

NextSeq 1000 och 2000

Guide för sekvenseringssystem

TILLHÖR ILLUMINA

Dokumentnr 1000000109376 v04 SWE

April 2021

Endast för forskningsbruk. Inte för användning i diagnostiska procedurer.

Dokumentet och dess innehåll tillhör Illumina, Inc. och dess dotterbolag ("Illumina") och är endast avsett för användning enligt avtal i samband med kundens bruk av produkterna som beskrivs häri. Allt annat bruk är förbjudet. Dokumentet och dess innehåll får ej användas eller distribueras i något annat syfte och/eller återges, delges eller reproduceras på något vis utan föregående skriftligt tillstånd från Illumina. I och med detta dokument överlåter Illumina inte någon licens som hör till dess patent, varumärke eller upphovsrätt, eller i enlighet med rättspraxis eller liknande tredjepartsrättigheter.

Instruktionerna i detta dokument ska följas till punkt och pricka av kvalificerad och lämpligt utbildad personal för att säkerställa rätt och säker produktanvändning i enlighet med beskrivning häri. Hela innehållet i dokumentet ska läsas och förstås i sin helhet innan produkten (produkterna) används.

UNDERLÅTENHET ATT LÄSA OCH FÖLJA ALLA INSTRUKTIONER HÄRI I SIN HELHET KAN MEDFÖRA SKADA PÅ PRODUKTEN/PRODUKTERNA, PERSONSKADA, INKLUSIVE SKADA PÅ ANVÄNDAREN/ANVÄNDARNA ELLER ANDRA PERSONER SAMT SKADA PÅ ANNAN EGENDOM, OCH LEDER TILL ATT EVENTUELL GARANTI FÖR PRODUKTEN/PRODUKTERNA BLIR OGILTIG.

ILLUMINA KAN INTE ÅLÄGGAS NÅGOT ANSVAR SOM UPPKOMMER GENOM FELAKTIG ANVÄNDNING AV PRODUKTERNA SOM BESKRIVS HÄRI (INKLUSIVE DELAR DÄRI ELLER PROGRAM).

© 2021 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

Alla varumärken tillhör Illumina, Inc. eller respektive ägare. Specifik varumärkesinformation finns på www.illumina.com/company/legal.html.

Revisionshistorik

Dokumentnr	Datum	Ändringsbeskrivning
1000000109376 v04	April 2021	Anvisningar för import av basfiler har lagts till. Arbetsflödet DRAGEN DNA Amplicon har lagts till. Funktioner har lagts till för kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 v1.3. Information om hur en proxyserver väljs har lagts till. Leveranstemperaturen och lagringstemperaturen för RSB med Tween 20 har uppdaterats. Arbetsflödet DRAGEN RNA har uppdaterats för att inkludera differentiellt uttryckta gener. Mappstrukturen för sekvenseringsutdata har uppdaterats. Formateringsrekommendationer för provark v2 har uppdaterats.
1000000109376 v03	November 2020	Katalognummer har korrigerats. Information om att lägga till nya användare har lagts till.

Dokumentnr	Datum	Ändringsbeskrivning
1000000109376 v02	Oktober 2020	<p>Satsen NextSeq 1000/2000 P3 Reagents har lagts till.</p> <p>Arbetsflödet DRAGEN Single Cell RNA har lagts till.</p> <p>Arbetsflödet DRAGEN Enrichment har lagts till.</p> <p>FASTQ-komprimeringsalternativ har lagts till.</p> <p>Anvisningar för att installera uppdateringar för arbetsflöden och licenser för DRAGEN har lagts till.</p> <p>Anvisningar för att importera anpassade referensgenom har lagts till.</p> <p>Laddningsvolymen och koncentrationerna för bibliotekstyper har uppdaterats.</p> <p>Anvisningarna för utspädning av bibliotek har uppdaterats.</p> <p>Anvisningar för att tömma reagenskassetten automatiskt har lagts till.</p> <p>Informationen om antalet cykler som stöds har uppdaterats.</p> <p>Instrumentets anpassningsanvisningar har uppdaterats.</p> <p>Anvisningarna för körningskonfiguration på instrumentet har uppdaterats.</p> <p>Strukturen för sekvenseringsutdata i DRAGEN har uppdaterats.</p> <p>Information har lagts till om QC-rapporter i DRAGEN.</p> <p>Information om att ta bort anpassade referensgenom från hårddisken har lagts till.</p> <p>Information om hur systemkontroller utförs har lagts till.</p> <p>Inställningarna för provark v2 har uppdaterats.</p>

Dokumentnr	Datum	Ändringsbeskrivning
1000000109376 v01	Juni 2020	<p>Programbeskrivningarna av kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 har uppdaterats.</p> <p>Skillnaden mellan molnläge, hybridläge, lokalt läge och fristående läge har förtydligats i hela guiden.</p> <p>Anvisningarna för upptining och förvaring av en kassett har uppdaterats.</p> <p>Informationen om antalet cykler som stöds har uppdaterats.</p> <p>Anvisningarna för att konfigurera sekundäranalyser har uppdaterats.</p> <p>Reagenssatsernas katalognummer har uppdaterats.</p> <p>Diagrammet över sekvenseringsprotokollet har uppdaterats.</p> <p>Anvisningarna för att ange en nätverksenhet som standardutdatamapp har uppdaterats.</p> <p>Tabellen över bibliotekstyper som stöds har uppdaterats.</p> <p>Anvisningar för hur användaren kan importera anpassade referensgenom har lagts till.</p> <p>Anvisningar för att konfigurera en körning med en anpassad indexsats och en anpassad biblioteksprepareringssats har lagts till.</p> <p>Kraven för användarkonton och lösenord har uppdaterats.</p> <p>Information om mappstrukturen för utdata i DRAGEN har lagts till.</p> <p>Anvisningarna för tömning av använda reagenser från kassetten har förtydligats.</p> <p>Bakgrundsinformation om Q-tabellen har lagts till.</p> <p>Anvisningarna för installation av kontrollprogramuppdateringar har uppdaterats.</p> <p>Anvisningar för hur en körning repeteras har lagts till.</p> <p>Anvisningar för att uppdatera arbetsflöden och licenser för DRAGEN har lagts till.</p>

Dokumentnr	Datum	Ändringsbeskrivning
		Anvisningar för hur instrumentet kan anpassas har lagts till. Bilderna har uppdaterats för att återspegla nya etiketter. "Door" (lucka) har bytts ut till "visor" (lucka) i hela guiden. En beskrivning av de två Ethernet-portarna har lagts till.
1000000109376 v00	Mars 2020	Första versionen.

Innehållsförteckning

Systemöversikt	1
Ytterligare resurser	1
Instrumentets maskinvara	2
Integrerad programvara	5
Processhantering	6
Diagram över sekvenseringsprotokollet	7
Så här fungerar sekvensering	7
Systemkonfiguration	10
Krav på användarkonton	10
Konfigurera BaseSpace-sekvenseringshubb och Proactive Support	12
Ange en standardmapp för utdata	14
Importerera anpassade referensgenom	17
Importerera basfiler för brus	17
Konfigurera körningsläget	19
Anpassa instrumentet	20
Förbrukningsmaterial och utrustning	22
Förbrukningsmaterial för sekvensering	22
Tillhörande förbrukningsmaterial	25
Kringutrustning	27
Protokoll	29
Att tänka på vid sekvensering	29
Planera en sekvenseringskörning i BaseSpace-sekvenseringshubb	30
Tina den förpackade kassetten och flödescellen	38
Späda ut bibliotek	41
Föra över förbrukningsmaterial till kassetten	43
Starta en sekvenseringskörning	45
Utdata från sekvensering	53
Översikt över realtidsanalys	53
Arbetsflöde för realtidsanalys	55
Utdatafiler från sekvensering	59
Utdatafiler från sekundäranalys med DRAGEN	60
Mappstruktur för utdata från sekundäranalys med DRAGEN	69
Underhåll	73
Frigöra utrymme på hårddisken	73
Programuppdateringar	73
Uppdatera arbetsflöden och licenser för DRAGEN	75

Byta ut luftfiltret	77
Felsökning	79
Åtgärda felmeddelanden	79
Förvara tinat förbrukningsmaterial	80
Avbryta en körning	80
Repetera en körning	81
Utföra en kall omstart på instrumentet	81
Utföra en systemkontroll	82
Återställ till fabriksinställningar	83
Skapa en systemavbildning	83
Återställa en systemavbildning	84
Resurser och referenser	85
Inställningar för provark v2	85
Sekvensering utan avbildning	98
Index	100
Teknisk hjälp	103

Systemöversikt

Sekvenseringssystemen Illumina® NextSeq™ 1000 och Illumina® NextSeq™ 2000 är inriktade på NGS¹. Det programorienterade systemet kombinerar Illuminas sekvenseringsteknik med ett prisvärt stationärt instrument som har följande funktioner:

- **Lättanvänt och driftsäkert** – NextSeq 1000/2000 använder lokal DRAGEN-analys samt denaturering och utspädning i instrumentet. En avbildningsmodul är inbyggd i systemet och flödesteknik är inbyggd i förbrukningsmaterialet, vilket underlättar instrumentunderhållet.
- **Förbrukningsmaterialet förs över i ett steg** – En kassett för engångsbruk innehåller redan alla reagenser som behövs för körningen. Biblioteket och flödescellen förs direkt in i kassetten som sedan förs in i instrumentet. Integrerad identifiering möjliggör noggrann spårning.
- **Programmet NextSeq 1000/2000** – En programsvit med inbyggd programvara styr instrumentets drift, bearbetar bilder och genererar basbestämningar.
 - **Cloud mode** (Molnläge) – Planera din körning med Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) på BaseSpace-sekvenseringshubb. Det valda analysarbetsflödet startas automatiskt i molnet. Körningsdata och analysresultaten finns också i molnet.
 - **Hybrid mode** (Hybridläge) – Planera din körning med Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) på BaseSpace-sekvenseringshubb. Det valda analysarbetsflödet startas sedan via DRAGEN i instrumentet.
 - **Local mode** (Lokalt läge) – Planera din körning med provarkfil i formatet v2 lokalt. Det valda analysarbetsflödet startas automatiskt via DRAGEN i instrumentet.
 - **Standalone mode** (Fristående läge) – Planera din körning utan ett provark.

Det här avsnittet ger en översikt över systemet, inklusive information om maskinvara, program och dataanalys. Det innehåller även nyckelbegrepp och terminologi som används i hela dokumentationen. Detaljerade specifikationer, datablad, applikationer och relaterade produkter finns på [produkt sidan för sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000](#) på Illuminas webbplats.

Ytterligare resurser

Ytterligare resurser för systemet finns på [hjälpsidorna för sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000](#) på Illuminas webbplats. Resurserna är bland annat programvara, utbildning, kompatibla produkter samt följande dokumentation. Besök alltid hjälpsidorna för att kontrollera vilka de senaste versionerna är.

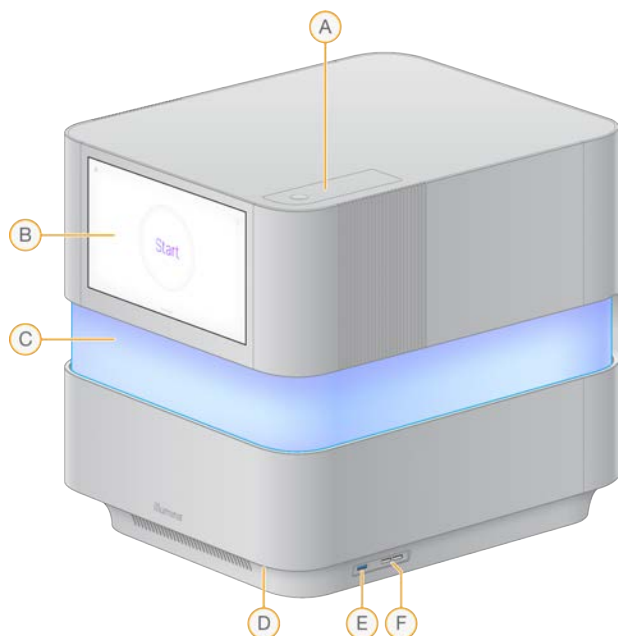
¹nästa generations sekvensering

Resurs	Beskrivning
Anpassad protokollväljare	Ett verktyg som genererar fullständiga anvisningar som är anpassade efter biblioteksprepareringsmetoden, körningsparametrarna och analysmetoden som valts. Har alternativ som kan användas för att anpassa detaljnivån.
<i>Säkerhets- och efterlevnadsguide för sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 (dokumentnr 1000000111928)</i>	Information om driftsäkerhet, efterlevnad och instrumentmärkning.
<i>Efterlevnadsguide för RFID-läsarmodul (dokumentnr 1000000002699)</i>	Information om RFID-läsaren i instrumentet, efterlevnadscertifieringar och säkerhetsåtgärder.
<i>Guide för denaturering och utspädning för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139235)</i>	Innehåller anvisningar för hur du manuellt denaturerar och späder ut bibliotek för en sekvenseringskörning och hur du förbereder en valfri PhiX-kontroll.
<i>Guide för anpassade primrar för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139569)</i>	Information om hur sekvenseringsprimrar från Illumina kan bytas ut mot anpassade sekvenseringsprimrar.
<i>Förberedelseguide för plats för sekvenseringssystemet NextSeq 2000 (dokumentnr 1000000109378)</i>	Specifikationer för laboratorietrymme, elektriska krav samt anvisningar för miljö och nätverk.
<i>Hjälp för BaseSpace (help.basespace.illumina.com)</i>	Information om hur du använder BaseSpace™ - sekvenseringshubb och tillgängliga analysalternativ.
<i>Uppsättningsguide för indexadaptrar (dokumentnr 1000000041074)</i>	Riktlinjer för uppsättningar och dubbelindexering.
<i>Adaptersekvenser för Illumina (dokumentnr 1000000002694)</i>	Listar adaptersekvenserna för Illuminas biblioteksprepareringsatser.

