl-bestand voor elke baan en elk oppervlak.
Filterbestanden	Elke tegel produceert een filterbestand (*.filter) dat specificeert of een cluster filters passeert.

Bestandstype	Omschrijving
Clusterlocatiebestanden	Clusterlocatie (*.locs)-bestanden bevatten de X- en Y-coördinaten voor elke cluster in een tegel. Voor elke run wordt een clusterlocatiebestand gegenereerd.

Uitvoerbestanden worden gebruikt voor downstreamanalyse in DRAGEN en BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).

## Foutafhandeling

RTA3 maakt logbestanden aan en schrijft deze naar de Logs-map. Fouten worden geregistreerd in een tekstbestand in \*.log-bestandsindeling.

De volgende logbestanden worden na afloop van de bewerking naar de definitieve uitvoerbestemming verzonden:

`info_00000.log` bevat een samenvatting van de belangrijke runvoorvallen.

`error_00000.log` bevat de fouten die tijdens een run zijn opgetreden.

`warning_00000.log` bevat de waarschuwingen die tijdens een run zijn opgetreden.

## Stroomceltegels

Tegels zijn kleine beeldvormingsgebieden op de stroomcel. De camera maakt één beeld per tegel.

De NextSeq 1000/2000 P2-stroomcel heeft in totaal 132 tegels. De NextSeq 1000/2000 P3-stroomcel heeft in totaal 264 tegels.

Tabel 5 Stroomceltegels

Stroomcelonderdelen	NextSeq 1000/2000 P2- stroomcel	NextSeq 1000/2000 P3- stroomcel	Omschrijving
Banen	1	2	Banen zijn optisch gescheiden, maar geen vloeistof-gescheiden kanalen.
Oppervlakken	2	2	De P2- en P3-stroomcel wordt afgebeeld op twee oppervlakken: op de boven- en onderkant. Het bovenoppervlak van een tegel wordt eerst afgebeeld.

Stroomcelonderdelen	NextSeq 1000/2000 P2- stroomcel	NextSeq 1000/2000 P3- stroomcel	Omschrijving
Stroken per baan	6	6	Een strook is een kolom in een stroomcelbaan.
Tegels per strook	11	11	Een tegel is een deel van een strook en geeft een afgebeeld gebied op de stroomcel weer.
Totaal aantal gegenereerde tegels	132	264	Banen × oppervlakken × stroken × tegels per strook is het totaal aantal tegels.

## Tegelbenaming

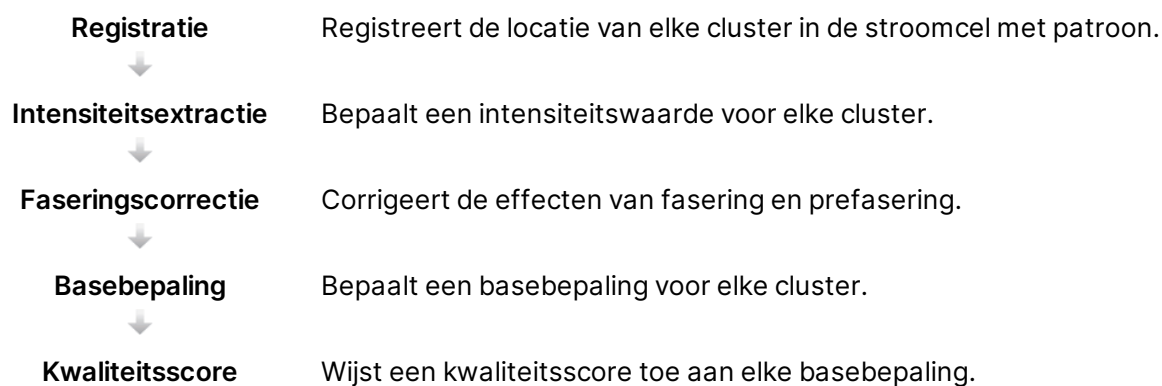
De naam van de tegel is een getal van vier cijfers dat de tegelpositie op de stroomcel aangeeft. Zo duidt tegelnaam 1205 aan: bovenoppervlak, strook 2, tegel 05.

Het eerste cijfer duidt het oppervlak aan: 1 voor bovenzijde of 2 voor onderzijde.

Het tweede cijfer geeft het strooknummer aan: 1, 2, 3, 4, 5 of 6.

De laatste twee cijfers zijn het tegelnummer. Voor de strooknummers 1-4 begint de nummering met 01 aan het uitlaateinde van de stroomcel en loopt de nummering door tot 11 aan het inlaateinde. Voor de strooknummers 5-6 begint de nummering met 01 aan het inlaateinde en loopt de nummering door tot 11 aan het uitlaateinde.

## Workflow Real-Time Analysis



### Registratie

Bij de registratie wordt een beeld uitgelijnd met de geroteerde vierkante matrix van nanowells op de stroomcel met patroon. Vanwege de geordende opstelling van de nanowells hebben de X- en Y-coördinaten voor elke cluster in een tegel een vooraf bepaalde waarde. Voor elke run worden

clusterposities naar een clusterlocatiebestand (s.locs-bestand) geschreven.

Als de registratie van een van de beelden in een cyclus mislukt, worden er geen basebepalingen gegenereerd voor die tegel in die cyclus. Stel met Sequencing Analysis Viewer vast van welke beelden de registratie is mislukt.

## Intensiteitsextractie

Na registratie berekent intensiteitsextractie een intensiteitswaarde voor elke nanowell in een bepaald beeld. Als de registratie mislukt is, kan de intensiteit voor die tegel niet geëxtraheerd worden.

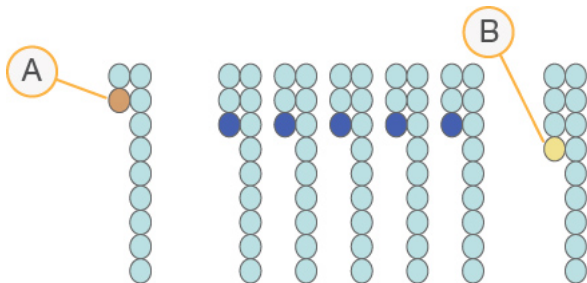
## Faseringscorrectie

Tijdens de sequencingreactie wordt elke DNA-streng in een cluster uitgebreid met één base per cyclus. Er is sprake van fasering en prefasering wanneer een streng tijdens de huidige opnamecyclus in de interfase komt.

Er is sprake van fasering wanneer een base achterblijft.

Er is sprake van prefasering wanneer een base vooruitloopt.

Afbeelding 5 Fasering en prefasering



- A. Bepaling met een base die faseert
- B. Bepaling met een base die prefaseert.

RTA3 corrigeert de effecten van fasering en prefasering, waardoor de gegevenskwaliteit tijdens elke cyclus van de run wordt gemaximaliseerd.

## Basebepaling

Basebepaling bepaalt een base (A, C, G of T) voor elk cluster van een bepaalde tegel in een specifieke cyclus. De NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingsystemen maken gebruik van tweekanaalssequencing, waarvoor slechts twee beelden nodig zijn om de gegevens te coderen voor vier DNA-bases: één uit het groene kanaal en één uit het blauwe kanaal.

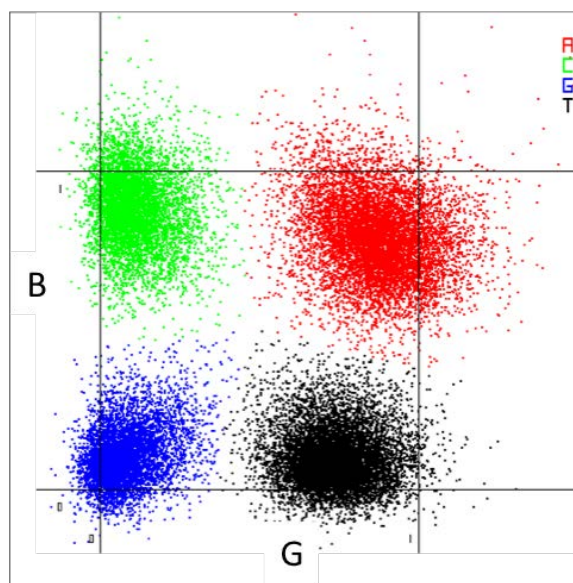
Een "no call" (geen bepaling) wordt aangeduid met N. No calls komt voor wanneer een cluster niet het filter passeert, de registratie mislukt of een cluster van het beeld wordt verschoven.

Intensiteiten voor elke cluster worden geëxtraheerd uit de groene en blauwe beelden en met elkaar vergeleken, wat vier verschillende populaties geeft. Elke populatie komt overeen met een base. Het basebepalingsproces bepaalt tot welke populatie een cluster behoort.

Tabel 6 Basebepalingen in tweekanaalsequencing

Base	Groen kanaal	Blauw kanaal	Resultaat
A	1 (aanwezig)	1 (aanwezig)	Clusters die intensiteit in zowel het groene als het blauwe kanaal vertonen.
C	0 (niet aanwezig)	1 (aanwezig)	Clusters die alleen intensiteit in het blauwe kanaal vertonen.
G	0 (niet aanwezig)	0 (niet aanwezig)	Clusters die geen intensiteit vertonen op een bekende clusterlocatie.
T	1 (aanwezig)	0 (niet aanwezig)	Clusters die alleen intensiteit in het groene kanaal vertonen.

Afbeelding 6 Visualisering van clusterintensiteiten



**i** De kleur van elke cluster komt overeen met de %base-diagrammen in Sequence Analysis Viewer (SAV) en BaseSpace Sequence Hub Run Data by Cycle (BaseSpace sequentie-hub, rungegevens per cyclus) en zijn niet bedoeld te correleren met het groene en blauwe kanaal.

## Filter voor clusterpassage

Tijdens de run filtert RTA3 onbewerkte gegevens om bepalingen die niet voldoen aan de gegevenskwaliteitsdrempel te verwijderen. Overlappende clusters en clusters van slechte kwaliteit worden verwijderd.

Voor de tweekanaalsanalyse maakt RTA3 gebruik van een populatiegebaseerd systeem om de zuiverheid (intensiteitzuiverheidsmeting) van een basebepaling te bepalen. De clusters passeren het filter (PF) wanneer hooguit één basebepaling in de eerste 25 cycli een zuiverheid heeft die lager is dan een vastgestelde drempel. Indien inbegrepen wordt in cyclus 26 een PhiX-uitlijning uitgevoerd op een subset tegels voor clusters die het filter zijn gepasseerd. Clusters die het filter niet passeren, zijn niet basebepaald en niet uitgelijnd.

## Kwaliteitsscores

Een kwaliteitsscore (Q-score) is een voorspelling van de kans op een onjuiste basebepaling. Een hogere Q-score duidt erop dat een basebepaling van een hogere kwaliteit is en daardoor waarschijnlijk juist is. Na bepaling van de Q-score worden de resultaten in basebepalingsbestanden (\*.cbcl-bestanden) geregistreerd.

Via de Q-score worden op beknopte wijze kleine foutenkansen gecommuniceerd. Kwaliteitsscores worden vermeld als Q(X), waarbij X de score is. De volgende tabel toont de relatie tussen een kwaliteitsscore en de foutenkans.

Q-score Q(X)	Foutenkans
Q40	0,0001 (1 op 10.000)
Q30	0,001 (1 op 1000)
Q20	0,01 (1 op 100)
Q10	0,1 (1 op 10)

## Kwaliteitsscore en rapportage

Voor de kwaliteitsscore wordt voor elke basebepaling een set voorspellers berekend en worden vervolgens de voorspellende waarden gebruikt om de Q-score in een kwaliteitstabel op te zoeken. De kwaliteitstabellen zijn opgesteld om optimaal nauwkeurige kwaliteitsvoorspellingen te doen voor runs die zijn gegenereerd door middel van een specifieke configuratie van sequencingplatform en chemieversie.