Instrumentets maskinvara

Sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 har en strömbrytare, en bildskärm, ett statusfält, ett fack för förbrukningsmaterial och USB-portar.

Bild 1 Systemets utvändiga delar



- A. **Luftfilterfack** – Ger åtkomst till det utbytbara luftfiltret.
- B. **Pekskärm** – Möjliggör konfiguration och inställning av instrumentet via kontrollprogrammets gränssnitt.
- C. **Statusfält** – Statusfältets färg ändras när systemet utför stegen i arbetsflödet. Blå och lila indikerar interaktivitet (t.ex. kontroller före körning) och om fältet är flerfärgat indikerar det händelser och data som kräver uppmärksamhet (t.ex. slutförd sekvensering). Kritiska fel indikeras med rött.
- D. **Strömbrytare** – Styr strömtillförseln till instrumentet och indikerar om systemet är påslaget (lyser), avstängt (nedsläckt) eller avstängt men med strömtillförsel (blinkar).
- E. **USB 3.0-port** – Används för att ansluta en extern bärbar enhet för dataöverföring.
- F. **USB 2.0-portar** – Används för att ansluta musen och tangentbordet.

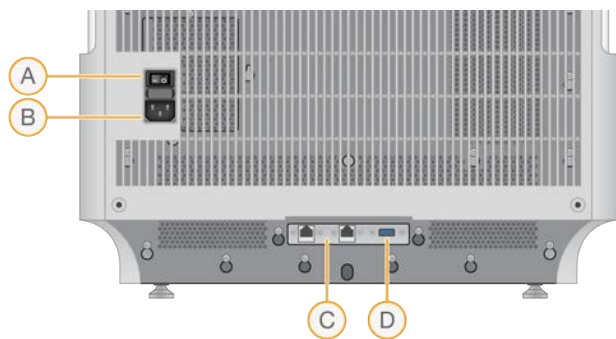
Strömanslutning och andra anslutningar

Du kan försiktigt flytta på instrumentet för att komma åt strömbrytaren, USB-porten och andra anslutningar för tillbehör på baksidan av instrumentet.

På instrumentets baksida finns strömbrytaren och uttaget som styr strömtillförseln till instrumentet, samt två Ethernet-portar för valfri Ethernet-anslutning. En USB 3.0-port gör det möjligt att ansluta en extern bärbar enhet för dataöverföring (exFAT stöds inte på den här Linux-baserade plattformen).

Sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 är utrustade med två Ethernet-portar för att utöka systemfunktionen och flexibiliteten. Exempelvis kan en Ethernet-port användas för kommunikation med en intern nätverksenhet och den andra porten användas för extern kommunikation med till exempel BaseSpace-sekvenseringshubb eller Proactive Support.

Bild 2 Den bakre panelens komponenter

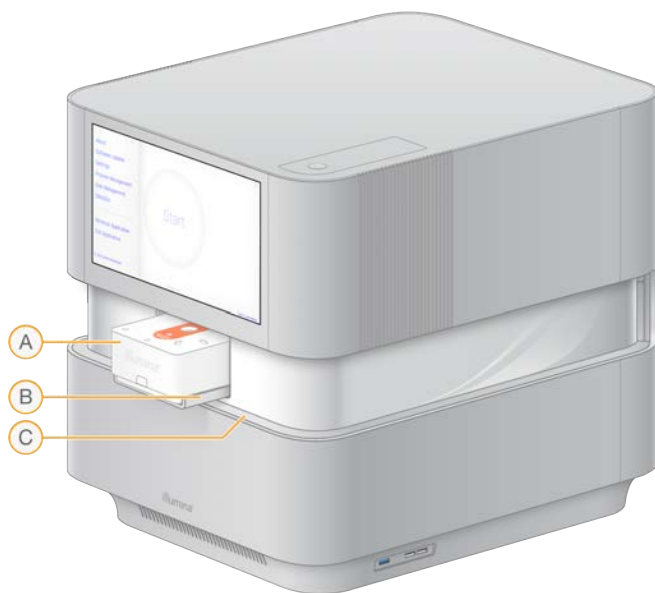


- A. **Strömbrytare** – Slår på och av instrumentet.
- B. **Eluttag** – För anslutning av strömkabeln.
- C. **Ethernet-portar (2)** – Valfri anslutning av en Ethernet-kabel.
- D. **USB 3.0-port** – Används för att ansluta en extern bärbar enhet för dataöverföring.

Fack för förbrukningsmaterial

Facket för förbrukningsmaterial är till för kassetten, inklusive flödescellen och det utspädda biblioteket, som används för en sekvenseringskörning.

Bild 3 Fack laddat med förbrukningsmaterial



- A. **Kassett** – Innehåller flödescellen, biblioteket och reagenserna. Den samlar även in använda reagenser under körningen.
- B. **Fack** – Håller kassetten på plats under sekvensering.
- C. **Lucka** – Öppnas för att ge åtkomst till facket för förbrukningsmaterial.

Integrerad programvara

Systemets programsvit innehåller integrerade program som utför sekvenseringskörningar och analyser.

- **Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000** – Styr instrumentets drift och har ett gränssnitt som kan användas för att konfigurera systemet, konfigurera en sekvenseringskörning och övervaka körningsstatistiken under sekvenseringen.
- **Real-Time Analysis (RTA3)** – Utför bildanalys och basbestämning under körningen. Mer information finns i [Utdata från sekvensering på sidan 53](#).
- **Universal Copy Service** – Kopierar sekvenseringens utdatafiler från körningsmappen till BaseSpace-sekvenseringshubb (om tillämpligt) och utdatamappen, där du har tillgång till dem.

Kontrollprogrammet är interaktivt och kör automatiserade bakgrundsprocesser. Real-Time Analysis och Universal Copy Service kör endast bakgrundsprocesser.

Systeminformation

Välj kontrollprogrammenyn i det övre vänstra hörnet för att öppna avsnittet About (Om). I avsnittet About (Om) finns Illuminas kontaktinformation och följande systeminformation:

- Instrumentets serienummer
- Datornamn
- Programsvitens version
- Operativsystemsversion för avbildning
- Totalt antal körningar

Aviseringar och varningar

Aviseringsikonen finns i det övre högra hörnet. När en varning eller ett fel inträffar glider den högra panelen ut för att visa aviseringarna. Du kan när som helst välja ikonen för att visa en lista med aktuella eller gamla aviseringar för varningar och fel.

- Varningar bör uppmärksammas, men du bör inte avbryta körningen eller vidta någon annan åtgärd.
- Fel måste åtgärdas innan en körning startas eller återupptas.

Minimera kontrollprogrammet

Minimera kontrollprogrammet om du vill få åtkomst till andra program. Till exempel för att gå till utdatamappen i Utforskaren eller hitta ett provark.

1. Välj **Minimize Application** (Minimera program) i kontrollprogrammets meny. Kontrollprogrammet minimeras.

2. Välj **NextSeq 1000/2000 Control Software** (NextSeq 1000/2000-kontrollprogram) i verktygsfältet för att maximera kontrollprogrammet.

Processhantering

På skärmen Process Management (Processhantering) visas tillfälliga körningar som lagras på `/usr/local/illumina/runs`. Varje körning identifieras med körningsdatum, namn och ID. Information som körningsstatus, sekundäranalys, utdatamapp och molnlagring visas även för varje körning. Välj körningen för att visa ytterligare information, inklusive arbetsflöde, genomsnittlig % Q30, totalt antal godkända läsningar och totalt utbyte. Information om hur du tar bort körningar och frigör utrymme finns i avsnittet [Frigöra utrymme på hårddisken på sidan 73](#). Information om hur du repeterar en körning finns i [Repetera en körning på sidan 81](#).

Körningsstatus

I det här avsnittet visas sekvenseringskörningens status.

- **In Progress** (Pågående) – Sekvenseringskörningen pågår.
- **Complete** (Slutförd) – Sekvenseringskörningen har slutförts.
- **Stopped** (Stoppad) – Sekvenseringskörningen har stoppats.
- **Errored** (Fel) – Sekvenseringskörningen har ett fel.

Status för sekundäranalysen

Det här avsnittet visar statusen för den sekundära DRAGEN-analysen på instrumentet. N/A (Ej tillämpligt) visas om analysen utförs i BaseSpace-sekvenseringshubben.

- **Not Started** (Ej påbörjad) – DRAGEN-analysen har inte påbörjats.
- **In Progress** (Pågående) – DRAGEN-analysen pågår.
- **Stopped** (Stoppad) – DRAGEN-analysen har stoppats.
- **Errored** (Fel) – DRAGEN-analysen har ett fel.
- **Complete** (Slutförd) – DRAGEN-analysen har slutförts.

Status för utdatamappen

Det här avsnittet visar status för filer som kopieras till utdatamappen:

- **In Progress** (Pågående) – Filerna kopieras till utdatamappen.
- **Complete** (Slutförd) – Filerna har kopierats till utdatamappen.

Status för molnet (BaseSpace-sekvenseringshubb)

Det här avsnittet visar status för filer som laddas upp till BaseSpace-sekvenseringshubb via molnet:

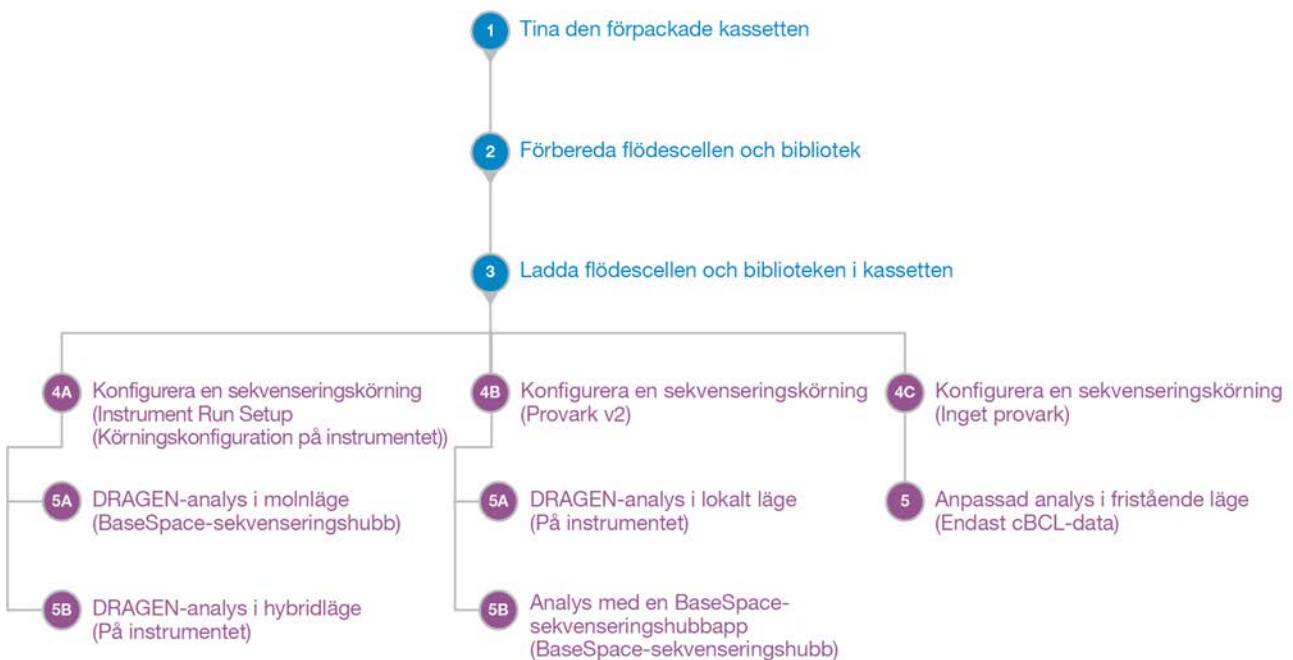
- **In Progress** (Pågående) – Kontrollprogrammet överför filer till BaseSpace-sekvenseringshubb.
- **Complete** (Slutförd) – Alla filer har överförts till BaseSpace-sekvenseringshubb.

Felsöka ett statusproblem

- Om körningen pågår ska du stänga skärmen Process Management (Processhantering), vänta i fem minuter och sedan öppna den igen.
- Om körningen inte är igång ska du utföra en kall omstart på instrumentet och därefter öppna skärmen Process Management (Processhantering). Mer information finns i [Utföra en kall omstart på instrumentet på sidan 81](#).

Diagram över sekvenseringsprotokollet

Följande diagram illustrerar sekvenseringsprotokollet som används med NextSeq 1000/2000.



Så här fungerar sekvensering

Sekvensering på sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 utgörs av klustergenerering, sekvensering och analys. Varje steg utförs automatiskt under en sekvenseringskörning. Beroende på systemets konfiguration kan ytterligare analyser utföras utanför instrumentet när körningen har slutförts.

Klustergenerering

Biblioteket¹ denatureras automatiskt till enkla strängar och späds ut ytterligare i instrumentet. Under klustergenerering binds enstaka DNA-molekyler till flödescellens yta och amplifieras för att skapa kluster². Klustergenerering tar cirka fyra timmar.