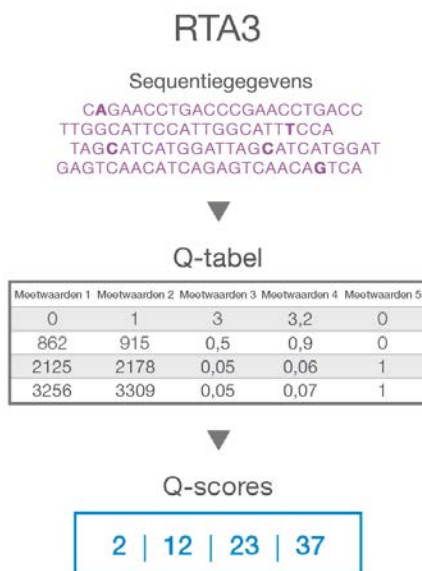


De kwaliteitsscore is gebaseerd op een aangepaste versie van het Phred-algoritme.

De Q-tabel voor de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen is gemaakt door drie groepen basebepalingen te bepalen, gebaseerd op de clustering van deze specifieke voorspellende kenmerken. Na groepering van de basebepalingen werd het gemiddelde foutenpercentage empirisch

berekend voor elk van de drie groepen en werden de overeenkomstige Q-scores in de Q-tabel opgenomen, samen met de voorspellende kenmerken die met die groep correleerden. Er zijn dus met RTA3 maar drie Q-scores mogelijk en deze Q-scores geven het gemiddelde foutenpercentage van de groep weer (*Vereenvoudigde Q-score met RTA3 op pagina 63*). Alles bij elkaar genomen resulteert dit in vereenvoudigde, maar zeer nauwkeurige kwaliteitsscores. De drie groepen in de kwaliteitstabel komen overeen met marginale (< Q15), middelmatige (~Q20) en hoogwaardige (> Q30) basebepalingen, en krijgen de specifieke scores van respectievelijk 12, 23, en 37. Verder wordt aan alle no-calls (niet-bepalingen) een nulscore van 2 toegekend. Met dit Q-score-rapportagemodel is minder opslagruimte nodig en is een lagere bandbreedte vereist zonder dat dit ten koste gaat van de nauwkeurigheid of prestaties.

Afbeelding 7 Vereenvoudigde Q-score met RTA3



## Sequencinguitvoerbestanden

Bestandstype	Bestandsbeschrijving, locatie en naam
Aaneengeschakelde basebepalingsbestanden	Elke geanalyseerde cluster wordt opgenomen in een aaneengeschakeld basebepalingsbestand, samengevoegd in één bestand per cyclus, baan en oppervlak. Het samengevoegde bestand bevat de aaneengeschakelde basebepaling en de gecodeerde kwaliteitsscore voor elke cluster. De aaneengeschakelde basebepalingsbestanden worden gebruikt door BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) of bcl2fastq2. Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, for example L001_1.cbcl

Bestandstype	Bestandsbeschrijving, locatie en naam
Clusterlocatiebestanden	Voor elke stroomcel bevat een binair clusterlocatiebestand de XY-coördinaten voor de clusters in een tegel. De coördinaten hebben een zeshoekige layout die overeenkomt met de nanowell-layout van de stroomcel. Data\Intensities s_[lane].locs
Filterbestanden	Het filterbestand specificeert of een cluster filters is gepasseerd. Filterbestanden worden bij cyclus 26 gegenereerd op basis van gegevens van 25 cycli. Voor elke tegel wordt één filterbestand gegenereerd. Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter
InterOp-bestanden	Binaire rapportagebestanden kunnen op het instrument worden weergegeven met de Instrument-besturingssoftware, of buiten het instrument in SAV of BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). InterOp-bestanden worden gedurende de run bijgewerkt. InterOp-map
Runinformatiebestand	Vermeldt de runnaam, het aantal cycli in elke bepaling, of de bepaling een Index Read (indexbepaling) is, alsmede het aantal stroken en tegels op de stroomcel. Het runinfobestand wordt aangemaakt aan het begin van de run. [Root folder],RunInfo.xml

## Uitvoerbestanden DRAGEN-secundaire analyse

Het DRAGEN Bio-IT Platform voert de verdere analyse uit van uw sequencing-uitvoer op het instrument door gebruik te maken van een van de volgende analysepijplijnen.

- BCL Convert (BCL-conversie)
- Germline (Kiemlijn)
- RNA
- Enrichment (Verrijking)
- Single Cell RNA (Enkele cel RNA)
- DNA Amplicon

In deze sectie staat informatie over elke DRAGEN-pijplijn, met informatie over uitvoerbestanden. DRAGEN genereert bestanden die specifiek zijn voor elke pijplijn, en levert daarnaast meetwaarden van de analyse in een <naam\_monster>.metrics.json-bestand en de rapporten zoals beschreven in



[DRAGEN BCL Convert Pipeline \(DRAGEN-BCL-conversie-pijplijn\)](#) op pagina 70 (DRAGEN-FASTQ genereren-pijplijn). Ga voor meer informatie over DRAGEN naar de [ondersteuningspagina van het DRAGEN Bio-IT Platform](#).

Alle DRAGEN-pijplijnen ondersteunen de decompressie van invoer-BCL-bestanden en de compressie van uitvoer-BAM/CRAM-bestanden.

Overwegingen met betrekking tot uitvoerbestanden:

- Voor de pijplijnen Germline (Kiemlijn), RNA, Enrichment (Verrijking) en DNA Amplicon die analyses op het instrument uitvoeren, worden BAM-bestanden niet geüpload naar BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) als Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, runmonitoring en opslag) is geselecteerd.

### DRAGEN Enrichment Pipeline (DRAGEN-Verrijking-pijplijn)

De DRAGEN Enrichment pipeline (DRAGEN-Verrijking-pijplijn) ondersteunt de volgende functionaliteiten. Bij gebruik van DRAGEN 3.7 of later worden zowel de kiemlijn- als de somatische (alleen tumor)-modus ondersteund.

- Demultiplexen monsters
- Mapping en uitlijning, met inbegrip van sorteren en markeren van duplicaten
- Kleine variantbepaling
- Structurele variantbepaling

Voor de uitvoering van variantbepalingen moet een \*.bed-bestand worden opgenomen in het monsterblad of worden opgegeven in de Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub). Structurele variantbepaling wordt alleen gegenereerd voor paired-end-bepalingen en de kiemlijn-modus.

Bij gebruik van de DRAGEN Enrichment (DRAGEN-Verrijking) versie 3.8 of hoger kunt u een ruisbasislijnbestand invoeren ter verbetering van de prestaties in de somatische modus. Zie [Ruisbasislijnbestanden importeren op pagina 19](#).

De pijplijn genereert de volgende uitvoerbestanden:

Onderdeel	Type	Naam uitvoerbestand
Mapping/uitlijning	BAM of CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.bam of</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.cram</li> </ul>
Kleine variantbepaling	VCF en gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>
Structurele variantbepaling	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.sv.vcf.gz</li> </ul>

\* gVCF-uitvoerbestanden zijn alleen beschikbaar voor de kiemlijnmodus.

## DRAGEN Germline Pipeline (DRAGEN-kiemlijn-pijplijn)

De DRAGEN Germline Pipeline (DRAGEN-kiemlijn-pijplijn) ondersteunt de volgende functionaliteiten:

- Demultiplexen van monsters
- Mapping en uitlijning, met inbegrip van sorteren en markeren van duplicaten
- Kleine variantbepaling
- Structurele variantbepaling voor paired-end-bepalingen
- Kopieaantal-variantbepaling voor menselijke genomen
- Herhaalde expansies voor menselijke genomen
- Homozygositeitsregio's voor menselijke genomen
- **[DRAGEN v3.8 of later]** CYP2D6-detectie

Structurele variantbepaling wordt alleen gegenereerd voor paired-end-bepalingen.

De pijplijn genereert de volgende uitvoerbestanden:

Onderdeel	Type	Naam uitvoerbestand
Mapping/uitlijning	BAM of CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.bam of</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.cram</li> </ul>
Kleine variantbepaling	VCF en gVCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>
Structural variant calling (Structurele variantbepaling)	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.sv.vcf.gz</li> </ul>
Kopieaantal varianten	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.cnv.vcf.gz</li> </ul>
Herhaalde expansie	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.repeats.vcf.gz</li> </ul>
Homozygositeitsregio's	CSV en BED	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.roh_metrics.csv</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.roh.bed</li> </ul>
CYP2D6-detectie	TSV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.cyp2d6.tsv</li> </ul>

## DRAGEN DNA Amplicon Pipeline (DRAGEN-DNA Amplicon-pijplijn)

De DRAGEN-pijplijn ondersteunt de volgende functionaliteiten:

- Demultiplexen van monsters
- Mapping en uitlijning, met inbegrip van sorteren en markeren van duplicaten
- Kleine variantbepaling in de kiemlijn- of somatische modus.

Voor de uitvoering van variantbepalingen moet een \*.bed-bestand worden opgenomen in het monsterblad of worden opgegeven in de Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub).

De pijplijn genereert de volgende uitvoerbestanden:

Onderdeel	Type	Naam uitvoerbestand
Mapping/uitlijning	BAM of CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.bam of</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.cram</li> </ul>
Kleine variantbepaling	VCF en gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.hard-filtered.gvcf.gz</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.hard-filtered.vcf.gz</li> </ul>

\*gVCF-uitvoerbestanden zijn alleen beschikbaar in de kiemlijnmodus.

## DRAGEN RNA Pipeline (DRAGEN-RNA-pijplijn)

De DRAGEN-RNA-pijplijn ondersteunt de volgende functionaliteiten:

- Demultiplexen van monsters
- Mapping en uitlijning, met inbegrip van sorteren en markeren van duplicaten
- Detectie genfusie
- Transcript-kwantificering
- **[DRAGEN v3.8 of later]** Differentiële genexpressie

Om uitvoerbestanden te genereren, specificeert u een GTF-bestand in het monsterblad of controleert u of het referentiegenoom de standaard `genes.gtf.gz` heeft.

De pijplijn genereert de volgende uitvoerbestanden:

Onderdeel	Type	Naam uitvoerbestand	Omschrijving
Mapping/uitlijning	BAM of CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.bam of</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.cram</li> </ul>	Uitlijninguitvoer die voldoet aan de SAM-specificaties.
Detectie genfusie	Platte tekst	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.fusion_candidates.preliminary</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fusiekandidaten vóór toepassing filters.</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.fusion_candidates.final</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fusiekandidaten na toepassing filters.</li> </ul>

Onderdeel	Type	Naam uitvoerbestand	Omschrijving
Transcript-kwantificering	Platte tekst	<ul style="list-style-type: none"> <li>• naam_monster.quant.genes.sf</li> <li>• naam_monster.quant.sf</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultaten transcript-kwantificering op gen-niveau</li> <li>• Alle resultaten transcript-kwantificering</li> </ul>
Differentiële expressie	PNG	Zie de volgende tabel met uitvoerbestanden voor differentieële expressie.	Om uitvoerbestanden te genereren, moet in het monsterblad een vergelijking worden ingesteld.

De volgende bestanden worden uitgevoerd als differentieële expressie is ingeschakeld:

Bestandsnaam	Omschrijving
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	Bevat meetwaarden van analyse van differentieële expressie.
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	Beschrijft het aantal bepalingen dat aan elk gen is gemapt voor elk monster in de controle- en vergelijkingsgroepen.
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	Een heatmap van de expressie van de differentieel tot expressie gebrachte genen voor monsters in de controle- en vergelijkingsgroep. De heatmap toont alleen differentieel tot expressie gebrachte genen met een aangepaste P-waarde $< 0,05$ . Als er meer dan 30 differentieel tot expressie komende genen zijn, wordt alleen de top 30 van de differentieel tot expressie gebrachte genen gebruikt. Als DESeq1 niet convergeert of als er geen differentieel tot expressie gebrachte genen zijn, wordt het bestand niet gegenereerd.