Sekvensering

Kluster avbildas med hjälp av tvåkanalskemi, en grön kanal och en blå kanal, för att koda data för de fyra nukleotiderna. När avbildningen av en platta på flödescellen har slutförts avbildas nästa platta. Processen upprepas för varje sekvenseringscykel (cirka fem minuter per cykel). Efter bildanalysen utför programvaran för realtidsanalys basbestämning³, filterning och kvalitetsbedömning.⁴

Primär analys

Kontrollprogrammet överför automatiskt basbestämningsfiler⁵ (*.cbcl) till den angivna utdatamappen för dataanalys under körningen. Under sekvenseringskörningen utför programvaran för realtidsanalys (RTA3) bildanalys, basbestämning och demultiplexering⁶. När sekvenseringen har slutförts startar sekundäranalysen. Vilken metod för sekundär dataanalys som används beror på din applikation och systemkonfiguration.

Sekundäranalys

BaseSpace-sekvenseringshubb är Illuminas molntjänstmiljö för körningsövervakning, dataanalys, lagring och samarbete. Den är värd för DRAGEN och BaseSpace-sekvenseringshubbapparna, som stöder vanliga analysmetoder för sekvensering.

Efter att den första sekvensanalysen är klar utför DRAGEN en sekundäranalys med hjälp av en av de tillgängliga analysarbetsflödena.

Om du använder moln- eller hybridläge hämtar DRAGEN provark, referensgenom och indatafilerna för körningen från Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) i BaseSpace-sekvenseringshubb. I molnläget laddas cBCL-data automatiskt upp till BaseSpace-sekvenseringshubb och BaseSpace-sekvenseringshubb initierar en sekundäranalys i DRAGEN. I hybridläget utför DRAGEN en sekundäranalys på instrumentet och utdatafiler kan lagras i en angiven mapp eller i molnet.

¹Ett DNA- eller RNA-prov som har adaptrar kopplade för sekvensering. Beredningsmetod varierar.

²En klonal grupp DNA-strängar på en flödescell som producerar en sekvensavläsning. Varje DNA-sträng på en flödescell utgör en mall som amplifieras tills klustret består av hundratals eller tusentals kopior. En flödescell med 10 000 kluster producerar till exempel 10 000 unika avläsningar eller 20 000 paired-end-avläsningar.

³Fastställa en bas (A, C, G eller T) för varje kluster i en platta vid en specifik cykel.

⁴Beräknar en uppsättning kvalitetsvariabler för varje basbestämning och använder därefter variabelvärdet för att fastställa kvalitetsresultatet.

⁵Innehåller basbestämningen och tillhörande kvalitetsresultat för varje kluster i varje sekvenseringscykel.

⁶En analysprocess som särskiljer avläsningar för varje bibliotek i en uppsättning.

Om du använder lokalt läge hämtar DRAGEN det angivna provarket, referensgenomet och indatafilerna för körningen från sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000. DRAGEN utför en sekundäranalys på instrumentet och utdatafilerna lagras i en angiven utdatamapp. Om Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) har valts kan analyser även startas via BaseSpace-sekvenseringshubbapparna när sekvenseringen har slutförts.

Om du använder det fristående läget kan du konfigurera en körning utan ett provark. Det här arbetsflödet rekommenderas för anpassade analysflöden som börjar med cBCL-data.

- Mer information om BaseSpace-sekvenseringshubben finns i [onlinehjälp](#)en för [BaseSpace-sekvenseringshubben](#).
- Mer information om DRAGEN finns på hjälpsidan för [DRAGEN Bio-IT Platform](#).
- En översikt över alla appar finns på [BaseSpace Apps](#).

Systemkonfiguration

Det här avsnittet innehåller anvisningar för hur du konfigurerar systemet, inklusive beskrivningar av programinställningar.

Anvisningarna beskriver främst kontrollprogrammet, med viss information om konfigurering av nätverk och operativsystem.

i | Om du använder Google Chrome på instrumentet uppmanas du att låsa upp din inloggningsnyckelring. Du kan ignorera och stänga ner den uppmaningen.

Krav på användarkonton

Linux-operativsystem har tre konton:

- root (superadministratör)
- ilmnadmin (administratör)
- ilmnuser (användare)

Administratörskontot är endast avsett att användas för att tillämpa systemuppdateringar, till exempel för att uppdatera kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000, eller för att användas av IT-personal för att montera en permanent nätverksenhet.

Använd alla andra funktioner, inklusive sekvensering, från användarkontot.

Lösenordskrav

Fältserviceteknikern initierar en lösenordsändring för alla tre konton efter att ha slutfört instrumentinstallationen. Uppdatera respektive lösenord var 180:e dag. Systemet kommer att meddela när det är dags.

Tabell 1 Standardprinciper för lösenord

Princip	Inställning
Använd lagring av gamla lösenord	Fem lösenord sparas
Utelåsningströskel	Tio ogiltiga inloggningsförsök
Minsta längd på lösenord	Tio tecken
Minsta teckenvariation	Tre var av följande tecken: siffror, versaler, gemener och symboler
Maximalt antal upprepade tecken	Tre tecken

Princip	Inställning
Lösenord måste uppfylla krav på komplexitet	Inaktiverat
Spara lösenord med omvändbar kryptering	Inaktiverat

Lägga till en ny användare

1. Logga in på ilmnadmin.
2. Välj strömbrytaren och öppna sedan listrutan ilmnadmin.
3. Välj **Account Settings** (Kontoinställningar).
4. Välj **Unlock** (Lås upp) och ange sedan lösenordet för ilmnadmin.
5. Välj **Add user** (Lägg till användare).
6. Välj standardkontotyp och ange ett nytt användarnamn.
7. Välj **Set password now** (Ange lösenord nu) och ange ett lösenord.
8. Välj **Add** (Lägg till).
Den nya användaren läggs till i listan Users (Användare).
9. Ge användaren åtkomst till kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 enligt följande.
 - a. Öppna terminalen.
 - b. Ange följande:

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <new user name>
```
 - c. Ange lösenordet för ilmnadmin om du uppmanas att göra det.
10. Gör så här för att bekräfta att användarbehörigheterna har ställts in.
 - a. Logga in på det nya användarkontot.
 - b. Gå till NextSeq 1000/2000-kontrollprogrammet.
 - c. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
 - d. Se till att du kan välja och spara sökvägen till utdatamappen under Default Output Folder (Standardutdatamapp).
Behörigheterna har ställts in om du kan välja och spara sökvägen för utdatamappen utan några fel.

Återställa lösenord

Det här avsnittet innehåller information om hur du återställer lösenorden för ilmnuser, ilmnadmin eller root. Det är inte möjligt att återhämta lösenord. Återställning av lösenord åsidosätter inte att ett konto har låsts efter för många felaktiga lösenordsförsök. Du måste vänta tio minuter innan du kan återställa lösenordet eller försöka att logga in.

Återställa lösenordet för ilmnuser

Du kan återställa ilmnuser-lösenordet om du känner till ilmnadmin- eller root-lösenordet.

1. Logga in på ilmnadmin.
2. Öppna terminalen.
3. Ange `sudo passwd ilmnuser`.
4. Ange lösenordet för ilmnadmin när du uppmanas att göra det.
5. Ange ett nytt lösenord för ilmnuser när du uppmanas att göra det.
6. Skriv in det nya ilmnuser-lösenordet igen när du uppmanas att göra det för att bekräfta det nya lösenordet.

Återställa lösenordet för ilmnadmin

Du kan återställa ilmnadmin-lösenordet om du känner till root-lösenordet.

1. Logga in på root.
2. Öppna terminalen.
3. Ange `passwd ilmnadmin` för att ändra ilmadmin-lösenordet eller ange `passwd ilmnuser` för att ändra lösenordet för ilmnuser.
4. Ange det nya lösenordet när du uppmanas att göra det.
5. Skriv in det nya lösenordet igen när du uppmanas att bekräfta det nya lösenordet.

Återställa lösenordet för root

Använd ett av följande alternativ för att återställa rotlösenordet:

- Om du kommer ihåg lösenordet från den tidpunkt då den senaste OS-avbildningen skapades kan du återställa till den sparade systemavbildningen.
- Kontakta Illuminas tekniska support om du inte kommer ihåg lösenordet.

Konfigurera BaseSpace-sekvenseringshubb och Proactive Support

Använd följande anvisningar för att konfigurera BaseSpace-sekvenseringshubb och Proactive Support på systemet. Information om hur du konfigurerar ett BaseSpace-sekvenseringshubbkonto finns i [onlinehjälp](#)en för *BaseSpace-sekvenseringshubb*.

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.

2. Du kan använda ett av följande alternativ för att konfigurera BaseSpace-sekvenseringshubb och Proactive Support:

Alternativ	Beskrivning och krav
Proactive Support Only (Endast Proactive Support)*	Skicka instrumentets prestandadata till Illumina för snabbare felsökning. Du behöver en internetanslutning.
Proactive and Run Monitoring (Proactive och körningsövervakning)	Skicka InterOp- och loggfiler till BaseSpace-sekvenseringshubb för fjärrövervakning. Det här alternativet är standardinställningen. Du behöver ett BaseSpace-sekvenseringshubbkonto och en internetanslutning.
Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring)	Skicka InterOp-filer, loggfiler och körningsdata till BaseSpace-sekvenseringshubb för fjärrövervakning och analys. Du behöver ett BaseSpace-sekvenseringshubbkonto, internetanslutning och ett provark.
None (Ingen)	Koppla från körningar från BaseSpace-sekvenseringshubb och skicka inte prestandadata från instrumentet till Illumina Proactive Support.

* Beroende på kontrollprogramversionen kan namnet på inställningen i programmets gränssnitt skilja sig från namnet i den här guiden.

Proactive Support är aktiverat för alla alternativ förutom None (Ingen). Det här är en kostnadsfri tjänst som gör att du kan se prestandadata på MyIllumina Customer Dashboard och gör det möjligt för Illuminas serviceteam att felsöka problem snabbare.

i | Proactive and Run Monitoring (Proactive och körningsövervakning) är aktiverat som standard. Välj **None** (Ingen) om du vill sluta använda tjänsten.

- Välj **Save** (Spara) för att slutföra konfigurationen om du valde None (Ingen) i steg 2. Gå annars vidare till steg 6.
- Välj en plats på BaseSpace-sekvenseringshubbens server där data ska lagras i listan Hosting Location (Värdplats).
Se till att du använder värdplatsen i eller närmast din region.
- Om du har en företagsprenumeration ska du ange domännamnet (URL) som används för BaseSpace-sekvenseringshubbkontot.
Till exempel: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
- Välj **Save** (Spara).

Ange en standardmapp för utdata

Använd anvisningarna i det här avsnittet för att välja en standardmapp för utdata. Du kan ändra utdatamappen för varje körning under körningskonfigurationen. Programmet sparar cBCL-filer¹ och annan körningsdata i utdatamappen.

En utdatamapp måste anges om inte BaseSpace-sekvenseringshubb är konfigurerad för Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring). Använd endast en extern enhet eller nätverksenhet som standardmapp för utdata. Att använda en utdatamapp på instrumentet påverkar sekvenseringskörningen negativt.

Ange en utdatamapp på en extern enhet

Använd nedanstående anvisningar för att välja en extern bärbar enhet som standardutdatamapp. En självdriven enhet som är formaterad till NTFS eller GPT/EXTRA rekommenderas.

1. Anslut en extern bärbar enhet med hjälp av USB 3.0-porten på sidan eller baksidan av instrumentet.
Kontrollera att den externa bärbara enheten tillåter skrivbehörighet. Om den är skrivskyddad kan programmet inte spara data på den.
2. Skapa en ny mapp på den externa bärbara enheten. Den här mappen blir standardutdatamappen. Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 kräver minst två nivåer av kapslade mappar för att känna igen platsen som en extern bärbar enhet.
3. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
4. Välj den befintliga sökvägen under Default Output Folder (Standardutdatamapp) och gå till den nya mappen på den externa bärbara enheten.
5. **[Valfritt]** Välj ett alternativ i listrutan Hosting Location (Värdplats) om du valde **Online Run Setup** (Onlinekonfiguration av körning) under Run Mode (Körningsläge).
6. Välj **Save** (Spara).

Ange en standardutdatamapp för nätverksenheten

Använd följande anvisningar för att montera en permanent nätverksenhet och ange en standardmapp för utdata. Server Message Block (SMB)/Common Internet File System (CIFS) och Network File System (NFS) är de enda metoderna som stöds för montering av en permanent nätverksenhet på NextSeq 1000/2000.

Anvisningar för SMB-/CIFS-montering

1. Välj **Minimize Application** (Minimera program) om NextSeq 1000/2000-kontrollprogrammet är öppet.

¹Innehåller basbestämningen och tillhörande kvalitetsresultat för varje kluster i varje sekvenseringscykel.

2. Logga in på ilmnadmin.
3. Välj **Applications** (Program).
4. Välj **Terminal** under Favorites (Favoriter).
5. Ange `sudo touch /root/.smbcreds` och välj sedan **Enter** (Retur).
6. Ange lösenordet för ilmnadmin när du uppmanas att göra det.
Lösenordet för ilmnadmin måste anges varje gång du använder ett `sudo`-kommando.
7. Ange `sudo gedit /root/.smbcreds` och välj sedan **Enter** (Retur) för att öppna textfilen som heter `smbcreds`.
8. När textfilen `.smbcreds` öppnas ska du ange nätverkets inloggningsuppgifter i nedanstående format.