Bestandsnaam	Omschrijving
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	Bevat de variatie van genexpressieverhoudingen als functie van de gemiddelde signaalintensiteit. Om de verschillen tussen metingen van twee monsters weer te geven, worden de gegevens omgezet in M (logverhouding)- en A (gemiddelde)-schalen, en worden vervolgens de waarden uitgezet. Het MA-diagram toont de log <sub>2</sub> -voudige veranderingen die aan een bepaalde variabele kunnen worden toegeschreven ten opzichte van het gemiddelde van de genormaliseerde tellingen voor alle monsters. Als de aangepaste P-waarde kleiner is dan 0,1, zijn de punten rood. Punten die buiten het venster vallen, worden als open driehoeken uitgezet. Naar boven wijzende driehoeken betekenen een positieve log <sub>2</sub> -voudige verandering. Naar beneden wijzende driehoeken betekenen een negatieve log <sub>2</sub> -voudige verandering.
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	Het diagram toont de eerste twee hoofdcomponenten die de meeste variantie verklaren.
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	Bevat DESeq2-resultaten, die de gemiddelde expressie, log <sub>2</sub> (voudige verandering), standaardfout van log <sub>2</sub> , P-waarde, aangepaste P-waarde en de expressiestatus van elk gen beschrijven.
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	Bevat geregulariseerde log-getransformeerde tellingen berekend door DESeq2.

## DRAGEN Single Cell RNA Pipeline (DRAGEN-enkele cel RNA-pijplijn)

De DRAGEN-pijplijn ondersteunt de volgende functionaliteiten:

- Demultiplexen van monsters
- Mapping en uitlijning, met inbegrip van sorteren en markeren van duplicaten
- Cel- en genclassificatie

Om uitvoerbestanden te genereren, specificeert u een GTF-bestand in het monsterblad of controleert u of het referentiegenoom de standaard `genes.gtf.gz` heeft.

De pijplijn genereert de volgende uitvoerbestanden:

Onderdeel	Type	Naam uitvoerbestand
Mapping/uitlijning	BAM of CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.bam of</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.cram</li> </ul>
Cel-/genclassificatie	TSV, CSV en MTX	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;naam_monster&gt;.scRNA.barcodeSummary.tsv</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.scRNA.genes.tsv</li> <li>• &lt;naam_monster&gt;.scRNA.matrix.mtx</li> </ul>
Analyserapporten	HTML	<naam_monster>.dragen.scrna-report.*.html

### DRAGEN BCL Convert Pipeline (DRAGEN-BCL-conversie-pijplijn)

De DRAGEN BCL Convert Pipeline (DRAGEN-BCL-conversie-pijplijn) gebruikt BCL-gegevens die zijn gegenereerd uit uw sequencing-run en monsterblad informatie om voor elk monster een FASTQ-bestand uit te voeren. De FASTQ-bestandsnaam is <naam\_monster>.fastq.gz.

De pijplijn genereert de volgende rapporten:

Onderdeel	Type	Naam uitvoerbestand
Demultiplexen	CSV	• Demultiplex_Stats.csv
Meetgegevens adapter	CSV	• Adapter_Metrics.csv
Index wisselen	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv
Top onbekende streepjescodes	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv

### Demultiplexen-statistiekrapport

Het demultiplexen-statistiekrapport bevat informatie over het aantal doorlaatfilter-bepalingen die zijn toegewezen aan elk monster in het monsterblad. Bepalingen die niet duidelijk verband houden met een monster worden geclassificeerd als onbepaald. Het rapport bevat ook informatie over de kwaliteitsscores van de basen in de doorlaatfilter (passing filter, PF)-bepalingen die aan elk monster zijn toegewezen.

De volgende informatie is erin opgenomen:

Metrisch gegeven	Omschrijving
Lane	De baan in de stroomcel waar het monster werd gesequenced.

Metrisch gegeven	Omschrijving
SampleID	De monster-ID van het monsterblad. Als een bepaling niet overeenkomt met een monster, staat er in het veld <i>onbepaald</i> .
Index	De aaneenschakeling van Index Read 1 (Indexbepaling 1) en Index Read 2 (Indexbepaling 2) van het monsterblad, gescheiden door een verbindingsstreepje. Als een bepaling niet overeenkomt met een monster, staat er in het veld <i>onbepaald</i> .
# Reads	Het aantal gedemultiplexte PF-bepalingen voor het monster in de gespecificeerde baan.
# Perfect Index Reads	Aantal bepalingen met een perfecte overeenkomst met de gecombineerde indexsequenties zoals gespecificeerd in het monsterblad.
# One Mismatch Index Reads	Aantal bepalingen met één fout in de gecombineerde indexsequenties zoals gespecificeerd in het monsterblad.
# of ≥ Q30 Bases (PF)	Aantal basen, met inbegrip van adapters, dat overeenkomt met bepalingen die boven een Q30-kwaliteitsdrempel komen.
Mean Quality Score (PF)	De gemiddelde kwaliteitsscore voor de bepalingen die overeenkomen met het monster in de gespecificeerde baan. De waarde is inclusief adapterbasen.

## Adapter Metrics Reports

Het adaptermeetwaardenbestand bevat het aantal adapter- en monsterbasen dat bij elke bepaling hoort.

De volgende informatie is erin opgenomen:

Metrisch gegeven	Omschrijving
Lane	De baan in de stroomcel waar het monster werd gesequenced.
Sample_ID	De monster-ID van het monsterblad. Als een bepaling niet overeenkomt met een monster, staat er in het veld <i>onbepaald</i> .
index	De index1-sequentie van het monsterblad. Het veld is leeg als de index niet in het monsterblad is gespecificeerd of als de monster-ID-waarde <i>onbepaald</i> is.
index2	De index2-sequentie van het monsterblad. Het veld is leeg als index2 niet in het monsterblad is gespecificeerd of als de monster-ID-waarde <i>onbepaald</i> is.

Metrisch gegeven	Omschrijving
R1_AdapterBases	Aantal basen dat overeenkomt met AdapterRead1 (Adapterbepaling 1) in het monsterblad.
R1_SampleBases	Aantal getrimde of gemaskeerde basen van Read 1 (Bepaling 1) voor de overeenkomstige baan en het overeenkomstige monster.
R2_AdapterBases	Aantal basen dat overeenkomt met AdapterRead2 (Adapterbepaling 2) in het monsterblad.
R2_SampleBases	Aantal getrimde of gemaskeerde basen van Read 2 (Bepaling 2) voor de overeenkomstige baan en het overeenkomstige monster.
# Reads	Aantal bepalingen voor het monster in de gespecificeerde baan.

## Index Hopping Counts Report

Het index hopping counts report (rapport tellingen indexwisseling) bevat het aantal bepalingen voor elke verwachte en gewisselde index voor runs met dubbele indexering. Het rapport bevat alleen unieke dubbele indexen per baan waarbij in geen van beide indexen een conflict met een streepjescode is gedetecteerd. Om indexwisseling-metwaarden voor een baan te genereren, moet elk paar vermeldingen binnen elke index een hammingafstand van minstens  $2N + 1$  hebben, waarbij  $N$  de voor de index gespecificeerde streepjescodemismatchtolerantie is.

De volgende informatie is erin opgenomen:

Voor nonindex-runs, runs met een enkele index of banen die geen unieke dubbele indexen bevatten, bevat het bestand alleen de kopregels.

Metrisch gegeven	Omschrijving
Lane	De baan in de stroomcel waar het monster werd gesequenced.
# Reads	Aantal bepalingen voor het monster in de gespecificeerde baan.
SampleID	De monster-ID van het monsterblad. Als een bepaling niet overeenkomt met een monster, staat er in het veld <code>onbepaald</code> .
index	De index1-sequentie van het monsterblad. Het veld is leeg als een bepaling single-ended (enkel uiteinde) is of als de monster-ID-waarde <code>onbepaald</code> is.
index2	De index2-sequentie van het monsterblad. Het veld is leeg als een bepaling single-ended (enkel uiteinde) is of als de monster-ID-waarde <code>onbepaald</code> is.



## Top Unknown Barcodes Report

Het Top Unknown Barcodes Report (rapport top onbekende streepjescodes) bevat de top 100 van index- of indexparen per baan die in het monsterblad niet waren geïdentificeerd op basis van het aantal toegestane mismatches. Als er meerdere indexwaarden zijn die de 100e hoogste indextellingvermelding hebben, worden alle indexwaarden met dezelfde telling als de 100e vermelding uitgevoerd.

De volgende informatie is erin opgenomen:

Metrisch gegeven	Omschrijving
Lane	De baan in de stroomcel waar het monster werd gesequenced.
index	De sequentie voor elke onbekende index in index Read1 (Bepaling 1). Het veld is leeg als er geen onbekende indexen zijn gevonden.
index2	De sequentie voor elke onbekende index in index Read 2 (Bepaling 2). Het veld is leeg als de run single-read (enkele bepaling) was of als er geen onbekende indexen zijn gevonden.
# Reads	Aantal bepalingen voor het monster in de gespecificeerde baan.

## Illumina DRAGEN-QC-rapporten

Voor alle pijplijnen genereert DRAGEN FastQC standaard QC-diagrammen. Samengevoegde QC-resultaten worden opgeslagen in de map `AggregatedFastqcMetrics` en resultaten per monster worden opgeslagen in de map `<naam_monster>`.

QC-rapporten worden niet gegenereerd als het aantal monsters groter is dan 512.

De volgende QC-diagrammen zijn beschikbaar:

QC-diagram	Omschrijving
adapter_content	Het percentage sequenties voor elk basenpaar.
positional_mean_quality	Gemiddelde basekwaliteitsscore op de Phred-schaal voor elke bepalingenpositie.
gc_content	Het GC-gehaltepercentage voor elke sequencingbepaling.
positional_quality.read_1	Gemiddelde kwaliteitswaarde op de Phred-schaal van basen met een specifieke nucleotide en op een bepaalde locatie in Read 1 (Bepaling 1).
gc_quality	

QC-diagram	Omschrijving
positional_quality.read_2	Gemiddelde kwaliteitswaarde op de Phred-schaal van basen met een specifieke nucleotide en op een bepaalde locatie in Read 2 (Bepaling 2).
n_content	
read_length	De sequentielengte voor elke bepaling.
positional_base_content.read_1	Aantal basen van elk specifiek nucleotide op gegeven locaties in Read 1 (Bepaling 1).
read_quality	Gemiddelde kwaliteitsscore op de Phred-schaal voor elke sequencingbepaling.
positional_base_content.read_2	Aantal basen van elk specifiek nucleotide op gegeven locaties in Read 2 (Bepaling 2).

## Uitvoermapstructuur secundaire DRAGEN-analyse

Standaard genereert DRAGEN uitvoerbestanden in de uitvoermap die in het tabblad Settings (Instellingen) is geselecteerd. Voor elke workflow produceert DRAGEN een samenvattend rapport in het `report.html`-bestand.

### 📁 Data

📄 `report.html`

📄 `report_files`

### 📁 AggregateFastQCPlots

📄 `*.png`

📄 `*stderr_.txt`

📄 `*stdout_.txt`

📄 `dragen_prev_48_hrs.log`

📄 `d1m_prev_48_hrs.log`

📄 `SampleSheet.csv`

📄 Runinvoerbestanden (bijv. BED-, GTF-bestanden)

### 📁 sample\_name


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


#### 📁 sample\_name


📄 `*.png`

📄 `dragen_*.log`


- 📄 sample\_name.\*.metrics.csv
- 📄 [DNA] sample\_name.\*.vcf.gz
- 📄 [DNA] sample\_name.\*.vcf.gz — Niet beschikbaar voor de pijplijn DRAGEN Bio-IT Platform Amplicon (somatisch).
- 📄 sample\_name.\*.bam of sample\_name.\*.cram
- 📄 Logboeken
- 📄 [RNA] sample\_name.fusion\_candidates.filter\_info
- 📄 [RNA] sample\_name.fusion\_candidates.final
- 📄 [RNA] sample\_name.quant.genes.sf
- 📄 [RNA] sample\_name.quant.sf
- 📄 sample\_name.metrics.json
- 📄 [scRNA] sample\_dragen-scrna-report.\*.html
- 📄 [scRNA] sample\_name.scRNA.barcodeSummary.tsv
- 📄 [Germline] sample\_name.roh\_metrics.csv
- 📄 [Germline] sample\_name.roh.bed
- 📄 [Germline] sample\_name.cyp2d6.tsv
- 📄 sample\_name.fastqc\_metrics.csv
- 📄 sample\_name.trimmer\_metrics.csv
- 📁 [RNA] DifferentialExpression
  - 📁 Comparison1
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.differential\_expression\_metrics.csv
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.counts.csv
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.disp.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.heatmap.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.ma.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.pca.pdf
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.res.csv
    - 📄 Control\_vs\_Comparison.genes.rlog.csv
  - 📁 ComparisonN
- 📁 logs
  - 📄 \*.txt

 \*.csv

 **fastq** — Alleen beschikbaar als KeepFastq is ingesteld op true.


 \*.fastq.gz


 **ora\_fastq** — Alleen beschikbaar als FastqCompressionFormat is ingesteld op 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** — Alleen voor paired-end-bepalingen.