```
username=<user name> (användarnamn)
password=<password> (lösenord)
domain=<domain_name> (domännamn)
```

Hakparenteser krävs inte för användarnamn, lösenord och domänautentiseringsuppgifter. Domänautentiseringsuppgifter krävs endast om fjärrkontot är en del av en domän.
9. Välj **Save** (Spara) och stäng filen.
10. Identifiera servernamnet och delningsnamnet för SMB-/CIFS-servern.
Servernamnet och delningsnamnet får inte innehålla mellanslag, till exempel:
Servernamn: 192.168.500.100 eller Myserver-myinstitute-03
Delningsnamn: /share1
11. Ange `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` i terminalen och välj sedan **Enter** (Retur) för att bevilja läsåtkomst till textfilen `.smbcreds`.
12. Ange `sudo mkdir /mnt/<local name>`.
`<local name>` är namnet på den nya katalogen i din nätverksenhet och kan innehålla mellanslag. Det här är katalogen som kommer att visas på instrumentet.
13. Välj **Enter** (Retur).
14. Ange `sudo gedit /etc/fstab` och välj sedan **Enter** (Retur).
15. När `fstab`-filen öppnas ska du lägga till följande till slutet av filen och sedan välja **Enter** (Retur).


```
//<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. Välj **Save** (Spara) och stäng filen.
17. Ange `sudo mount -a -vvv` i terminalen och välj sedan **Enter** (Retur).
Nätverksenheten är nu monterad som `/mnt/<local name>`.
18. Ange `<df | grep <local name>>` och välj sedan **Enter** (Retur).
Fildelningens namn ska visas.

19. Ange `sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>` för att skapa en undermapp i den lokala katalogen. `<output directory>` representerar standardmappen för utdata. Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 kräver minst två nivåer av kapslade mappar för att känna igen platsen som en monterad nätverksenhet.
20. Utför en kall omstart på instrumentet. Mer information finns i [Utföra en kall omstart på instrumentet på sidan 81](#).
21. Ställ in den monterade permanenta nätverksenheten som standardutdatamapp. Mer information finns i [Ange den permanenta nätverksenheten som standardutdatamapp på sidan 17](#).

Anvisningar för NFS-montering

1. Välj **Minimize Application** (Minimera program) om NextSeq 1000/2000-kontrollprogrammet är öppet.
2. Logga in på ilmnadmin.
3. Identifiera servernamnet för NFS-servern.
Servernamnet får inte innehålla mellanslag, till exempel:
Servernamn: 192.168.500.100 eller Myserver-myinstitute-03
4. Välj **Applications** (Program).
5. Välj **Terminal** under Favorites (Favoriter).
6. Ange `sudo mkdir /mnt/<local name>` och välj sedan **Enter** (Retur).
`<local name>` är namnet på den nya katalogen i din nätverksenhet.
7. Ange `sudo gedit /etc/fstab` och välj sedan **Enter** (Retur).
8. När `fstab`-filen öppnas ska du ange nedanstående och sedan välja **Enter** (Retur).
`Server name:/share //mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0`
9. Välj **Save** (Spara) och stäng filen.
10. Ange `sudo mount -a -vvv` i terminalen och välj sedan **Enter** (Retur).
Nätverksenheten är nu monterad i `/mnt/directory` i mappen `<local name>`.
11. Skapa en ny `<sub folder>` i mappen `<local name>`. Undermappen representerar standardmappen för utdata.
Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 kräver minst två nivåer av kapslade mappar för att känna igen platsen som en monterad nätverksenhet.
12. Utför en kall omstart på instrumentet. Mer information finns i [Utföra en kall omstart på instrumentet på sidan 81](#).
13. Ställ in den monterade permanenta nätverksenheten som standardutdatamapp. Mer information finns i [Ange den permanenta nätverksenheten som standardutdatamapp på sidan 17](#).

Ange den permanenta nätverksenheten som standardutdatamapp

1. Logga in på ilmnuser.
2. Välj **Settings** (Inställningar) i menyn i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.
3. Välj den monterade permanenta nätverksenheten som finns vid `/mnt/<local name>/<output directory>`.
4. **[Valfritt]** Välj ett alternativ i listrutan Hosting Location (Värdplats) om du valde **Online Run Setup** (Onlinekonfiguration av körning) under Run Mode (Körningsläge).
5. Välj **Save** (Spara).

Importera anpassade referensgenom

Nya anpassade referensgenom kan endast importeras med administratörskontot. En lista över alla kompatibla referensgenom finns på produktkompatibilitetsidan för NextSeq 1000/2000.

1. Skapa ett referensgenom med appen Reference Builder for Illumina Instruments för BaseSpace-sekvenseringshubb. Mer information finns i *onlinehjälp*en för appen *Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0*.
2. Välj kontrollprogrammets meny och sedan **Process Management** (Processhantering).
3. Säkerställ att inga sekvenseringskörningar körs eller sekundära analyser utförs på instrumentet.
4. Välj **Minimize Application** (Minimera program) i kontrollprogrammets meny.
5. Logga in på ilmnadmin.
6. Välj kontrollprogrammets meny och välj sedan **DRAGEN**.
7. Välj **View Installed Genomes** (Visa installerade genom) i avsnittet Genome (Genom) för att visa en lista över alla för närvarande installerade Illumina-genom och anpassade genom.
8. Stäng modulen.
9. Välj **Choose** (Välj) under Import New Reference Genomes (Importera nya referensgenom), gå till referensgenomfilen (*.tar.gz) på den bärbara eller monterade nätverksenheten och välj sedan **Open** (Öppna).
10. Välj **Import** (Importera).

Importera basfiler för brus

Om du använder DRAGEN Enrichment-arbetsflödet i somatiskt läge kan du använda en brusbasfil för att filtrera bort sekvenseringsbrus eller systematiskt brus. Du kan ladda ner anpassade standardfiler för brus från [Illumina Support Center](#) eller skapa en anpassad basfil.

Skapa en anpassad brusbasfil

Om du använder somatiskt läge kan du skapa en anpassad brusbasfil. Brusbasfilen är byggd med normala prover som inte matchar proverna. Det rekommenderade antalet normala prover är 50.

Använd en av följande metoder för att skapa en anpassad brusbasfil:

- Använd servern för DRAGEN Bio-IT Platform. Anvisningar finns *onlinehjälpen* för DRAGEN Bio-IT Platform.
- Använd appen DRAGEN Baseline Builder på BaseSpace-sekvenseringshubb. Använd arbetsflödet BCL Convert (BCL-konvertering) i Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) på BaseSpace-sekvenseringshubb för att generera FASTQ-filer. Mata in FASTQ-filerna i DRAGEN Baseline Builder-appen när sekvenseringskörningen har slutförts och 50 prover är tillgängliga.

Importera basfilerna med användargränssnittet

Efter att ha importerat basfilen kan du ställa in sekvenseringskörningen med DRAGEN Enrichment-arbetsflödet i somatiskt läge.

1. Ladda ner en standardbasfil från [Illumina Support Center](#) eller ladda ner den anpassade basfilen från DRAGEN-servern eller DRAGEN Baseline Builder-appen.
2. Välj **Minimize Application** (Minimera program) i kontrollprogrammets meny.
3. Logga in på ilmnadmin.
4. Välj **Applications** (Program) välj sedan **Favorites** (Favoriter).
5. Välj **+Other Locations** (+Andra platser) och välj sedan **Computer** (Dator).
6. Dubbelklicka på **usr** och sedan på **local**.
7. Dubbelklicka på **illumina** och sedan på **aux_files**.
8. Dra brusbasfilen till aux_files.

Importera basfiler för brus med terminalen

Efter att ha importerat basfilen kan du ställa in sekvenseringskörningen med DRAGEN Enrichment-arbetsflödet i somatiskt läge.

1. Ladda ner en standardbasfil från [Illumina Support Center](#) eller ladda ner den anpassade basfilen från DRAGEN-servern eller DRAGEN Baseline Builder-appen.
2. Välj **Minimize Application** (Minimera program) i kontrollprogrammets meny.
3. Logga in på ilmnadmin.
4. Välj **Applications** (Program).
5. Välj **Terminal** under Favorites (Favoriter).
6. Ange följande kommando.

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

Konfigurera körningsläget

Körningsläget gäller alla körningar och avgör var körningsparametrarna anges och hur data analyseras.

Moln- eller hybridläge

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. Välj **Online Run Setup** (Onlinekonfiguration av körning) under BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support (BaseSpace-sekvenseringshubbtjänster och Proactive Support).
3. Konfigurera ytterligare inställningar på lämpligt sätt genom att välja följande:
 - a. **Proactive and Run Monitoring** (Proactive och körningsövervakning) eller **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, övervakning och lagring av körning).
 - b. Listrutan för **Hosting Location** (Värdplats).
 - c. [Valfritt] Ange ett **Private Domain Name** (Eget domännamn).
4. Välj **Save** (Spara).

Lokalt eller fristående läge

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. Välj **Local Run Setup** (Lokal konfiguration av körning) under BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support (BaseSpace-sekvenseringshubbtjänster och Proactive Support).
3. Konfigurera ytterligare inställningar på lämpligt sätt genom att välja följande:
 - a. **Proactive Support Only** (Endast Proactive-support), **Proactive and Run Monitoring** (Proactive och körningsövervakning), **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, övervakning och lagring av körning), eller **None** (Ingen).



BaseSpace-sekvenseringshubb kommer endast tillåta repetitionsfunktionen om **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, körningsövervakning och lagring) är valt. I händelse av ett ogiltigt provark kan du göra korrigeringar i provarket och repetera demultiplexeringsanalysen. Mer information om repetitionsfunktionen på instrumentet finns i [Repetera en körning på sidan 81](#).

- b. Listrutan för **Hosting Location** (Värdplats).
 - c. [Valfritt] Ange ett **Private Domain Name** (Eget domännamn).
4. Välj **Save** (Spara).

Att beakta vid användning av provark för lokalt eller fristående läge

För att analysera med DRAGEN måste du använda provark med v2-filformat. Provark i v2-filformat är även kompatibla med BaseSpace-sekvenseringshubbappar som inte är DRAGEN-aktiverade. Information om hur du skapar ett provark i v2-filformat finns i [Inställningar för provark v2 på sidan 85](#).

Anpassa instrumentet

Det här avsnittet innehåller information om hur du konfigurerar tillgängliga anpassningsinställningar. Information om hur du konfigurerar en standardmapp för utdata finns i [Ange en standardmapp för utdata på sidan 14](#).

Namnge instrumentet

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. Välj Instrument Nickname (Instrumentets kortnamn) och ange ett kortnamn för instrumentet. Namnet visas högst upp på skärmen.
3. Välj **Save** (Spara).

Ange inställningar för denaturering och utspädning

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. Du kan välja att automatiskt denaturera och späda ut bibliotek på instrumentet. Inställningen är som standard det alternativ som valts för den föregående körningen.
 - Markera kryssrutan **Denature and Dilute On Board** (Denaturera och späda på instrumentet) för att denaturera och späda ut bibliotek automatiskt på instrumentet.
 - Avmarkera kryssrutan **Denature and Dilute On Board** (Denaturera och späda på instrumentet) för att denaturera och späda ut bibliotek manuellt.Anvisningar för hur du denaturerar och späder ut bibliotek manuellt finns i *Guide för denaturering och utspädning för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139235)*.

Ange inställningar för automatisk tömning av reagens

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. Välj om systemet automatiskt ska tömma oanvända reagenser till behållaren för förbrukade reagenser efter varje körning för att effektivisera kasseringen av reagens efter en slutförd körning:
 - Markera kryssrutan **Purge Reagent Cartridge** (Töm reagenskassetten) för att automatiskt tömma reagenskassetten.
 - Avmarkera kryssrutan **Purge Reagent Cartridge** (Töm reagenskassetten) för att hoppa över automatisk tömning (det här är standardinställningen).Rensning av oanvända reagenser lägger till upp till 2 timmar till arbetsflödet.
3. Välj **Save** (Spara).

Konfigurera programuppdateringar

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. Välj om systemet ska söka efter programuppdateringar automatiskt:
 - Markera kryssrutan **Autocheck for software updates** (Sök efter programuppdateringar automatiskt) om du vill att systemet ska söka efter uppdateringar automatiskt.
 - Avmarkera kryssrutan **Autocheck for software updates** (Sök efter programuppdateringar automatiskt) om du vill söka efter uppdateringar manuellt.

Automatiska kontroller av programuppdateringar kräver en internetanslutning. Mer information om att installera programuppdateringar finns i avsnittet [Programuppdateringar på sidan 73](#).
3. Välj **Save** (Spara).

Ändra LCD-ljusstyrkan

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. För reglaget för LCD Brightness (LCD-ljusstyrka) till önskad styrka.
3. Välj **Save** (Spara).

Ange en proxyserver

Stöd för proxyserver är endast tillgängligt i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 v1.3.

1. Välj **Settings** (Inställningar) i kontrollprogrammets meny.
2. Välj de aktuella proxyinställningarna för att öppna skärmen Proxy Settings (Proxyinställningar).
3. Markera kryssrutan **Enable Proxy** (Aktivera proxy) och ange sedan serverns IP-adress.
4. **[Valfritt]** Markera kryssrutan **Requires Username and Password** (Kräver användarnamn och lösenord) om proxyservern kräver autentisering och ange sedan användarnamnet och lösenordet.
5. Välj **Save** (Spara) för att spara och validera proxyinformationen.
6. Välj ett av följande alternativ:
 - Välj **Yes, I'm Finished** (Ja, jag är klar) för att starta om systemet och tillämpa de nya proxyinställningarna.
 - Välj **No, Take Me Back** (Nej, ta mig tillbaka) för att gå tillbaka till skärmen Settings (Inställningar). De nya proxyinställningarna sparas men tillämpas inte förrän du startar om systemet.