 **0001**


 dataset.json


 **0002**


 dataset.json


 Adapter\_Metrics.csv

 Demultiplex\_Stats.csv

 Index\_Hopping\_Counts.csv

 **Read1Metrics** — Alleen voor paired-end-bepalingen.

 Adapter\_Metrics.csv


 Index\_Hopping\_Counts.csv

# Onderhoud

In deze sectie worden de procedures beschreven die nodig zijn om het systeem gezond te houden. Leer hoe u software-updates installeert, het luchtfilter vervangt en andere periodieke onderhoudsprocedures uitvoert. Het up-to-date houden van de besturingssoftware zorgt ervoor dat het systeem de meest recente bug-fixes en functionaliteit geïnstalleerd heeft en optimaal kan presteren.

## Ruimte op harde schijf vrijmaken

Een sequencing-run heeft ongeveer 200 GB ruimte op de harde schijf nodig. Wanneer er weinig ruimte is, verschijnt er een waarschuwingsmelding. Voer de volgende stappen uit om ruimte vrij te maken door voltooide runs en geïnstalleerde referentie-genomen uit een tijdelijke run-map te verwijderen.

 Verwijder runs alleen via de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware, en niet handmatig via het besturingssysteem. Het handmatig verwijderen van runs kan een negatief effect hebben op de besturingssoftware.

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Disk Management** (Schijfbeheer).  
Het scherm Disk Management (Schijfbeheer) opent met een lijst met runs en referentiegenomen die op de lokale harde schijf zijn opgeslagen.
2. Selecteer **Delete Run** (Run verwijderen) voor de run die u wilt verwijderen.  
Door het verwijderen van een run wordt de lokale runmap verwijderd. De uitvoermap, dit is een kopie van de runmap, blijft wel bewaard.
3. Selecteer **Yes, Delete Run** (Ja, run verwijderen) in het dialoogvenster om het verwijderen van de run te bevestigen.
4. Herhaal stappen 2 en 3 voor elke run die u wilt verwijderen.
5. Selecteer **Delete Genome** (Genoom verwijderen) voor het genoom dat u wilt verwijderen.
6. Selecteer **Yes, Delete Genome** (Ja, genoom verwijderen) in het dialoogvenster.
7. Herhaal stap 5 en 6 voor elk genoom dat u wilt verwijderen.
8. Sluit Disk Management (Schijfbeheer) af om terug te keren naar het scherm Home (Start) wanneer u klaar bent.

## Software-updates

Door het updaten van de software beschikt uw systeem altijd over de nieuwste functies en probleemoplossingen. Software-updates worden gebundeld tot een systeempakket die de volgende software bevat:

- NextSeq 1000/2000-besturingssoftware
- NextSeq 1000/2000-voorschriften
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

**i** | DRAGEN-modules zijn geen onderdeel van het systeempakket. Deze kunt u eventueel afzonderlijk installeren. Open de DRAGEN-modulesoftware via de ondersteuningspagina's.

Het systeem is geconfigureerd om software-updates automatisch of handmatig te downloaden:

- **Automatische updates** — Updates worden automatisch gedownload vanaf BaseSpace Sequence Hub zodat u die kunt installeren. Hiervoor is een internetverbinding nodig, maar geen BaseSpace Sequence Hub-account.
- **Handmatige updates** — Updates worden handmatig gedownload van het web, lokaal of op een draagbare schijf opgeslagen en geïnstalleerd vanaf de opslaglocatie. Voor deze optie heeft het instrument geen internetverbinding nodig.

### Een automatische software-update installeren

1. Controleer of er geen sequencing-runs of secundaire analyses op het instrument bezig zijn.
2. Log in bij ilmnadmin.
3. Selecteer **Software Update** (Software-update) in het besturingssoftwaremenu. Systemen die zijn ingesteld op automatisch zoeken naar updates wordt een melding weergegeven wanneer er een software-update beschikbaar is.
4. Om te controleren of er een update is, selecteert u **Check Online for Software Update** (Online controleren op software-update).
5. Selecteer **Update Now** (Nu updaten) om de nieuwe softwareversie te downloaden. Zodra de download is voltooid, wordt de besturingssoftware afgesloten en wordt de installatiewizard geopend.  
De besturingssoftware start automatisch opnieuw op. Firmware-updates worden automatisch geïnstalleerd nadat het systeem opnieuw is gestart.

**i** | Nadat de installatie is begonnen, is een update niet meer te annuleren. U kunt een update alleen tijdens het downloaden annuleren.

## Een handmatige software-update installeren

1. Log in bij ilmnadmin.
2. Controleer of er geen sequencing-runs of secundaire analyses op het instrument bezig zijn.
3. Wanneer er een software-update beschikbaar is, kunt u het pakketinstallatieprogramma (\*.tar.gz) downloaden van de ondersteuningspagina van de [NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen](#). Sla het installatieprogramma op een lokale of draagbare schijf op.
4. Als u het installatieprogramma op een draagbare schijf heeft opgeslagen, sluit deze dan aan via de USB 3.0-poort, die zich bevindt aan de zijkant en de achterkant van het instrument.
5. Selecteer in de besturingssoftware **Software Update** (Software-update) in het besturingssoftwaremenu.
6. Selecteer **Choose...** (Kiezen...) om naar het installatieprogramma te navigeren.
7. Selecteer **Update Now** (Nu updaten) om de installatie te starten.  
De besturingssoftware laat tijdens de installatie een voortgangsindicator zien.  
De besturingssoftware start automatisch opnieuw op. Firmware-updates worden automatisch geïnstalleerd nadat het systeem opnieuw is gestart.



Nadat de installatie is begonnen, is een update niet meer te annuleren. U kunt een update alleen tijdens het downloaden annuleren.

## DRAGEN-workflow- en -licentie-updates

Alleen systeembeheerders kunnen DRAGEN-workflows installeren en de DRAGEN-licentie vernieuwen.

### DRAGEN-licentie online vernieuwen

Als de NextSeq 1000/2000 is verbonden met internet, werk dan uw licentie voor DRAGEN Bio-IT Platform als volgt bij:

1. Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina voor een nieuwe licentiesleutel.
2. Wacht 24 uur tot de licentie automatisch wordt bijgewerkt of werk de licentie meteen als volgt bij.
  - a. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **DRAGEN**.
  - b. Selecteer **Check Online** (Online controleren) om te controleren of een nieuwe DRAGEN-licentiesleutel beschikbaar is.
  - c. Als dat het geval is, selecteer dan **Update** (Bijwerken).

### DRAGEN-licentie offline vernieuwen

Als de NextSeq 1000/2000 niet is verbonden met internet, werk dan uw licentie voor DRAGEN Bio-IT Platform als volgt bij:



1. Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina voor een nieuwe licentiesleutel. Sla het bestand `license.zip` op een lokale of draagbare schijf op.
2. Als u het \*.zip-bestand op een draagbare schijf heeft opgeslagen, sluit deze dan aan via de USB 3.0-poort, die zich bevindt aan de zijkant en de achterkant van het instrument. Verplaats het instrument eventueel voorzichtig om bij de achterkant te kunnen komen.
3. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **DRAGEN**.
4. Selecteer **Choose** (Kiezen) om naar het \*.zip-bestand te navigeren en selecteer vervolgens **Open** (Openen).

## DRAGEN-workflows online installeren

Als de NextSeq 1000/2000 is verbonden met internet, kunt u DRAGEN-workflows rechtstreeks in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware installeren. Het online installeren van DRAGEN-workflows is alleen beschikbaar in NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3.

1. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **Process Management** (Procesbeheer).
2. Controleer of er geen sequencing-runs of secundaire analyses op het instrument bezig zijn.
3. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **DRAGEN**.  
Onder Version (Versie) staan in de sectie Available Workflows (Beschikbare workflows) de workflows die momenteel op het systeem geïnstalleerd zijn.
4. Om DRAGEN-workflows in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware te installeren, selecteert u **Check Online** (Online controleren).  
Niet alle DRAGEN-versies en -workflows zijn compatibel met online installatie. Voer de installatie van aanvullende workflows offline uit.
5. Selecteer de workflows die u wilt installeren door het selectievakje ervan aan te vinken. Installeer eerst de laatste versie van BCL Convert (BCL-conversie), als deze workflow nog niet is geïnstalleerd.  
U kunt informatie over de laatste versie van een workflow bekijken in de release notes (release-opmerkingen).
6. Selecteer **Install** (Installeren) om de installatie te starten.
7. Voer voor het systeemwachtwoord `ilmnadmin` in en selecteer vervolgens **Authenticate** (Verificatie).

## DRAGEN-workflows offline installeren

1. Als er een update van een DRAGEN-workflow beschikbaar is, download dan het installatieprogramma (\*.tar.gz) van de [DRAGEN support page](#) (DRAGEN-ondersteuningspagina). Sla het installatieprogramma op een lokale of draagbare schijf op.

2. Als u het installatieprogramma op een draagbare schijf heeft opgeslagen, sluit deze dan aan via de USB 3.0-poort, die zich bevindt aan de zijkant en de achterkant van het instrument. Verplaats het instrument eventueel voorzichtig om bij de achterkant te kunnen komen.
3. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **Process Management** (Procesbeheer).
4. Controleer of er geen sequencing-runs of secundaire analyses op het instrument bezig zijn.
5. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **DRAGEN**.
6. Om naar het installatieprogramma te navigeren, selecteert u onder Version (Versie) **Browse for New Version** (Bladeren voor nieuwe versie) .
7. Selecteer **Install** (Installeren) om de installatie te starten.
8. Voer voor het systeemwachtwoord ilmadmin in en selecteer vervolgens **Authenticate** (Verificatie).

## Het luchtfilter vervangen

Ga als volgt te werk om een vervallen luchtfilter te vervangen. Doe dit om de 6 maanden.

Het luchtfilter is een rechthoekige cartridge voor eenmalig gebruik die de ventilator aan de rechterkant van het instrument afdekt. Het zorgt voor voldoende koeling en voorkomt dat er vuil in het systeem komt. Het instrument wordt verzonden met één luchtfilter geïnstalleerd en één reservefilter. Bij een geldig servicecontract voor het instrument zijn extra reserveonderdelen inbegrepen. Ze kunnen ook apart worden aangeschaft bij Illumina.

1. Druk rechts op het bovenpaneel aan de bovenkant van het instrument om dit te ontgrendelen, zoals getoond in de volgende illustratie.



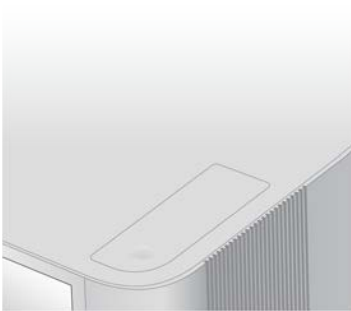
2. Open het paneel.



3. Druk zodat de luchtfiltercartridge loskomt, vervolgens de luchtfiltercartridge wegnemen van het midden van het paneel en weggooien.



4. Breng een nieuw luchtfilter in de houder en druk het vast.
5. Sluit het bovenpaneel en druk het op zijn plaats.



6. Zet het instrument weer op de gewenste locatie.

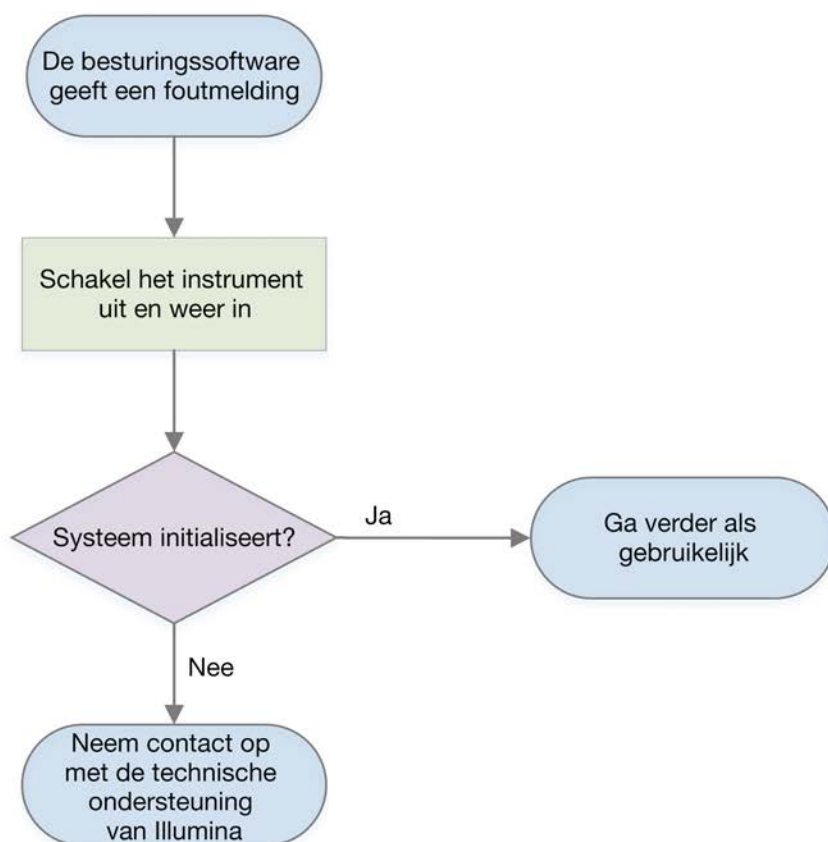
# Problemen oplossen

Deze sectie bevat stapsgewijze instructies voor het annuleren van een run, het uit- en inschakelen van het instrument en andere procedures voor het oplossen van problemen.

## Oplossing foutmeldingen

Deze bijlage bevat gedetailleerde instructies voor diverse probleemoplossingen. Het volgende stroomschema biedt een overzicht van oplossingen voor foutmeldingen die tijdens initialisatie, de runinstelling of sequencing verschijnen en die niet worden verholpen door de procedure nogmaals uit te voeren.

Veel fouten kunnen worden verholpen door uit- en inschakelen: schakel het instrument uit en weer in. Zie [Het instrument uit- en weer inschakelen op pagina 86](#) voor meer informatie over uit- en inschakelen.



## Verbruiksartikelen terugzetten in de opslag

Ga als volgt te werk om een ontdoode cartridge en stroomcel te bewaren in geval van een instrumentfout tijdens de pre-runcontrole van het instrument voorafgaand aan de vloeistoffencontrole.

1. Haal de stroomcel uit de cartridge.
2. Verwijder de verdunde bibliotheek uit het reservoir en gooi deze weg (tot ~18 µl).

**!** | Maak een verse verdunning van dezelfde bibliotheek voor de volgende run om kruisbesmetting van het monster met resterende bibliotheek in het reservoir te voorkomen.

3. Plaats de cartridge op zodanige wijze in een opslag van 2 °C tot 8 °C dat het etiket naar boven is gericht en dat lucht langs alle zijanten kan circuleren.  
Dit mag niet langer dan 72 uur duren. Als de cartridge gedurende 12 uur 's nachts in de koelkast is ontdooid, mag hij niet langer dan 60 uur worden bewaard.
4. Doe de stroomcel terug in de oorspronkelijke zilverfolieverpakking met het droogmiddel.
5. Plak de folieverpakking dicht en bewaar deze bij 2 °C tot 8 °C.  
Dit mag niet langer dan 72 uur duren.

## Een run annuleren

1. Selecteer **End Run** (Run beëindigen).
2. Om de reagenscartridge automatisch te spoelen, vinkt u het selectievakje **Purge Reagent Cartridge** (Reagenscartridge spoelen) aan.  
De standaardselectie is geconfigureerd in de NextSeq 1000/2000-besturingssoftwareinstellingen.
3. Selecteer **Yes, end the sequencing run** (Ja, beëindig de sequencing-run).  
Het annuleren van een run is definitief. Na de instrumentcontrole van pre-runcontroles kan de software de run niet hervatten en kunnen verbruiksartikelen niet opnieuw worden gebruikt.
4. Selecteer **Eject Cartridge** (Cartridge uitwerpen) om de kap te openen en haal de bak eruit.
5. Verwijder de cartridge uit de bak.
6. Bewaar de cartridge of voer deze af, afhankelijk van wanneer de annulering plaatsvond:

Omstandigheid	Instantie
U annuleerde voor of tijdens de pre-runcontrole van het instrument en wilt de verbruiksartikelen opnieuw gebruiken.	Zie <a href="#">Verbruiksartikelen terugzetten in de opslag op pagina 85</a> .
Alle overige omstandigheden.	Zie <a href="#">Verbruiksartikelen uitladen op pagina 55</a> .

7. Selecteer **Close Door** (Deur sluiten) om de bak opnieuw te laden en terug te keren naar het scherm Home (Start).  
De sensoren bevestigen het verwijderen van de cartridge.

## Een run opnieuw uitvoeren

Als de Status of Secondary Analysis (Status secundaire analyse) in Process Management (Procesbeheer) een fout aangeeft, kunt u de run opnieuw uitvoeren om de DRAGEN-analyse op het instrument opnieuw te doen met de gegenereerde cBCL-bestanden. De oorspronkelijke runmap moet nog op het instrument bestaan om de run opnieuw uit te kunnen voeren. Door deze functionaliteit te gebruiken, worden runs in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) niet opnieuw uitgevoerd. Voor het opnieuw uitvoeren van runs in de BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace sequentie-hub) zie Fix Sample Sheet (Monsterblad corrigeren) in BaseSpace Sequence Hub Help Center (BaseSpace sequentie-hubhelpcentrum).

1. Werk uw monsterblad v2 bij en sla het monsterblad vervolgens op op een draagbaar of gekoppeld netwerkstation.
2. Als u het monsterblad op een draagbare schijf heeft opgeslagen, sluit deze dan aan via de USB 3.0-poort, die zich bevindt aan de zijkant en de achterkant van het instrument. Verplaats het instrument eventueel voorzichtig om bij de achterkant te kunnen komen.
3. Selecteer het besturingssoftwaremenu en selecteer vervolgens **Process Management** (Procesbeheer).
4. Controleer of er geen sequencing-runs of secundaire analyses op het instrument bezig zijn.
5. Selecteer **Requeue** (Opnieuw uitvoeren) naast de voltooide run om deze opnieuw uit te voeren.
6. Selecteer **Choose** (Kiezen) om naar het bijgewerkte monsterblad te navigeren en selecteer vervolgens **Open** (Openen).
7. Selecteer **Start Requeue** (Opnieuw uitvoeren starten).

## Het instrument uit- en weer inschakelen

Door het instrument uit en weer in te schakelen wordt het systeem veilig afgesloten en weer opgestart om een verbroken verbinding te herstellen, een specificatie uit te lijnen of om een mislukte initialisatie te herstellen. Met behulp van softwaremeldingen wordt aangegeven wanneer het systeem opnieuw moet worden gestart om een fout of waarschuwing op te lossen.

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **Shut Down Instrument** (Instrument uitschakelen).
2. Als het systeem niet uitschakelt, houdt u de aan/uit-knop aan de rechterzijde van het instrument ingedrukt tot de lampjes uitgaan.
3. Als de aan/uit-knop knippert, drukt u de tuimelschakelaar op het achterpaneel in de uit-positie (O). Na het uitschakelen van de voeding kan de aan/uit-knop blijven knipperen.

Afbeelding 8 Locatie tuimelschakelaar



4. Wacht 30 seconden.
5. Druk op de inschakelzijde (I) van de tuimelschakelaar.
6. Wacht 30 seconden als de aan/uit-knop begint te knipperen, en druk hem dan in.

Afbeelding 9 Locatie aan/uit-knop



7. Wacht ongeveer 5 minuten tot het besturingssysteem geladen is. Als het besturingssysteem is geladen, kunt u zich aanmelden bij het systeem.  
De besturingssoftware wordt gestart en het systeem wordt geïntialiseerd. Wacht ongeveer 5 minuten op de initialisatie van het systeem. Na afronding van de initialisatie wordt het scherm Home (Start) geopend.

## Een systeemcontrole uitvoeren

Bij een normale werking of normaal onderhoud van het instrument is een systeemcontrole niet vereist. Een vertegenwoordiger van de technische ondersteuning van Illumina kan u echter vragen om een systeemcontrole uit te voeren in verband met het oplossen van problemen.

Vier subsysteemcontroles nemen ongeveer 58 minuten in beslag om fouten die bij de pre-runcontrole aan het licht komen en andere kwesties op te lossen. De tests bevestigen of de onderdelen goed zijn uitgelijnd en correct functioneren.

De testresultaten worden uitgevoerd naar de map `system-check` in `/usr/local/illumina/system-check`.

Zorg ervoor dat de cartridge is uitgeladen voordat u systeemcontroles uitvoert.

## Een systeemcontrole uitvoeren

1. Selecteer in het besturingssoftwaremenu **System Checks** (Systeemcontroles).
2. Vink het selectievakje aan voor een van de volgende systeemcontroles die u wilt uitvoeren.
  - **Network Connectivity** (Netwerkverbindingen) — Controleert de status en prestaties van uw netwerkverbinding.
  - **Enclosure** (Behuizing) — Controleert de werking van het thermische systeem en het hefmechanisme van de kap.
  - **Motion** (Beweging) — Controleert de eindposities en prestaties van de Z-fase en de XY-fase.
  - **Optics** (Optica) — Controleert de prestaties van de beeldvormingsmodule.
3. Selecteer **Start** (Starten).

## Fabrieksinstellingen terugzetten

Zet het systeem terug naar de fabrieksinstellingen om de software te downgraden of als herstelmaatregel na een ongewenste configuratie. Deze functionaliteit mag alleen worden gebruikt door een vertegenwoordiger van Illumina.

## Installatie-image vastleggen

Leg een systeemimage vast om een back-up te maken van een goed functionerende software-installatie. Deze systeemimage kan op een later moment worden teruggezet. Het is raadzaam de systeemimage onmiddellijk vast te leggen nadat u de eerste installatie heeft voltooid en uw wachtwoord heeft gewijzigd met een vertegenwoordiger van Illumina.

1. Start Linux opnieuw op.
2. Wanneer u wordt gevraagd een besturingssysteem te kiezen, selecteert u **Capture Installed Image** (Installatie-image vastleggen).

De besturingssysteemopties worden kort weergegeven voordat automatisch wordt verdergegaan met de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware.



Er wordt slechts één image in het geheugen bewaard, dus dit zal de eerder vastgelegde image overschrijven.

3. Wacht ongeveer 30 minuten totdat het systeem de huidige installatie-image heeft vastgelegd. Tijdens het vastleggen van de image kan het systeem diverse malen opnieuw worden opgestart. Wanneer dit voltooid is, start het systeem opnieuw op met de huidige installatie-image opgeslagen in het geheugen.




## Vastgelegde image terugzetten

Zet het systeem terug naar de eerder vastgelegde image om te herstellen van een ongewenste configuratie.

1. Start Linux opnieuw op.
2. Wanneer u wordt gevraagd een besturingssysteem te kiezen, selecteert u **Restore Installed Image** (Installatie-image terugzetten).