Förbrukningsmaterial och utrustning

Det här avsnittet listar allt som finns i reagenssatsen med förvaringsförhållanden. Det innehåller även information om tillhörande förbrukningsmaterial och utrustning som du måste köpa för att slutföra protokollet samt utföra underhållnings- och felsökningsprocedurer.


Förbrukningsmaterial för sekvensering

Sekvensering på NextSeq 1000/2000 kräver en Illumina NextSeq 1000/2000 P2-reagenssats för engångsbruk eller en Illumina NextSeq 1000/2000 P3-reagenssats för engångsbruk. NextSeq 1000/2000 P2-reagenssatsen finns i tre storlekar (100 cykler, 200 cykler och 300 cykler) och NextSeq 1000/2000 P3-reagenssatsen finns i fyra storlekar (50 cykler, 100 cykler, 200 cykler och 300 cykler).

Sekvenseringssystemet NextSeq 1000 är endast kompatibelt med Illumina NextSeq 1000/2000 P2-reagenssatsen.

Satsen med reagenser innehåller kassetten och flödescellen som behövs för sekvensering. Så här gör du när du tar emot NextSeq 1000/2000 P2-reagenssatser eller Illumina NextSeq 1000/2000 P3-reagenssatser:

- Förvara omedelbart komponenterna vid den angivna temperaturen för att säkerställa korrekt prestanda.
- Öppna inte de silverfärgade foliepåsarna förrän du uppmanats att göra det.
- Förvara kassetterna i deras förpackningar för att undvika att riva eller punktera foliepåsen.
- Förvara kassetterna med pilarna vända uppåt.

 Om kassetts etikett inte är vänd uppåt påverkas data från sekvenseringen negativt.

Tabell 2 Satsens innehåll

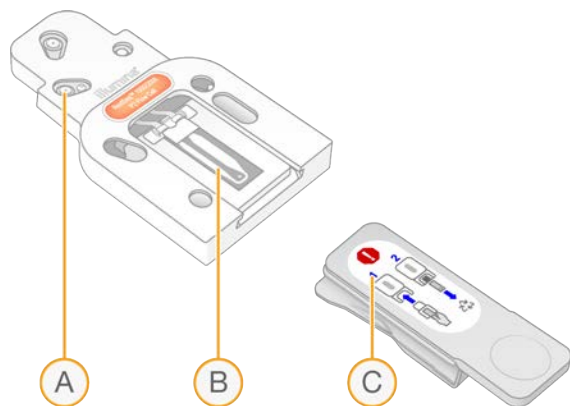
Förbrukningsmaterial	Antal	Lagringstemperatur	Mått
Kassett	1	-25 °C till -15 °C	29,2 cm × 17,8 cm × 12,7 cm (11,5 in × 7 in × 5 in)
Flödescell	1	2 °C till 8 °C*	21,6 cm × 12,7 cm × 1,9 cm (8,5 in × 5 in × 0,75 in)
RSB med Tween 20	1	-25 °C till -15 °C	4 cm × 6,6 cm × 5 cm (1,6 in × 2,6 in × 2 in)

*Levereras vid rumstemperatur.

Båda förbrukningsartiklarna har ID-nummer för spårning och för att säkerställa kompatibilitet. Kassetten och flödescellen använder RFID¹.

Flödescell

Flödescellen är en mönstrad, enspårig flödescell. Den glasbaserade flödescellen omsluts av en plastkassett. Ett grått skydd täcker och sticker ut från flödescellen för att säkerställa säker hantering.



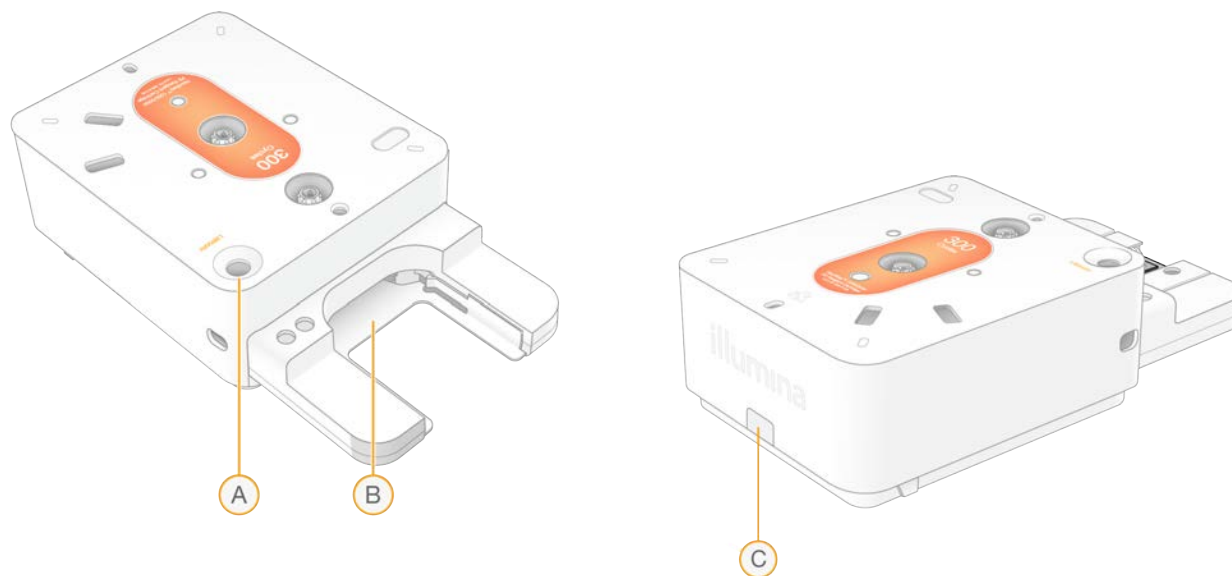
- A. Plastkassett
- B. Flödescell
- C. Grått skydd

Flödescellens insida är täckt med miljontals nanobrunnar. Det genereras kluster i nanobrunnarna som sedan används för sekvenseringsreaktionen. Nanobrunnarnas placering ökar antalet utdataavläsningar och data.

¹radiofrekvensidentifiering

Kassett

Kassetten med reagenser för sekvensering är redan fylld med kluster-, sekvenserings-, paired-end- och indexeringsreagenser. Den har en folieförseglad biblioteksbehållare och ett fack för en flödescell på framsidan.



- A. Biblioteksbehållare
- B. Flödescellsfack
- C. Avtappningsplugg

Kassetten innehåller förbrukningsmaterial för en körning: reagenser, bibliotek och flödescell. Biblioteket och flödescellen förs in i den tinade kassetten som i sin tur förs in i instrumentet. När körningen startar överförs reagenser och bibliotek automatiskt från kassetten till flödescellen.

Kassetten innehåller pumpar, ventiler och flödesteknik för systemet. Det finns en behållare på kassetten undersida där använda reagenser samlas in. Instrumenttvättar är inte nödvändiga eftersom kassetten kasseras efter en körning.






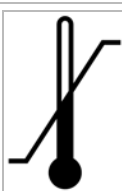
Antal cykler som stöds

Etiketten på kassetten anger hur många cykler som analyseras, inte hur många cykler som utförs. Flödescellen är kompatibel med flertalet cykler och alla avläsningstyper.

Alla kassetter med 100 cykler och 200 cykler innehåller 38 extra cykler. Kassetten med 300 cykler innehåller ytterligare 27 cykler. Till exempel har en kassett med 300 cykler tillräckligt med reagens för upp till 327 sekvenseringscykler. Information om antalet cykler per sekvensering finns i avsnittet [Antal cykler i en avläsning på sidan 30](#).

Symbolförklaring

Följande tabell beskriver symbolerna på förbrukningsmaterialet eller förbrukningsmaterialets förpackningar.

Symbol	Beskrivning
	Datomet som förbrukningsmaterialet går ut. För bästa resultat bör förbrukningsmaterialet användas före det här datomet.
	Anger tillverkaren (Illumina).
	Användningsområde: Endast för forskningsbruk.
	Anger artikelnumret. Gör det möjligt att identifiera förbrukningsmaterialet. ¹
	Anger batchkoden. Gör det möjligt att identifiera den batch eller det parti som förbrukningsmaterialet tillhör. ¹
	Indikerar hälsofara.
	Tillåtet intervall för lagringstemperatur i grader Celsius. Förvara förbrukningsmaterialet inom det angivna intervallet. ²

Tillhörande förbrukningsmaterial

Köp följande förbrukningsmaterial för sekvensering och underhåll.

Förbrukningsmaterial för sekvensering

Tabell 3 Förbrukningsmaterial för sekvensering

Förbrukningsmaterial	Tillverkare	Användningsområde
Engångshandskar, puderfria	Valfri leverantör av laborieutrustning	Allmänt bruk.
Satsen NextSeq 1000/2000 P2 (v3) Reagents	Illumina: katalognr 20046811 (100 cykler), katalognr 20046812 (200 cykler), katalognr 20046813 (300 cykler)	Innehåller en reagenskassett, en flödescell och NextSeq 1000/2000 RSB med Tween 20 för en körning. Kompatibel med NextSeq 1000 och NextSeq 2000.
Satsen NextSeq 2000 P3 Reagents	Illumina: katalognr 20046810 (50-cykler), katalognr 20040559 (100 cykler), katalognr 20040560 (200 cykler), katalognr 20040561 (300 cykler)	Innehåller en reagenskassett, en flödescell och NextSeq 1000/2000 RSB med Tween 20 för en körning. Endast kompatibel med NextSeq 2000.
Mikrorör, 1,5 ml	Fisher Scientific, katalognr 14-222-158, eller motsvarande rör med låg bindning	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
Pipettspetsar, 10 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Utspädning av bibliotek.
Pipettspetsar, 20 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Utspädning och påfyllning av bibliotek.
Pipettspetsar, 200 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Utspädning av bibliotek.
Pipettspetsar, 1 000 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Används för att sticka hål på biblioteksbehållarens folie.
[Tillval] PhiX Control v3	Illumina, katalognr FC-110-3001	Används för att utföra en körning med endast PhiX eller för att berika en PhiX-kontroll.

Förbrukningsmaterial	Tillverkare	Användningsområde
[Tillval] Pappershanddukar	Valfri leverantör av laborieutrustning	Torka av kassetten efter ett vattenbad.

Förbrukningsmaterial för underhåll

Tabell 4 Förbrukningsmaterial för underhåll

Förbrukningsmaterial	Tillverkare	Användningsområde
Engångshandskar, puderfria	Valfri leverantör av laborieutrustning	Allmänt bruk.
Reservluftfilter för NextSeq 1000/2000*	Illumina, katalognr 20029759	Används när luftfiltret byts var sjätte månad.

* Instrumentet levereras med ett installerat och ett reservfilter. Om instrumentets garanti inte gäller ansvarar användaren för byten. Förvara i förpackningarna till dess att de används.

Kringutrustning

Köp följande utrustning för sekvenseringsändamål.

Artikel	Tillverkare	Användningsområde
Frys, -25 °C till -15 °C	Valfri leverantör av laborieutrustning	Förvaring av kassetten.
Ishink	Valfri leverantör av laborieutrustning	Förvara bibliotek tills sekvensering.
Pipett, 10 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
Pipett, 20 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Späda ut biblioteken till inläsningskoncentrationen och ladda biblioteken i kassetten.
Pipett, 200 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
Kylskåp, 2 °C till 8 °C	Valfri leverantör av laborieutrustning	Förvara flödescellen eller tina upp kassetten.

Artikel	Tillverkare	Användningsområde
<p>[Tillval] Ett av följande temperaturreglerade vattenbad eller ett motsvarande vattenbad som kan hålla temperaturen vid 25 °C:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Thermo Scientific Precision 35L Circulating Water Bath (rymmer fem kassetter samtidigt) • SHEL LAB 22L Digital Circulating Water Bath (rymmer tre kassetter samtidigt) 	<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Fisher Scientific, katalognr TSCIR 35 • Shel Lab, katalognr SWBC22 	<p>Tina kassetten.</p>

Protokoll

Det här avsnittet innehåller stegvisa anvisningar för hur du förbereder förbrukningsmaterial, späder ut bibliotek och konfigurerar en sekvenseringskörning i ett av fyra körningslägen (molnläge, hybridläge och lokalt läge använder DRAGEN eller BaseSpace-sekvenseringshubb, och fristående läge är en fristående körning som endast används för att generera cBCL-data för anpassade analysflöden).

Använd skyddsglasögon, laboratorierock och puderfria handskar när du hanterar reagenser och andra kemikalier.

Kontrollera att du har det förbrukningsmaterial och den utrustning som behövs innan du startar ett protokoll. Mer information finns i [Förbrukningsmaterial och utrustning på sidan 22](#).

Följ protokollen i angiven ordning och använd angivna mängder, temperaturer och tidsangivelser.

Att tänka på vid sekvensering

Läs följande information om hur du förbereder dig för utspädning av bibliotek och konfiguration av körningen innan du startar protokollet. Att uppnå optimal inläsningskoncentration är avgörande för en lyckad sekvensering och analys. Att ange rätt antal cykler i en läsning säkerställer optimal utdata.

Inläsningsvolym och -koncentrationer

Inläsningsvolymen är 20 µl. Inläsningskoncentrationen varierar beroende på bibliotekstyp.