De besturingssysteemopties worden kort weergegeven voordat automatisch wordt verdergegaan met de NextSeq 1000/2000-besturingsssoftware.

 | Wachtwoorden zijn gebonden aan de systeemimage. Gebruik na de terugzetting het wachtwoord van de teruggezette image om in te loggen in het systeem.

3. Wacht ongeveer 30 minuten tot het terugzetten is voltooid.  
Voor het terugzetten moet het systeem mogelijk diverse malen opnieuw worden opgestart. Wanneer dit voltooid is, start het systeem opnieuw op met de teruggezette image.

# Hulpmiddelen en referenties

## Monsterblad v2-instellingen

Als u in de Local mode (lokale modus) werkt, kunt u de monsterblad v2-bestandsindeling gebruiken om uw runinstellingen te configureren. Maak het monsterblad aan in Instrument Run Setup (Runinstelling instrument) of door het *monsterblad v2-sjabloon in de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen* te bewerken. Wanneer u het monsterblad bewerkt, moet u ervoor zorgen dat de volgende secties en velden in de vermelde volgorde erin zijn opgenomen en aan de vereisten voldoen. Zend het monsterblad na bewerking via een draagbaar of gekoppeld netwerkstation over naar de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen. Wanneer u in de besturingssoftware naar het monsterblad navigeert, wordt dit gekopieerd naar een pre-runmap op het instrument, zodat de draagbare schijf kan worden verwijderd.

Zorg ervoor dat uw monsterblad v2-instellingen voldoen aan de volgende vereisten:

- De indexsequenties die in de monsterbladsectie BCLConvert\_Data zijn gespecificeerd, moeten overeenkomen met de indexkit die in de NextSeq 1000/2000 is geselecteerd.
- Bij gebruik van de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.2 moet de DRAGEN-versie die in het monsterblad wordt vermeld, op het systeem geïnstalleerd en actief zijn. Zie voor installatie-informatie [Software-updates op pagina 79](#) (Software-updates).
- Bij gebruik van de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3 moet de DRAGEN-versie die in het monsterblad wordt vermeld, op het systeem geïnstalleerd zijn. De besturingssoftware v1.3 detecteert automatisch de DRAGEN-versie van het monsterblad en vraagt u zonnodig om over te schakelen op een andere actieve versie. Zie [Software-updates op pagina 79](#) voor informatie over het installeren.

Bij gebruik van DRAGEN moet u extra instellingen configureren. Zie voor meer informatie [DRAGEN-monsterblad-instellingen op pagina 94](#)

Download het monsterblad v2-sjabloon van Product Files (Productbestanden) op de ondersteuningspagina van de NextSeq 1000- en NextSeq 2000-sequencingssystemen. Als u een monsterblad heeft aangemaakt met Instrument Run Setup (Runinstelling instrument), kan wijziging van het monsterblad nadat het eerst is gedownload ertoe leiden dat de analyse mislukt.

Bestandsnamen mogen geen speciale tekens bevatten.

### Vereisten voor [Header (Kopregel)]

De sectie [Header (Kopregel)] bevat algemene informatie over uw run. Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [Header (Kopregel)].

Veld	Vereist	Omschrijving
FileFormatVersion	Ja	De versie van het monsterblad. Voer 2 in voor de waarde.
RunName	Nee	Unieke runnaam naar keuze. De RunName mag alfanumerieke tekens, onderstrepingstekens, streepjes en punten bevatten. Als de RunName spaties of speciale tekens bevat, mislukt de analyse.
RunDescription	Nee	Beschrijving van de run.
InstrumentPlatform	Nee	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	Nee	NextSeq 1000/2000

### Vereisten voor [Reads (Bepalingen)]

De sectie [Reads (Bepalingen)] beschrijft het aantal gebruikte sequencingcycli voor genoom- en indexbepaling 1 en 2. Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [Reads] (Bepalingen).

Veld	Vereist	Omschrijving
Read1Cycles	Ja	Aantal cycli in de eerste bepaling. De waarde moet een geheel getal groter dan nul zijn.
Read2Cycles	Nee	Aantal cycli in de tweede bepaling.
Index1Cycles	Nee	Aantal cycli in de eerste indexbepaling. Vereist bij sequencing van meer dan één monster. Het maximale aantal cycli is 10.
Index2Cycles	Nee	Aantal cycli in de tweede indexbepaling. Het maximale aantal cycli is 10.

## Vereisten voor [Sequencing\_Settings (Sequencinginstellingen)]

In de sectie [Sequencing\_Settings (Sequencinginstellingen)] specificeert u welke bibliotheekvoorbereidingskit u gebruikt.

Veld	Vereist	Omschrijving
LibraryPrepKits	Nee	<p>Uw bibliotheekvoorbereidingskit. Er is slechts één bibliotheekvoorbereidingskit toegestaan.</p> <p>In de NextSeq 1000/2000-besturingssoftware v1.3 wordt het vereiste aangepaste voorschrift automatisch geselecteerd als de Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kit (strengspecifiek totaal RNA voorbereiding met Ribo-Zero Plus kit) of de Illumina Stranded mRNA Prep kit (strengspecifiek mRNA voorbereidingskit) is gespecificeerd als de bibliotheekvoorbereidingskit.</p> <p>Voer een van de volgende waarden in.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kit — <code>ILMNStrandedTotalRNA</code></li> <li>Illumina Stranded mRNA Prep kit — <code>ILMNStrandedmRNA</code></li> </ul>

## Vereisten BCL Convert (BCL-conversie)

De BCL-conversiesecties geven informatie over het converteren van uw gegevens van BCL naar FASTQ. De opties voor BCL-conversie omvatten twee verschillende secties: [BCLConvert\_Settings] en [BCLConvert\_Data]. In de BCL-conversiesecties voert u informatie in over indexadaptersequenties. Raadpleeg voor het identificeren van de compatibele adaptersequentie voor elke bepaling en index *Illumina Adaptersequenties (documentnr. 1000000002694)*.

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [BCLConvert\_Settings].

Veld	Vereist	Omschrijving
SoftwareVersion	Ja	De versie van de DRAGEN-software die momenteel op het systeem is geïnstalleerd. Geef de gehele getallen in de versienaam alle drie op. Bijvoorbeeld 3.5.7.
BarcodeMismatchesIndex1	Nee	Het aantal toegestane mismatches tussen de eerste indexbepaling en indexsequentie. De waarden kunnen 0, 1 of 2 zijn. De standaardwaarde is 1.

Veld	Vereist	Omschrijving
BarcodeMismatchesIndex2	Nee	Het aantal toegestane mismatches tussen de tweede indexbepaling en indexsequentie. De waarden kunnen 0, 1 of 2 zijn. De standaardwaarde is 1.
FastqCompressionFormat	Nee	Om FASTQ-bestanden uit te voeren als een *.gz-bestand, voert u <code>gzip</code> in. Om FASTQ-bestanden als *.ora-bestand op te slaan en met DRAGEN Decompression (Decompressie) te gebruiken, voert u <code>dragen</code> in.
AdapterRead1	Nee	De sequentie die vanaf het einde van read 1 (bepaling 1) moet worden getrimd of gemaskeerd. Read 1 (Bepaling 1)-adaptersequentie die A, C, G of T bevat. Standaard is ingesteld dat AdapterRead1 cycli trimt.
AdapterRead2	Nee	De sequentie die vanaf het einde van read 2 (bepaling 2) moet worden getrimd of gemaskeerd. Read 2 (Bepaling 2)-adaptersequentie die A, C, G of T bevat. Standaard is ingesteld dat AdapterRead2 cycli trimt.
OverrideCycles	Nee	String om UMI-cycli te specificeren en cycli van een bepaling te maskeren. De volgende waarden zijn toegestaan: <ul style="list-style-type: none"> <li>• N — Duidt te negeren cycli aan.</li> <li>• Y — Duidt sequencingcycli aan.</li> <li>• I — Duidt indexcycli aan.</li> <li>• U — Duidt te trimmen UMI-cycli aan.</li> </ul> Elk element wordt gescheiden door puntkomma's. Invoer van OverrideCycles kan bijvoorbeeld zijn: U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [BCLConvert\_Data].

Veld	Vereist	Omschrijving
Sample_ID	Ja	De ID van het monster. De ID van het monster kan maximaal 20 alfanumerieke tekens, verbindingstreepjes en onderstrepingstekens bevatten. De ID is hoofdlettergevoelig. Scheid elke identificatiecode met een streepje of onderstrepingsteken. Bijvoorbeeld Sample1-DQB1-022515.
Index	Nee	De indexsequentie van het monster. Alleen A, C, T, G zijn toegestaan. Vereist bij sequencing van meer dan één monster.
Index2	Nee	De tweede indexsequentie van het monster. Alleen A, C, T, G zijn toegestaan. Zorg ervoor dat de tweede index (i5)-adaptersequenties de voorwaartse richting hebben. Tijdens de secundaire analyse worden i5-indexen door DRAGEN automatisch omgekeerd aangevuld.
Lane	Nee	De baan van de stroomcel. Banen worden aangeduid met één geheel getal.

## DRAGEN-monsterblad-instellingen

Deze sectie beschrijft de monsterbladvereisten voor elke DRAGEN-pijplijn. Voeg uw DRAGEN-pijplijninstellingen toe als laatste sectie op uw monsterblad. U kunt slechts één DRAGEN-pijplijn gebruiken.

Elke DRAGEN-pijplijn heeft aparte secties voor instellingen en gegevens.

## Vereisten voor DRAGEN Germline Pipeline (DRAGEN-kiemlijn-pijnlijn)

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenGermline\_Settings].

Veld	Vereist	Omschrijving
SoftwareVersion	Ja	De versie van de DRAGEN-software die momenteel op het systeem is geïnstalleerd. Geef de gehele getallen in de versienaam alle drie op. Bijvoorbeeld 3.5.7. De softwareversie moet overeenkomen met de versie die in de sectie BCLConvert_Settings is opgegeven.
ReferenceGenomeDir	Ja	De naam van het referentiegenoom. Bijvoorbeeld hg19_alt_aware. Geef de naam van het referentiegenoom op. Dit heeft de locatie <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Raadpleeg voor het gebruiken van een aangepast referentiegenoom <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> (Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0).
MapAlignOutFormat	Nee	De indeling van het uitvoerbestand. De toegestane waarde is bam of cram. Wordt geen waarde opgegeven, dan is de standaardwaarde geen.
KeepFastq	Nee	Voer om FASTQ-uitvoerbestanden op te slaan <code>true</code> in. Voer om FASTQ-uitvoerbestanden te verwijderen <code>false</code> in.

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenGermline\_Data].

Veld	Vereist	Omschrijving
Sample_ID	Ja	De ID van het monster. De ID van het monster kan maximaal 20 alfanumerieke tekens bevatten. De ID is hoofdlettergevoelig. Scheid elke identificatiecode door een streepje. Bijvoorbeeld Sample1-DQB1-022515. De monster-ID's moeten overeenkomen met de ID's die in de sectie BCLConvert_Data zijn opgegeven.

## Vereisten voor DRAGEN RNA Pipeline (DRAGEN-RNA-pijplijn)

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenRNA\_Settings].

Veld	Vereist	Omschrijving
SoftwareVersion	Ja	De versie van de DRAGEN-software die momenteel op het systeem is geïnstalleerd. Geef de gehele getallen in de versienaam alle drie op. Bijvoorbeeld 3.5.7. De softwareversie moet overeenkomen met de versie die in de sectie BCLConvert_Settings is opgegeven.
ReferenceGenomeDir	Ja	De naam van het referentiegenoom. Bijvoorbeeld hg38_noalt_with_decoy. Geef de naam van het referentiegenoom op. Dit heeft de locatie /usr/local/illumina/genomes. Raadpleeg voor het gebruiken van een aangepast referentiegenoom de <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> (Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0).
RnaGeneAnnotationFile	Nee	Het bestand bevat RNA-genannotaties. Alleen alfanumerieke tekens zijn toegestaan. Als dit bestand niet wordt verstrekt, dan wordt het standaardannotatiebestand gebruikt dat in het opgegeven referentiegenoom is opgenomen.
MapAlignOutFormat	Nee	De indeling van het uitvoerbestand. De toegestane waarde is bam of cram. Wordt geen waarde opgegeven, dan is de standaardwaarde geen.
KeepFastq	Nee	Voer om FASTQ-uitvoerbestanden op te slaan <code>true</code> in. Voer om FASTQ-uitvoerbestanden te verwijderen <code>false</code> in.
DifferentialExpressionEnable	Nee	Voer om differentiële genexpressie in te schakelen <code>true</code> in. Voer <code>false</code> in om differentiële genexpressie uit te sluiten van de analyse.



Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenRna\_Data].

Veld	Vereist	Omschrijving
Sample_ID	Ja	De ID van het monster. De ID van het monster kan maximaal 20 alfanumerieke tekens bevatten. De ID is hoofdlettergevoelig. Scheid elke identificatiecode met een streepje. Bijvoorbeeld Sample1-DQB1-022515. De monster-ID's moeten overeenkomen met de ID's die in de sectie BCLConvert_Data zijn opgegeven.
Comparison<N>	Nee	De waarde van de controle of vergelijking voor elk monster. Als het monster geen controle- of vergelijkingswaarde heeft, krijgt het monster de aanduiding <code>na</code> (n.v.t.) Alle als controle gemarkeerde monsters worden vergeleken met alle als vergelijking gemarkeerde monsters. De waarde <code>N</code> duidt de vergelijkingsgroep van de monsters aan.

### Vereisten voor DRAGEN Enrichment Pipeline (DRAGEN-Verrijking-pijplijn)

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenEnrichment\_Settings]

Veld	Vereist	Omschrijving
SoftwareVersion	Ja	De versie van de DRAGEN-software die momenteel op het systeem is geïnstalleerd. Geef de gehele getallen in de versienaam alle drie op. Bijvoorbeeld 3.5.7. De softwareversie moet overeenkomen met de versie die in de sectie BCLConvert_Settings is opgegeven.

Veld	Vereist	Omschrijving
ReferenceGenomeDir	Ja	De naam van het referentiegenoom. Bijvoorbeeld hg38_alt_aware. Referentiegenomen hebben de locatie /usr/local/illumina/genomes. Raadpleeg voor het gebruik van een aangepast referentiegenoom de <i>Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0</i> (Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0).
BedFile	Ja	Het bed-bestand met de doelregio's.
GermlineOrSomatic	Ja	Voer voor het uitvoeren van een verrijking-kiemlijnanalyse <code>germline</code> (kiemlijn) in. Voer voor het uitvoeren van een verrijking-somatische variant-analyse <code>somatic</code> (somatisch) in.
KeepFastq	Nee	Voer om FASTQ-uitvoerbestanden op te slaan <code>true</code> in. Voer om FASTQ-uitvoerbestanden te verwijderen <code>false</code> in.
MapAlignOutFormat	Nee	De indeling van het uitvoerbestand. De toegestane waarde is bam of cram. Wordt geen waarde opgegeven, dan is de standaardwaarde geen.
AuxNoiseBaselineFile	Nee	De naam van het ruisbasislijnbestand. U kunt de bestandsindeling <code>*.txt</code> of <code>*.gz</code> gebruiken. Ruisbasislijnbestanden zijn alleen beschikbaar in de somatische modus. Zie <a href="#">Ruisbasislijnbestanden importeren op pagina 19</a> voor meer informatie.

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenEnrichment\_Data].

Veld	Vereist	Omschrijving
Sample_ID	Ja	De ID van het monster. De ID van het monster kan maximaal 20 alfanumerieke tekens bevatten. De ID is hoofdlettergevoelig. Scheid elke identificatiecode met een streepje. De ID's van Sample1-DQB1-022515.Sample moeten bijvoorbeeld overeenkomen met de ID's die in de sectie BCLConvert_Data zijn opgegeven.

### Vereisten voor DRAGEN DNA Amplicon Pipeline (DRAGEN-DNA Amplicon-pijplijn)

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenAmplicon\_Settings].

Veld	Vereist	Omschrijving
SoftwareVersion	Ja	De versie van de DRAGEN-software die momenteel op het systeem is geïnstalleerd. Geef de gehele getallen in de versienaam alle drie op. Bijvoorbeeld 3.5.7. De softwareversie moet overeenkomen met de versie die in de sectie BCLConvert_Settings is opgegeven.
ReferenceGenomeDir	Ja	De naam van het referentiegenoom. Bijvoorbeeld hg38_alt_aware. Referentiegenomen hebben de locatie /usr/local/illumina/genomes. Raadpleeg voor het gebruik van een aangepast referentiegenoom de <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> (Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0).
DnaBedFile	Ja	Het bed-bestand met de doelregio's. Het bed-bestand kan worden ingevoerd in de bestandsindeling *.txt of *.gz.

Veld	Vereist	Omschrijving
DnaGermlineOrSomatic	Ja	Voer voor het uitvoeren van een DNA Amplicon-kiemlijnanalyse <code>germline</code> (kiemlijn) in. Voer voor het uitvoeren van een DNA Amplicon-somatische variant-analyse <code>somatic</code> (somatisch) in.
KeepFastq	Nee	Voer om FASTQ-uitvoerbestanden op te slaan <code>true</code> in. Voer om FASTQ-uitvoerbestanden te verwijderen <code>false</code> in.
MapAlignOutFormat	Nee	De indeling van het uitvoerbestand. De toegestane waarde is <code>bam</code> of <code>cram</code> . Wordt geen waarde opgegeven, dan is de standaardwaarde <code>geen</code> .

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenAmplicon\_Data].

Veld	Vereist	Omschrijving
Sample_ID	Ja	De ID van het monster. De ID van het monster kan maximaal 20 alfanumerieke tekens bevatten. De ID is hoofdlettergevoelig. Scheid elke identificatiecode met een streepje. De ID's van Sample1-DQB1-022515. Sample moeten bijvoorbeeld overeenkomen met de ID's die in de sectie BCLConvert_Data zijn opgegeven.
DnaOrRna	Ja	Het type Amplicon-analyse dat moet worden uitgevoerd. Voor DRAGEN v3.8 wordt alleen DNA-analyse ondersteund. Voer <code>dna</code> in.

## Vereisten voor DRAGEN Single Cell RNA Pipeline (DRAGEN-enkele cel RNA-pijplijn)

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenSingleCellRNA\_Settings]. Zie voor informatie over de compatibiliteit van kits van derden de ondersteuningspagina over DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility.

### Single Cell Library Kit 1—5 (Enkele cel-bibliotheekkit 1-5)

De volgende monsterbladinstellingen zijn van toepassing op bibliotheekvoorbereidingskits met dezelfde genetische structuur als DRAGEN Single Cell Library Kits 1—5 (DRAGEN-enkele cel-bibliotheekkits 1-5). Controleer met behulp van ondersteuningspagina over DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility de genetische structuur van uw kit.

Veld	Vereist	Omschrijving
SoftwareVersion	Ja	De versie van de DRAGEN-software die momenteel op het systeem is geïnstalleerd. Geef de gehele getallen in de versienaam alle drie op. Bijvoorbeeld 3.5.7. De softwareversie moet overeenkomen met de versie die in de sectie BCLConvert_Settings is opgegeven.
ReferenceGenomeDir	Ja	De naam van het referentiegenoom. Bijvoorbeeld hg38_alt_aware. Referentiegenomen hebben de locatie <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Raadpleeg voor het gebruiken van een aangepast referentiegenoom de <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> (Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0).
RnaLibraryType	Nee	Voer een van de volgende waarden in: <ul style="list-style-type: none"> <li>• SF — Strengspecifiek voorwaarts. SF is de standaardwaarde.</li> <li>• SR — Strengspecifiek achterwaarts.</li> <li>• U — Niet-strengspecifiek.</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	Nee	Het bestand bevat RNA-genannotaties. Alleen alfanumerieke tekens zijn toegestaan. Als dit bestand niet wordt verstrekt, dan wordt het standaardannotatiebestand gebruikt dat in het opgegeven referentiegenoom is opgenomen.
BarcodeRead	Nee	De locatie in de sequencing-run van de streepjescodebepaling, die zowel de streepjescode als de UMI bevat. Waarden kunnen <code>Read1</code> (Bepaling 1) of <code>Read2</code> (Bepaling 2) bevatten. De standaardwaarde is <code>Read1</code> .

Veld	Vereist	Omschrijving
BarcodePosition	Ja	De locatie van de basen die overeenkomt met de streepjescode in de waarde die is ingevoerd voor BarcodeRead. Baseposities worden geïndexeerd vanaf de nulpositie. Voer de BarcodePosition-waarde in volgens de volgende indeling: 0_<eindpositie streepjescode> Als een streepjescode bijvoorbeeld 16 basen bevat, is de waarde 0_15.
UmiPosition	Ja	De locatie van de basen die overeenkomt met de UMI in de waarde die is ingevoerd voor BarcodeRead. Voer de UmiPosition-waarde in volgens de volgende indeling: <UMI startpositie>_<UMI eindpositie> Als de UMI bijvoorbeeld 10 basen bevat en de streepjescode 16, is de waarde 16_25.
BarcodeSequenceWhitelist	Nee	De naam van het bestand dat de op te nemen streepjescode-sequenties bevat. De bestandsnaam mag alleen alfanumerieke tekens, streepjes, onderstrepingstekens en punten bevatten.
KeepFastq	Nee	Voer om FASTQ-uitvoerbestanden op te slaan <code>true</code> in. Voer om FASTQ-uitvoerbestanden te verwijderen <code>false</code> in.
MapAlignOutFormat	Nee	De indeling van het uitvoerbestand. De toegestane waarde is bam of cram. Wordt geen waarde opgegeven, dan is de standaardwaarde geen.

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenSingleCellRNA\_Data].

Veld	Vereist	Omschrijving
Sample_ID	Ja	De ID van het monster. De ID van het monster kan maximaal 20 alfanumerieke tekens bevatten. De ID is hoofdlettergevoelig. Scheid elke identificatiecode met een streepje. De ID's van Sample1-DQB1-022515.Sample moeten bijvoorbeeld overeenkomen met de ID's die in de sectie BCLConvert_Data zijn opgegeven.

## Single Cell Library Kit 6 (Enkele cel-bibliotheekkit 6)

De volgende monsterbladinstellingen zijn van toepassing op bibliotheekvoorbereidingskits met dezelfde genetische structuur als DRAGEN Single Cell Library Kits 6 (DRAGEN-enkele cel-bibliotheekkits 6). Controleer met behulp van ondersteuningspagina DRAGEN Bio-IT Platform Product Compatibility (productcompatibiliteit) de genetische structuur van uw kit.

Veld	Vereist	Omschrijving
SoftwareVersion	Ja	De versie van de DRAGEN-software die momenteel op het systeem is geïnstalleerd. Geef de gehele getallen in de versienaam alle drie op. Bijvoorbeeld 3.5.7. De softwareversie moet overeenkomen met de versie die in de sectie BCLConvert_Settings is opgegeven.
ReferenceGenomeDir	Ja	De naam van het referentiegenoom. Bijvoorbeeld hg38_alt_aware. Referentiegenomen hebben de locatie <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Raadpleeg voor het gebruiken van een aangepast referentiegenoom de <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help</i> (Online help voor de app Referentiebouwer voor Illumina Instruments v1.0.0).
RnaLibraryType	Nee	Voer een van de volgende waarden in: <ul style="list-style-type: none"> <li>• SF — Strengspecifiek voorwaarts.</li> <li>• SR — Strengspecifiek achterwaarts.</li> <li>• U — Niet-strengspecifiek.</li> </ul>
RnaGeneAnnotationFile	Nee	Het bestand bevat RNA-genannotaties. Alleen alfanumerieke tekens zijn toegestaan. Als dit bestand niet wordt verstrekt, dan wordt het standaardannotatiebestand gebruikt dat in het opgegeven referentiegenoom is opgenomen.
BarcodeRead	Nee	De locatie in de sequencing-run van de streepjescodebepaling, die zowel de streepjescode als de UMI bevat. Waarden kunnen <code>Read1</code> (Bepaling 1) of <code>Read2</code> (Bepaling 2) bevatten. De standaardwaarde is <code>Read1</code> .