Bibliotekstyp	Inläsningskoncentration (pM)
AmpliSeq™ for Illumina Library PLUS	750
Illumina DNA Prep	750
Illumina DNA Prep with Enrichment	1 000
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750
Illumina Stranded mRNA Prep	750
Illumina DNA PCR-Free	1 000
100 % PhiX	650
TruSeq DNA Nano 350	1 200
TruSeq DNA Nano 550	1 500
TruSeq Stranded mRNA	1 000

För andra bibliotekstyper rekommenderas 650 pM som en första inläsningskoncentration. Optimera koncentrationen under efterföljande körningar för att identifiera en inläsningskoncentration som konsekvent ger data som uppfyller specifikationerna.



Använd mätvärdet för inläsningskoncentration i procent i utdatafilen

`PrimaryAnalysisMetrics.csv` som blir tillgänglig när körningen har slutförts för att optimera inläsningskoncentrationen. Om inläsningskoncentrationen i procent är < 95 % ska du öka inläsningskoncentrationen i steg om 100 pM under efterföljande körningar.

Antal cykler i en avläsning

Att ange ett värde mellan 26 och 151 cykler för varje avläsning hjälper till att säkerställa datakvaliteten. Det exakta antalet cykler beror på experimentet. Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 kräver minst en cykel för Read 1 (Avläsning 1), men visar en varning när antalet cykler i Read 1 (Avläsning 1) är färre än 26.

Det totala antalet cykler för Read 1 (Avläsning 1), Index 1, Index 2 och Read 2 (Avläsning 2) kan inte vara större än antalet cykler som stöds av satsen plus 38 cykler för 100-cykel- och 200-cykelsatser och 27 cykler för P3 300-cykelsatser. Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 visar en varning när Index 1 och Index 2 är färre än 6 cykler. Varningen visas inte om Index 1 eller Index 2 är 0 cykler.

Minsta och maximala cykelantalet inkluderar en extra cykel. Lägg alltid till en cykel till den önskade avläsningslängden för att korrigera effekterna av fasning och förfasning. Avläsningslängden är antalet *sekvenseringscykler* i Read 1 (Avläsning 1) och Read 2 (Avläsning 2), vilket inkluderar extracykler och indexcykler. Mer information finns under Fasningskorrigering i [Arbetsflöde för realtidsanalys på sidan 55](#).

Exempel på en körningskonfiguration:

- Ange **36** i fältet Read 1 (Avläsning 1) för en avläsningslängd på 35 (enkel avläsning).
- Ange **151** i fältet Read 1 (Avläsning 1) och **151** i fältet Read 2 (Avläsning 2) för en avläsningslängd på 150 per avläsning (paired-end).

Planera en sekvenseringskörning i BaseSpace-sekvenseringshubb

Använd Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) på BaseSpace-sekvenseringshubb för att skapa och konfigurera körningsinställningar. Om du ställer in en körning i molnläge eller hybridläge ska du lägga till körningskonfigurationen till listan över planerade körningar i BaseSpace-sekvenseringshubbkonto på fliken Planned Runs (Planerade körningar). Körningar som är tillgängliga för sekvensering på sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 visas på fliken Planned Runs (Planerade körningar). Om du ställer in en körning i lokalt läge ska du använda

Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) för att skapa och exportera provarket i v2-filformat. Du kan även läsa [Inställningar för provark v2 på sidan 85](#) för information om hur du skapar ett provark utan BaseSpace-sekvenseringshubb med en tillgänglig mall.

Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) i BaseSpace-sekvenseringshubb stöder inte mer än 1 536 prover.

Konfigurera en körning

1. Gå till BaseSpace-sekvenseringshubb.
2. Ange din e-postadress och lösenordet till BaseSpace-sekvenseringshubb och välj sedan **Sign In** (Logga in).
3. Välj fliken **Runs** (Körningar) och välj sedan listrutan **New Run** (Ny körning).
4. Välj **NextSeq 1000/2000**.
5. Ange ett unikt namn i fältet Run Name (Körningsnamn) för att identifiera den aktuella körningen. Körningsnamnet får som mest innehålla 225 alfanumeriska tecken, blanksteg, bindestreck och understreck.
6. Välj en av följande analysplatser.
 - **BaseSpace** – Analysera sekvenseringsdata i molnet.
 - **Local** (Lokalt) – Analysera sekvenseringsdata på instrumentet eller skapa ett provark v2 för lokalt läge eller hybridläge.

7. Välj en analystyp och version.


Mer information om sekundäranalys finns i [Utdatafiler från sekundäranalys med DRAGEN på sidan 60](#) eller dokumentationen för BaseSpace-sekvenseringshubbappen. Om du valde DRAGEN Single Cell RNA-analys finns det information om kompatibilitet med RNA-biblioteksprepareringssatser på sidan med produktfiler för NextSeq 1000/2000.




För analys på instrumentet måste den valda versionen matcha den version av DRAGEN som är installerad på instrumentet. Information om hur du bekräftar vilken version av DRAGEN som är installerad på instrumentet finns i [Uppdatera arbetsflöden och licenser för DRAGEN på sidan 75](#).

8. **[Valfritt]** Så här konfigurerar du anpassade indexsatser.
Om du använder mer än ett bibliotek måste biblioteken ha samma indexavläsningslängder.
 - a. Välj **Add Custom Index Adapter Kit** (Lägg till en anpassad Indexadaptersats) i listrutan Index Adapter Kit (Indexadaptersats).
 - b. Välj en malltyp och ange satsnamnet, adaptersekvenser, indexstrategier och indexsekvenser. Se till att de andra adaptersekvenserna för index (i5) är framåtriktade.
 - c. Välj **Create New Kit** (Skapa ny sats).
9. **[Valfritt]** Så här konfigurerar du en anpassad biblioteksprepareringssats.
 - a. Välj **Add Custom Library Prep Kit** (Lägg till en anpassad biblioteksprepareringssats) i listrutan Library Prep Kit (Biblioteksprepareringssats).

- b. Ange namn, avläsningstyper, standardavläsningssatser och kompatibla indexadaptersatser för den anpassade biblioteksprepareringsatsen.
 - c. Välj **Create New Kit** (Skapa ny sats).
10. Välj nedanstående instrumentinställningar. Beroende på biblioteksprepareringsatsen väljs rekommenderade alternativ automatiskt. Vissa biblioteksprepareringsatser har ett hårdkodat antal indexavläsningar och avläsningstyper som inte kan ändras.
- Biblioteksprepareringsats
 - Indexadaptersats
 - Antal indexavläsningar
 - Avläsningstyp
 - Antal sekvenseringscykler per avläsning

 Om Not Specified (Ej angivet) är valt för biblioteksprepareringsatsen uppdateras inte antalet indexavläsningar förrän indexsekvenser anges i avsnittet Sample Data (Provdata).

11. Ange provinformation i kalkylbladet Sample Data (Provdata) med något av nedanstående alternativ. Tilldela gruppen ett namn i kolumnen Project (Projekt) för att gruppera prover för sammanslagning av data under nedströmsanalys.
- Välj **Import Data** (Importera data) och välj sedan provarket. Kontrollera att provarket uppfyller formateringskraven. Se [Inställningar för provark v2 på sidan 85](#). Att ändra provarket efter den första nedladdningen kan resultera i analysfel.
 - Klistra in prov-ID och antingen indexplattans brunnspositioner eller i7- och i5-index direkt från en extern fil. Innan informationen klistras in ska du ange antalet provrader i fältet Rows (Rader) och sedan välja +. Prov-ID:n kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken, bindestreck och understreck.
-  För indexplattor med fast layout måste brunnspositionerna anges. För index som inte har en fast layout måste i7- och i5-index anges. i5-index måste anges framåtriktade.
- Ange prov-ID och motsvarande brunnspositioner eller index manuellt. Om Not Specified (Ej angivet) är valt för biblioteksprepareringsatsen ska du ange Index 2 (i5) -sekvenser framåtriktade.

12. Välj **Next** (Nästa).

Konfigurera sekundäranalysen

Konfigurera inställningarna för den analystyp som valts för körningen. Mer information om analysarbetsflödena i DRAGEN finns i [Utdatafiler från sekundäranalys med DRAGEN på sidan 60](#).

Illumina DRAGEN BCL Convert

Utför följande steg för att konfigurera Illumina DRAGEN BCL Convert-analysen.

1. Ange följande valfria inställningar.

Inställning	Beskrivning
AdapterRead1 (Adapteravläsning 1)	Adaptersekvens för avläsning 1. Låt fältet AdapterRead1 (Adapteravläsning 1) vara tomt om du använder en biblioteksprepareringssats från Illumina.
AdapterRead2 (Adapteravläsning 2)	Adaptersekvens för avläsning 2. Låt fältet AdapterRead2 (Adapteravläsning 2) vara tomt om du använder en biblioteksprepareringssats från Illumina.
BarcodeMismatchesIndex1 (Strekkoden överensstämmer inte med index 1)	Antalet tillåtna felparningar mellan den första indexavläsningen och indexsekvensen. Standardvärdet är 1. Om en strekkod är 6 bp är det rekommenderade värdet 0.
BarcodeMismatchesIndex2 (Strekkoden överensstämmer inte med index 2)	Antalet tillåtna felparningar mellan den andra indexavläsningen och indexsekvensen. Standardvärdet är 1. Om en strekkod är 6 bp är det rekommenderade värdet 0.
OverrideCycles (Åsidosätt cykler)	Sträng som används för att specificera UMI-cykler och dölja cykler i en läsning. Följande värden är tillåtna: <ul style="list-style-type: none"> • N – Anger cykler som ska ignoreras. • Y – Anger sekvenseringscykler. • I – Anger indexcykler. • U – Anger UMI-cykler som ska trimmas. Varje element separeras med semikolon. Följande är exempel på OverrideCycles (Åsidosätt cykler)-indata. U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

- Välj om du vill spara en kopia av dina FASTQ-filer. FASTQ-filer genereras endast om du väljer att behålla FASTQ-filer.
- Välj ett av följande format för FASTQ-utdata:
 - **gzip** – Spara FASTQ-filerna i gzip-format.
 - **DRAGEN** – Spara FASTQ-filer i ora-format.
- Slutför körningskonfigurationen.

- Välj **Submit Run** (Skicka in körning) för att skicka körningskonfigurationen till ditt BaseSpace-sekvenseringshubbkonto. Körningar som skickas till BaseSpace-sekvenseringshubben visas i listan Planned runs (Planerade körningar) och är tillgängliga för system som använder molnläge eller hybridläge.
- Välj **Export Sample Sheet** (Exportera provark) i listrutan **Submit Run** (Skicka in körning) för att spara körningskonfigurationen som ett provark med v2-filformat. Provarket krävs för att starta körningar på system som använder lokalt läge. Det här alternativet är endast tillgängligt om Local (Lokalt) valdes som analysplats.

Illumina DRAGEN Enrichment

Utför följande steg för att konfigurera Illumina DRAGEN Enrichment-analysen.

1. Välj ett referensgenom.
Använd om möjligt ett referensgenom med alt-aware.
2. Välj en *.bed-fil som innehåller de regioner som du vill rikta dig in på eller ladda upp en ny anpassad fil.
Se till att BED-filens referensgenom matchar referensgenomet som valdes i steg 1. Använd följande namnformat för nya anpassade BED-filer: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
 - **Lokalt läge** – Välj **Select Custom File (Local)** (Välj anpassad fil (Lokalt)) för att ladda upp en körning eller **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)) för upprepad användning.
 - **Moln- eller hybridläge** – Välj **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)). Den anpassade BED-filen är endast tillgänglig i den arbetsgruppen som den laddades upp i.
3. Välj antingen bestämningsprogrammet för könscellsvariant eller somatisk variant.
4. **[Valfritt]** Välj en basfil för brus om du använder den somatiska varianten. Mer information finns i [Importera basfiler för brus på sidan 17](#).
5. Välj ett utdataformat för mappning/inpassning.
6. Välj om du vill spara en kopia av dina FASTQ-filer. FASTQ-filer genereras endast om du väljer att behålla FASTQ-filer.
7. Välj ett av följande format för FASTQ-utdata:
 - **gzip** – Spara FASTQ-filerna i gzip-format.
 - **DRAGEN** – Spara FASTQ-filer i ora-format.

8. Slutför körningskonfigurationen.

- Välj **Submit Run** (Skicka in körning) för att skicka körningskonfigurationen till ditt BaseSpace-sekvenseringshubbkonto. Körningar som skickas till BaseSpace-sekvenseringshubben visas i listan Planned runs (Planerade körningar) och är tillgängliga för system som använder molnläge eller hybridläge.
- Välj **Export Sample Sheet** (Exportera provark) i listrutan **Submit Run** (Skicka in körning) för att spara körningskonfigurationen som ett provark med v2-filformat. Provarket och stödfiler för sekundäranalys laddas ner i en *.zip-mapp och är obligatoriska för att starta körningar på system som använder Local mode (Lokalt läge). Det här alternativet är endast tillgängligt om Local (Lokalt) valdes som analysplats.

Illumina DRAGEN Germline

Utför följande steg för att konfigurera Illumina DRAGEN Germline-analysen.

1. Välj ditt referensgenom.
Använd om möjligt ett referensgenom med alt-aware.
2. Välj ett utdataformat för mappning/inpassning.
3. Välj om du vill spara en kopia av dina FASTQ-filer. FASTQ-filer genereras endast om du väljer att behålla FASTQ-filer.
4. Välj ett av följande format för FASTQ-utdata:
 - **gzip** – Spara FASTQ-filerna i gzip-format.
 - **DRAGEN** – Spara FASTQ-filer i ora-format.
5. Slutför körningskonfigurationen.
 - Välj **Submit Run** (Skicka in körning) för att skicka körningskonfigurationen till ditt BaseSpace-sekvenseringshubbkonto. Körningar som skickas till BaseSpace-sekvenseringshubben visas i listan Planned runs (Planerade körningar) och är tillgängliga för system som använder molnläge eller hybridläge.
 - Välj **Export Sample Sheet** (Exportera provark) i listrutan **Submit Run** (Skicka in körning) för att spara körningskonfigurationen som ett provark med v2-filformat. Provarket och stödfiler för sekundäranalys laddas ner i en *.zip-mapp och är obligatoriska för att starta körningar på system som använder Local mode (Lokalt läge). Det här alternativet är endast tillgängligt om Local (Lokalt) valdes som analysplats.

Illumina DRAGEN RNA

Utför följande steg för att konfigurera Illumina DRAGEN RNA-analysen.

1. Välj ditt referensgenom.
Använd om möjligt ett referensgenom utan alt-aware.
2. Välj ett utdataformat för mappning/inpassning.

3. Välj om du vill spara en kopia av dina FASTQ-filer. FASTQ-filer genereras endast om du väljer att behålla FASTQ-filer.
4. Välj ett av följande format för FASTQ-utdata:
 - **gzip** – Spara FASTQ-filerna i gzip-format.
 - **DRAGEN** – Spara FASTQ-filer i ora-format.
5. **[Valfritt]** Ladda upp en RNA-anteckningsfil i Gene Transfer Format (GTF).
 - **Lokalt läge** – Välj **Select Custom File (Local)** (Välj anpassad fil (Lokalt)) för att ladda upp en körning eller **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)) för upprepad användning.
 - **Moln- eller hybridläge** – Välj **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)). GTF-filen är endast tillgänglig i den arbetsgruppen som den laddades upp i. Välj RNA-anteckningsfilen i listrutan när en GTF-fil har laddats upp till en BaseSpace-sekvenseringshubb för arbetsgrupper.
6. Välj om du vill aktivera differentiellt uttryck.
7. Om du aktiverade differentiellt uttryck ska du välja ett kontroll- eller jämförelsesvärde för varje prov.

I varje jämförelsegrupp jämförs alla prover som är markerat som kontroll med alla prover som är markerade som jämförelse. Ange **na** (Ej tillämpligt) som värde om provet inte innehåller ett kontroll- eller jämförelsesvärde.
8. Slutför körningskonfigurationen.
 - Välj **Submit Run** (Skicka in körning) för att skicka körningskonfigurationen till ditt BaseSpace-sekvenseringshubbkonto. Körningar som skickas till BaseSpace-sekvenseringshubben visas i listan Planned runs (Planerade körningar) och är tillgängliga för system som använder molnläge eller hybridläge.
 - Välj **Export Sample Sheet** (Exportera provark) i listrutan **Submit Run** (Skicka in körning) för att spara körningskonfigurationen som ett provark med v2-filformat. Provarket och stödfiler för sekundäranalys laddas ner i en *.zip-mapp om en GTF-fil har tillhandahållits och krävs för att starta körningar på system som använder Local mode (Lokalt läge). Det här alternativet är endast tillgängligt om Local (Lokalt) valdes som analysplats.

Illumina DRAGEN Single Cell RNA

Utför följande steg för att konfigurera Illumina DRAGEN Single Cell RNA-analysen.

1. Välj ditt referensgenom.

Använd om möjligt ett referensgenom utan alt-aware.
2. **[Valfritt]** Ladda upp en RNA-anteckningsfil i Gene Transfer Format (GTF).

- **Lokalt läge** – Välj **Select Custom File (Local)** (Välj anpassad fil (Lokalt)) för att ladda upp en körning eller **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)) för upprepad användning.
 - **Moln- eller hybridläge** – Välj **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)). GTF-filen är endast tillgänglig i den arbetsgruppen som den laddades upp i. Välj RNA-anteckningsfilen i listrutan när en GTF-fil har laddats upp till en BaseSpace-sekvenseringshubb för arbetsgrupper.
3. Välj ett utdataformat för mappning/inpassning.
 4. Välj om du vill spara en kopia av dina FASTQ-filer. FASTQ-filer genereras endast om du väljer att behålla FASTQ-filer.
 5. Välj ett av följande format för FASTQ-utdata:
 - **gzip** – Spara FASTQ-filerna i gzip-format.
 - **DRAGEN** – Spara FASTQ-filer i ora-format.
 6. Välj den konfiguration som är identisk med din typ av biblioteksprepareringssats. Om du till exempel valde Single Cell RNA Library Kit 1 som biblioteksprepareringssats ska du välja Type 1 (Typ 1) som Configuration Type (Konfigurationstyp).
 7. Välj streckodsavläsningen.
 8. **[Valfritt]** Redigera antalet baser i streckoderna och UMI. Värdena fylls i automatiskt baserat på den valda biblioteksprepareringssatsen och konfigurationstypen.
 9. Välj strängriktning.
 10. **[Valfritt]** Välj en fil som innehåller dina streckodssekvenser eller ladda upp en ny anpassad fil.
 11. Om du använder en avancerad eller anpassad konfigurationstyp ska du ange värdena för antalet åsidosatta cykler, streckkodens position samt UMI-positionen.
 12. Slutför körningskonfigurationen.
 - Välj **Submit Run** (Skicka in körning) för att skicka körningskonfigurationen till ditt BaseSpace-sekvenseringshubbkonto. Körningar som skickas till BaseSpace-sekvenseringshubben visas i listan Planned runs (Planerade körningar) och är tillgängliga för system som använder molnläge eller hybridläge.
 - Välj **Export Sample Sheet** (Exportera provark) i listrutan **Submit Run** (Skicka in körning) för att spara körningskonfigurationen som ett provark med v2-filformat. Provarket och stödfiler för sekundäranalys laddas ner i en *.zip-mapp om en GTF-fil har tillhandahållits och krävs för att starta körningar på system som använder Local mode (Lokalt läge). Det här alternativet är endast tillgängligt om Local (Lokalt) valdes som analysplats.

Illumina DRAGEN Amplicon

Använd nedanstående steg för att konfigurera Illumina DRAGEN Amplicon-analysen.

1. Välj ditt referensgenom.

2. Välj en *.bed-fil som innehåller de regioner som du vill rikta dig in på eller ladda upp en ny anpassad fil.
Se till att BED-filens referensgenom matchar referensgenomet som valdes i steg 1. Använd följande namnformat för nya anpassade BED-filer: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
 - **Moln- eller hybridläge** – Välj **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)). Den anpassade BED-filen är endast tillgänglig i den arbetsgruppen som den laddades upp i.
 - **Lokalt läge** – Välj **Select Custom File (Local)** (Välj anpassad fil (Lokalt)) för att ladda upp en körning eller **Upload Custom File (BaseSpace)** (Ladda upp anpassad fil (BaseSpace)) för upprepad användning.
3. Välj antingen bestämningsprogrammet för könscellsvariant eller somatisk variant.
4. Välj ett utdataformat för mappning/inpassning.
5. **[Lokalt]** Välj om du vill spara en kopia av dina FASTQ-filer. FASTQ-filer genereras endast om du väljer att behålla FASTQ-filer.
6. Välj om du vill spara en kopia av dina FASTQ-filer. FASTQ-filer genereras endast om du väljer att behålla FASTQ-filer.
7. Välj ett av följande format för FASTQ-utdata:
 - **gzip** – Spara FASTQ-filerna i gzip-format.
 - **DRAGEN** – Spara FASTQ-filer i ora-format.
8. Slutför körningskonfigurationen.
 - Välj **Submit Run** (Skicka in körning) för att skicka körningskonfigurationen till ditt BaseSpace-sekvenseringshubbkonto. Körningar som skickas till BaseSpace-sekvenseringshubben visas i listan Planned runs (Planerade körningar) och är tillgängliga för system som använder molnläge eller hybridläge.
 - **[Lokalt]** Välj **Export Sample Sheet** (Exportera provark) i listrutan **Submit Run** (Skicka in körning) för att spara körningskonfigurationen som ett provark med v2-filformat. Provarket och stödfiler för sekundäranalys laddas ner i en *.zip-mapp och är obligatoriska för att starta körningar på system som använder Local mode (Lokalt läge). Det här alternativet är endast tillgängligt om Local (Lokalt) valdes som analysplats.

Tina den förpackade kassetten och flödescellen

Det här steget tinar kassetten *i den öppnade påsen* och förbereder flödescellen. Tina kassetten i påsen med en av tre metoder: kontrollerat vattenbad, kylskåp eller luft i rumstemperatur. Använd kassetten omedelbart efter upptining, utan att frysa den igen. Läs [Förvara tinat förbrukningsmaterial på sidan 80](#) om du inte kan använda cylinderrampullen omedelbart efter upptining.

Bild 4 Förpackad kassett



Tina kassetten i ett kontrollerat vattenbad

1. Ta på dig ett nytt par puderfria handskar och hämta kassetten från platsen där den har förvarats.
2. Avlägsna kassetten från lådan men **öppna inte den silverfärgade foliepåsen**.

! Att tina en sönderriven eller punkterad påse i ett vattenbad kan resultera i sekvenseringsfel. Tina istället vid rumstemperatur eller i ett kylskåp.

3. Tina den förpackade kassetten i ett temperaturkontrollerat vattenbad (25 °C) i sex timmar:
 - Bibehåll ett vattendjup på minst 9,5–10 cm oavsett hur många kassetter du tinar.
 - Ställ in ett temperaturkontrollerat vattenbad på 25 °C.
 - Vänd etiketten uppåt och placera kassetten i vattenbadet utan att sänka ned den.

! Använd ingen tyngd för att hålla kassetten under vattenytan. Om etiketten inte är vänd uppåt eller om kassetten vänder på sig under upptiningen kommer data från sekvenseringen att påverkas negativt.

- Överskrid inte åtta timmar i vattenbadet.
 - Tina inte flera kassetter än som får plats i vattenbadet. Information om kompatibla vattenbad finns i [Kringutrustning på sidan 27](#).
 - Stapla inte kassetterna.
4. Avlägsna kassetten från vattenbadet och torka den med pappershanddukar.

Tina kassetten i ett kylskåp

1. Använd ett nytt par puderfria handskar.
2. Hämta kassetten från platsen där den har förvarats vid -25 °C till -15 °C en dag innan den planerade körningen.
3. Avlägsna kassetten från lådan men *öppna inte den silverfärgade foliepåsen*.
4. Placera kassetten med etiketten vänd uppåt i rumstemperatur och kontrollera att luft kan cirkulera runt sidorna och ovansidan.

 Om etiketten inte är vänd uppåt påverkas data från sekvenseringen negativt.

5. Tina i rumstemperatur i sex timmar.
6. Placera kassetten med etiketten vänd uppåt i ett kylskåp (2 °C till 8 °C) och kontrollera att luft kan cirkulera runt sidorna.

 Om etiketten inte är vänd uppåt påverkas data från sekvenseringen negativt.

7. Tina i kylskåpet i tolv timmar. Överskrid inte 72 timmar.

Tina kassetten i rumstemperatur

1. Använd ett nytt par puderfria handskar.
2. Hämta kassetten från platsen där den har förvarats vid -25 °C till -15 °C .
3. Avlägsna kassetten från lådan men *öppna inte den silverfärgade foliepåsen*.
4. Placera kassetten med etiketten vänd uppåt och kontrollera att luft kan cirkulera runt sidorna och ovansidan.

 Om etiketten inte är vänd uppåt påverkas data från sekvenseringen negativt.

5. Tina i rumstemperatur i nio timmar. Överskrid inte 16 timmar.

Förbered flödescellen och kassetten

1. Förbered flödescellen enligt följande.
 - a. Hämta en ny flödescell från platsen där de har förvarats i 2 °C till 8 °C .
 - b. När du avlägsnar flödescellen från förpackningen ska du låta den öppnade förpackningen stå i rumstemperatur i 10–15 minuter för att förhindra kondensering. Att förbereda flödescellen säkerställer att den uppnår rumstemperatur innan den ska användas.
2. Om du använder en metod för att tina i ett kylskåp:
 - a. Hämta kassetten från platsen där den har förvarats vid 2 °C till 8 °C .
 - b. Ställ den öppnade kassetten åt sidan i rumstemperatur i minst 15 minuter före sekvensering. Överskrid inte 1 timme.

Späda ut bibliotek

Om du använder denaturering och utspädning på instrumentet kommer det här steget att späda ut biblioteken till tillämplig laddningskoncentration. En valfri PhiX¹-spikning på 2 % genererar ytterligare mätvärden, basmångfald eller en positiv kontroll. Procentandelen PhiX-spikning bör höjas för bibliotek med lägre basmångfald.

Mer information om manuell denaturering och utspädning av bibliotek finns i *Guide för denaturering och utspädning för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139235)*. Det här steget gäller endast för denaturering och utspädning på instrumentet.

Späda ut bibliotek till 2 nM

- [Valfritt] Hämta 10 nM PhiX från förvaring vid -25 °C till -15 °C.
PhiX behövs endast för en valfri spikning eller en körning med endast PhiX.
- [Valfritt] Tina PhiX vid rumstemperatur i fem minuter och kvantifiera sedan med hjälp av en fluorescensbaserad metod, som Qubit, för att bekräfta PhiX-koncentrationen.
Om kvantifiering inte är möjlig ska du fortsätta med en koncentration på 10 nM.
- Vortexblanda biblioteket eller PhiX kort och centrifugera sedan vid 280 g i en minut.
- Använd RSB med Tween 20 som utspädningsmedel för att förbereda minst 24 µl 2 nM-bibliotek i ett mikrorör med låg bindning.
Anvisningar för hur du spikar PhiX finns i [Lägga till en PhiX-kontroll \(valfritt\) på sidan 42](#).
- Vortexblanda kort och centrifugera vid 280 g i en minut.