Veld	Vereist	Omschrijving
BarcodePosition	Ja	<p>De locatie van de basen die overeenkomt met de streepjescodes in de waarde die is ingevoerd voor BarcodeRead. Baseposities worden geïndexeerd vanaf de nulpositie. Voer de BarcodePosition-waarde in volgens de volgende indeling:</p> <pre>0_&lt;eindpositie eerste streepjescode&gt;+&lt;startpositie tweede streepjescode&gt;_&lt;eindpositie tweede streepjescode&gt;+&lt;startpositie derde streepjescode&gt;_&lt;eindpositie derde streepjescode&gt;</pre> <p>De volgende structuur zou bijvoorbeeld de waarde <code>0_8+21_29+43_51</code> geven:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 9 basen in de eerste streepjescode (<code>0_8</code>).</li> <li>• 12 basen tussen de eerste en de tweede streepjescode.</li> <li>• 9 basen in de tweede streepjescode (<code>21_29</code>).</li> <li>• 13 basen tussen de tweede en de derde streepjescode.</li> <li>• 9 basen in de derde streepjescode (<code>43_51</code>).</li> </ul>
UmiPosition	Ja	<p>De locatie van de basen die overeenkomt met de UMI in de opgegeven BarcodeRead. Voer de string in de volgende indeling in:</p> <pre>&lt;UMI startpositie&gt;_&lt;UMI eindpositie&gt;</pre> <p>Bijvoorbeeld, als de UMI 8 basen bevat en het aantal basen vóór de UMI in totaal 51 is, is de waarde <code>52_59</code>.</p>
BarcodeSequenceWhitelist	Nee	<p>De naam van het bestand dat de streepjescodesequentie bevat die moet worden gewhitelist. De bestandsnaam mag alleen alfanumerieke tekens, streepjes, onderstrepingstekens en punten bevatten.</p>
KeepFastq	Nee	<p>Voer om FASTQ-uitvoerbestanden op te slaan <code>true</code> in. Voer om FASTQ-uitvoerbestanden te verwijderen <code>false</code> in.</p>



Veld	Vereist	Omschrijving
MapAlignOutFormat	Nee	De indeling van het uitvoerbestand. De toegestane waarde is bam of cram. Wordt geen waarde opgegeven, dan is de standaardwaarde geen.

Hieronder staan de beschikbare velden en beschrijvingen voor [DragenSingleCellRNA\_Data].

Veld	Vereist	Omschrijving
Sample_ID	Ja	De ID van het monster. De ID van het monster kan maximaal 20 alfanumerieke tekens bevatten. De ID is hoofdlettergevoelig. Scheid elke identificatiecode met een streepje. De ID's van Sample1-DQB1-022515.Sample moeten bijvoorbeeld overeenkomen met de ID's die in de sectie BCLConvert_Data zijn opgegeven.

## Donkere cyclus-sequencing

Deze sectie beschrijft hoe donkere cyclus-sequencing in het voorschrift moet worden gebruikt.

Met donkere cyclus-sequencing worden alleen de chemische stappen van een sequencingcyclus voltooid. Kijk op de pagina [Compatible Products \(Compatibele producten\)](#) voor uw bibliotheekvoorbereidingskit op de [Illumina Support Site](#) (Illumina-ondersteuningssite) om te zien of donkere cyclus-sequencing is vereist.

Voer de volgende stappen uit voor donkere cyclus-sequencing.

### Het voorschriftbestand bewerken

- Download het XML-bestand van het voorschrift van de [Illumina Support Site](#) (Illumina-ondersteuningssite).
- Bewerk het XML-bestand van het voorschrift.
  - Identificeer aan de hand van uw bepalingen- en indexsequencingconfiguratie de juiste protocolsectie. Per aangepast voorschrift zijn er zes verschillende mogelijke protocollen die kunnen worden bewerkt.  
Het protocol voor een enkele Read 1 (Bepaling 1) zonder indexsequencingconfiguratie zou bijvoorbeeld zijn `<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >`.
  - Voer vóór `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` en `<ReadRef ReadName="Read 2"/>` de volgende donkere cyclus-stap in op een nieuwe regel.  
`<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />`.
  - Voer voor elke benodigde donkere cyclus de donkere cyclus-stap in op een nieuwe regel.

### 3. Sla het XML-bestand van het voorschrift op.

Hieronder wordt een voorbeeld weergegeven van een voorschrift met donkere cyclus:

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

### Het voorschrift aan de run toevoegen

- 1 Selecteer in de Run Setup (Runinstelling) in de besturingssoftware **Choose** (Kiezen) onder Custom Recipe (Aangepast voorschrift).
- 2 Navigeer naar het bijgewerkte XML-bestand van het voorschrift.
- 3 Selecteer **Open** (Openen).
4. Ga terug naar [Een sequencing-run starten op pagina 48](#) (Een sequencing-run starten).

# Index

## %

%PF 62

## A

aan/uit-knop 3, 86  
alcoholdoekjes 29  
amplificatie 8  
analyse  
    methoden 5, 9  
attenderingen 79  
audio-instellingen 21  
automatische updates 79

## B

banen 58  
basebepaling 5  
basebepalingsbestanden 9, 57, 63  
BaseSpace Sequence Hub 1  
BaseSpace sequentie-hub  
    documentatie 14  
    instellingen 14  
BCL-bestanden 6  
bcl2fastq2 57  
beeldanalyse 5  
beelden 57  
beeldvorming 57-58  
benaming  
    instrumentnaam 21  
bepalingscycli 32  
bepalingslengten 32  
besturingssysteem 87  
bibliotheken  
    denaturering 8  
bijnaam 21  
bladen 29

## C

camera's 58

cartridge  
    laadrichting 53  
catalogusnummers 28  
CBCL-bestanden 62  
CE 57  
cloudgebaseerde analyse 1  
clusterintensiteiten 60  
clusterlocaties 57, 63  
clusters filteren 62  
compartiment verbruiksartikelen 3  
Compute Engine 57  
computernaam 6  
cyclusnummers 32

## D

denaturering 8  
documentatie 111  
doekjes met bleekmiddel 29  
domeinen 14  
doorlaatfilter (PF) 62  
downgrading software 88-89

## E

eerste installatie 82, 88-89  
enkele bepaling 52  
Enterprise-abonnement 14  
ethernetkabel 4  
ethernetpoort 4  
extra cycli 32

## F

fabrieksinstellingen 88-89  
fasering en prefasering 60  
FASTQ conversie 57  
filterbestanden 57, 63  
fouten 6, 86  
    kans 62  
    meldingen 84  
foutenlogs 58

## G

garantie 29  
geen bepalingen 59-60  
gegevenskwaliteit 62  
geluidsinstellingen 21  
gemapte stations 52  
groen kanaal 60

## H

handmatige software-updates 79  
harde schijf 6, 78  
hostinglocatie 14  
hulp, technisch 111

## I

Illumina Proactive Support (Proactive-  
ondersteuning) 14  
index  
    cycli 32  
initialisatie 87  
    mislukt 86  
instrument uit- en inschakelen 84  
intensiteitswaarden 60  
internetverbinding 14  
InterOp-bestanden 57, 63  
IP-adres 6

## K

kits 28  
    catalogusnummers 29  
klantenondersteuning 111  
kleppen  
    sluiten 53  
kwaliteitstabellen 62

## L

lekbak  
    bladen 29

lichtbalk 3  
Local Run Manager 5  
logbestanden 58  
lokale analyse 1  
luchtfilters  
    extra 29  
    locatie 82

## M

miniaturen 63  
mislukte registraties 59  
monitor 3  
muis 4

## N

naamgeving  
    computernaam 6  
    instrumentnaam 21  
nanowells 60  
netsnoer 4  
NextSeq 1000/2000-reagentia 28  
nucleotiden 60

## O

ondersteuningspagina's 79  
opnieuw opstarten 88-89  
oppervlaknummering 59

## P

paired-end 52  
particulier domein 14  
PhiX 29  
    uitlijning 57  
PhiX Control v3 28  
Phred-algoritme 62  
pictogrammen 6  
prestatiegegevens 14  
prestatiegegevens instrument 14  
procesbeheer 78

## Q

Q-scores 62

## R

reservefilters 82  
resuspensiebuffer 28  
rood kanaal 60  
RSB vervanger 28  
runformaat 78  
RunInfo.xml 63  
runinstelling  
    voorbeelden 32  
runmap 78  
runparameters  
    bewerken 52  
runparameters bewerken 52  
runs  
    meetwaarden 57  
runs verwijderen 6  
runs worden verwijderd 78  
runstatus 6  
runtelling 6

## S

schijf D 78  
schijfruimte 6, 78  
Sequencing Analysis Viewer 57, 59  
serienummer 6  
serverlocatie 14  
sjabloon maken 59  
software  
    downgrading 88-89  
    installeren 79  
    updateattendingen 22  
software installeren 79  
softwarepakket 1, 5  
specificaties koelkast 30  
specificaties vriezer 30  
standaard uitvoermap 52  
statusbalk 3

stroken 58-59  
systeemcontroles 84  
systeempakket-installatieprogramma 79

## T

technische ondersteuning 111  
tegelnummering 59  
tegels 57  
testkit 29  
toetsenborden 4  
tracering verbruiksartikelen 1  
tuimelschakelaar 4, 86  
tweekanaalssequencing 60

## U

uiterste gebruiksdatums 82  
uitlijning specificatie 86  
uitschakelen 86  
uitvoermap 52, 78  
UNC-paden 52  
Universal Copy Service 5, 79  
USB-poorten 4

## V

ventilatoren 82  
verbroken verbindingen 86  
verbruiksartikelen  
    scannen 53  
    tracering 1  
verdunningsbibliotheken 8  
verplaatsen 4  
voorschriften 79  
voorschriftfragmenten 6

## W

waarschuwingen 6, 86  
Windows  
    aanmelden 87  
wisselstroomvoeding  
    ingang 4

witboeken 62

## **Z**

zuiverheidsfilter 62

# Technische ondersteuning

Voor technische ondersteuning neemt u contact op met de afdeling technische ondersteuning van Illumina.

**Website:** [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
**E-mail:** [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Telefoonnummers voor technische ondersteuning van Illumina

Regio	Gratis telefoonnummer	Internationaal
Australië	+61 1800 775 688	
België	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Canada	+1 800 809 4566	
China		+86 400 066 5835
Denemarken	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Duitsland	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Filippijnen	+63 180016510798	
Finland	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Frankrijk	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Hong Kong, China	+852 800 960 230	
Ierland	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
India	+91 8006500375	
Indonesië		0078036510048
Italië	+39 800 985513	+39 236003759
Japan	+81 0800 111 5011	
Maleisië	+60 1800 80 6789	
Nederland	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Nieuw-Zeeland	+64 800 451 650	
Noorwegen	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Oostenrijk	+43 800 006249	+43 1 9286540
Singapore	1 800 5792 745	

Regio	Gratis telefoonnummer	Internationaal
Spanje	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Taiwan, China	+886 8 06651752	
Thailand	+66 1800 011 304	
Verenigd Koninkrijk	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Verenigde Staten	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Vietnam	+84 1206 5263	
Zuid-Korea	+82 80 234 5300	
Zweden	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Zwitserland	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00

**Veiligheidsinformatiebladen (SDS, safety data sheets)** — zijn verkrijgbaar op de website van Illumina via [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

**Productdocumentatie** – beschikbaar voor downloaden in pdf-vorm via [support.illumina.com](https://support.illumina.com).





Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Californië 92122 VS

+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika)

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

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

**Uitsluitend bedoeld voor onderzoekdoeleinden. Niet voor gebruik in diagnostische procedures.**

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

**illumina**<sup>®</sup>