Späda ut 2 nM bibliotek till inläsningskoncentration

- Överför följande volymer till ett mikrorör med låg bindning för att preparera 24 µl bibliotek utspätt till lämplig inläsningskoncentration:

Bibliotekstyp*	Inläsningskoncentration (pM)	Volym 2 nM-.bibliotek (µl)	Volym RSB med Tween 20 (µl)
AmpliSeq for Illumina Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep with Enrichment	1 000	12	12
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15

¹PhiX är ett litet Illumina-bibliotek med balanserad nukleotidrepresentation som är färdigt att användas.

Bibliotekstyp*	Inläsningskoncentration (pM)	Volym 2 nM-.bibliotek (µl)	Volym RSB med Tween 20 (µl)
Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-Free	1 000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1 200	14,4	9,6
TruSeq DNA Nano 550	1 500	18	6
TruSeq Stranded mRNA	1 000	12	12
100 % PhiX	650	7,8	16,2

* Börja med en inläsningskoncentration på 650 pM och optimera över efterföljande körningar om bibliotekstypen inte finns med i listan.

Tabellen ger exempel på inläsningskoncentrationer. NextSeq 1000/2000 är kompatibelt med alla biblioteksprepareringssatser från Illumina, men den optimala inläsningskoncentrationen kan variera.

- Vortexblanda kort och centrifugera vid 280 g i en minut.
- Förvara det utspädda biblioteket på is tills det ska användas för sekvenseringen. Bibliotek som har späts ut till inläsningskoncentration ska sekvenseras samma dag som de späds ut.
- Fortsätt på följande sätt.
 - Läs avsnittet [Lägga till en PhiX-kontroll \(valfritt\) på sidan 42](#) om du vill lägga till PhiX.
 - Om du inte vill lägga till PhiX eller utföra en körning med endast PhiX ska du läsa avsnittet [Föra över förbrukningsmaterial till kassetten på sidan 43](#).

Lägga till en PhiX-kontroll (valfritt)

- Överför följande volymer till ett mikrorör med låg bindning för att förbereda 20 µl 1 nM PhiX:
 - 10 nM PhiX (2 µl)
 - RSB med Tween 20 (18 µl)
- Vortexblanda kort och centrifugera vid 280 g i en minut.
- Lägg till 1 µl 1 nM PhiX till 24 µl bibliotek som har späts ut till den slutgiltiga inläsningskoncentrationen. Volymererna ger en spikning på ~2 % PhiX. Den faktiska procentsatsen varierar beroende på bibliotekets kvalitet och kvantitet.
- Förvara biblioteket med PhiX-spikningen på is tills det ska användas för sekvenseringen. Sekvensera bibliotek med PhiX-spikning samma dag som de späds ut.

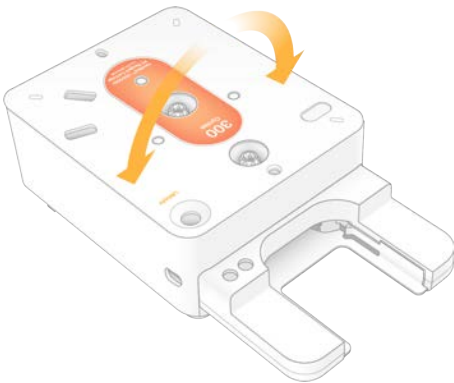
Föra över förbrukningsmaterial till kassetten

Det här steget förbereder kassetten för sekvensering genom att blanda de förfyllda reagenserna samt ladda utspädda bibliotek och flödescellen.

Förbereda kassetten

1. Öppna kassettpåsen genom att riva eller klippa med en sax vid inskränningarna på vardera sida.
2. Avlägsna kassetten från påsen. Kassera påsen och torkmedlet.
3. Vänd kassetten tio gånger för att blanda reagenserna.

Kassetterns invändiga delar kan skramla när du vänder på den, vilket är normalt.



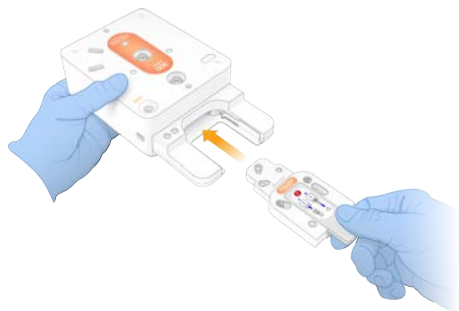
Ladda flödescellen

1. Öppna den silverfärgade folieförpackningen genom att riva eller klippa med en sax vid inskränningarna på vardera sida.
Läs [Förvara tinat förbrukningsmaterial på sidan 80](#) om du inte kan använda flödescellen omedelbart.
2. Dra ut flödescellen ur förpackningen.
Spara folieförpackningen och torkmedlet ifall flödescellen behöver förvaras igen. Torkmedlet finns i en påse längst ner i folieförpackningen. Kassera dem när sekvenseringen startas.

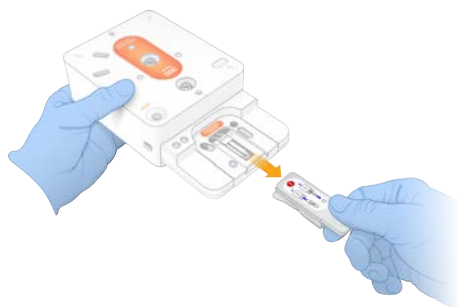


3. Håll flödescellen i det grå skyddet med etiketten vänd uppåt.

4. Tryck in flödescellen i facket på kassetten framsida.
Ett hörbart klick indikerar att flödescellen är på plats. När den är korrekt laddad kommer det grå skyddet att sticka ut från kassetten.



5. Dra i det grå skyddet för att avlägsna det och exponera flödescellen. Återvinn skyddet.



Ladda bibliotek

1. Använd en ny P1000-pipettspets för att sticka hål på biblioteksbehållaren och trycka upp folien mot kanterna för att göra hålet större.
2. Kassera pipettspetsen för att förhindra kontamination.

3. Tillsätt 20 µl utspätt bibliotek till **botten** av behållaren genom att sakta sänka pipettspetsen till botten av behållaren innan du dispenserar. Undvik att röra vid folien.



Starta en sekvenseringskörning


Det här steget initierar en sekvenseringskörning i ett av fyra lägen:

- **Cloud mode** (Molnläge) – Körningen väljs från en lista över planerade körningar i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000. Under sekvenseringen laddas cBCL-data upp till BaseSpace-sekvenseringshubben. Efter sekvensering startar DRAGEN i BaseSpace-sekvenseringshubb automatiskt.
- **Hybrid mode** (Hybridläge) – Körningen väljs från en lista över planerade körningar i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000. Efter sekvensering startar analysen på instrumentet automatiskt. cBCL-data och DRAGEN-utdatafiler från sekundäranalysen lagras i den valda utdatamappen.
- **Local mode** (Lokalt läge) – Ett provark i v2-filformat importeras manuellt till kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000. Efter sekvensering startar analysen på instrumentet automatiskt. cBCL-data och DRAGEN-utdatafiler från sekundäranalysen lagras i den valda utdatamappen. Om Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) har valts kan analyser även startas via BaseSpace-sekvenseringshubbapparna när sekvenseringen har slutförts.
- **Standalone mode** (Fristående läge) – Konfigurera en körning enligt anvisningarna i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 för att generera cBCL-data.

⚠ | Om luckan öppnas under kontrollen före körning eller under körningen kan det orsaka körningsfel.

⚠ | Håll händerna borta från instrumentet när luckan öppnas och stängs för att undvika skador.


Starta en moln- eller hybridkörning

1. Konfigurera körningsläget enligt [Konfigurera körningsläget på sidan 19](#).
 2. Välj **Start** (Starta).
 3. Ange autentiseringsuppgifterna för BaseSpace-sekvenseringshubb och välj sedan **Sign In** (Logga in).
 4. Om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) ska du välja arbetsgruppen som innehåller körningen som du skapade i Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) på BaseSpace-sekvenseringshubb.
-  En arbetsgrupp måste väljas för att undvika fel. Kontrollera att du har valt en arbetsgrupp innan du fortsätter.
5. Välj **Next** (Nästa).
 6. Välj körningen.
 7. Bekräfta att versionerna för analys, körningslängd och sekundäranalys matchar rätt körning. Analysen visar "Cloud_" för att indikera att analysen utförs i BaseSpace-sekvenseringshubben.
 8. Välj **Review** (Granska).
 9. **[Valfritt]** Ange platser för anpassade avläsningsprimrar och anpassade indexprimrar. Information om hur du förbereder och lägger till anpassade primrar finns i *Guide för anpassade primrar för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139569)*. Besök sidan Compatible Products (Kompatibla produkter) för biblioteksprepareringssatsen för att kontrollera om Illuminas anpassade primrar är nödvändiga.
 10. **[Valfritt]** Välj ett anpassat recept. Mer information finns i [Sekvensering utan avbildning på sidan 98](#). Om du använder v1.3 av kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 och satsen Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus eller satsen Illumina Stranded mRNA Prep väljs det anpassade receptet automatiskt.
 11. **[Valfritt]** Avmarkera kryssrutan **Denature and Dilute On Board** (Denaturera och späda på instrumentet) för att denaturera och späda bibliotek manuellt. Mer information finns i *Guide för denaturering och utspädning för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139235)*. Den förvalda inställningen konfigureras i inställningarna för kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.
 12. **[Valfritt]** Välj fältet Output Folder (Utdatamapp) och ange en ny plats för att ändra utdatamappen. Fältet Output Folder (Utdatamapp) fylls i automatiskt med standardinställningarna och är obligatoriskt om inte **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, körningsövervakning och lagring) har valts. Om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) visas Save to BaseSpace Sequence Hub (Spara i BaseSpace-sekvenseringshubb) som aktiverad. Om du valde Proactive and Run Monitoring (Proactive och körningsövervakning) visas Save to BaseSpace Sequence Hub (Spara i BaseSpace-sekvenseringshubb) som inaktiverad.


13. Granska körningsinformationen och välj **Prep** (Preparering).

Starta en lokal körning

1. Konfigurera körningsläget enligt [Konfigurera körningsläget på sidan 19](#).
2. Välj **Start** (Starta).
3. Om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) eller Proactive and Run Monitoring (Proactive och körningsövervakning) ska du ange dina inloggningsuppgifter för BaseSpace-sekvenseringshubb och sedan välja **Sign In** (Logga in).
4. Om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) ska du välja en BaseSpace-sekvenseringshubb för arbetsgrupper att spara körningen i och sedan välja **Next** (Nästa).

 En arbetsgrupp måste väljas för att undvika fel. Kontrollera att du har valt en arbetsgrupp innan du fortsätter.

5. Välj **Choose...** (Välj ...) under Start With Sample Sheet (Starta med provark) och gå till provarket med v2-filformat på NextSeq 1000/2000-instrumentet, en bärbar enhet eller en monterad nätverksenhet. Provarkets filnamn får inte innehålla specialtecken. Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 v1.3 upptäcker automatiskt DRAGEN-versionen i provarket och uppmanar dig att byta version om det behövs. DRAGEN-versionen måste vara installerad på systemet. Installationsinformation finns i [Programuppdateringar på sidan 73](#).
 - **Instrument Run Setup Used** (Körningskonfiguration på instrumentet används) – Välj .zip-mappen som innehåller provarket v2 och eventuella stödfiler. Annars väljer du provarket v2.
 - **Instrument Run Setup Not Used** (Körningskonfiguration på instrumentet används inte) – Se till att stödfilen för sekundäranalysen finns i samma katalog som provarket v2.

 Det valda provarket måste vara i v2-formatering. För att skapa ett v2-provark ska du ladda ner det genererade provarket från Instrument Run Setup Körningskonfiguration på instrumentet) i BaseSpace-sekvenseringshubben eller redigera en v2-provarksmall som finns på hjälpsidan för NextSeq 1000/2000. Mer information om formatering och krav för v2-provark finns i [Inställningar för provark v2 på sidan 85](#). Se till att alla filer som refereras till i provarket finns i samma mapp som provarket.

6. Välj **Review** (Granska).
7. **[Valfritt]** Ange platser för anpassade avläsningsprimrar och anpassade indexprimrar. Information om hur du förbereder och lägger till anpassade primrar finns i *Guide för anpassade primrar för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139569)*. Besök sidan Compatible Products (Kompatibla produkter) för biblioteksprepareringssatsen för att kontrollera om Illuminas anpassade primrar är nödvändiga.
8. **[Valfritt]** Välj ett anpassat recept. Mer information finns i [Sekvensering utan avbildning på sidan 98](#).

Om du använder v1.3 av kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 och satsen Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus eller satsen Illumina Stranded mRNA Prep väljs det anpassade receptet automatiskt.

9. **[Valfritt]** Avmarkera kryssrutan **Denature and Dilute On Board** (Denaturera och späd på instrumentet) för att denaturera och späda bibliotek manuellt. Mer information finns i *Guide för denaturering och utspädning för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139235)*. Den förvalda inställningen konfigureras i inställningarna för kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.
10. **[Valfritt]** Välj fältet Output Folder (Utdatamapp) och ange en ny plats för att ändra utdatamappen. Fältet Output Folder (Utdatamapp) fylls i automatiskt med standardinställningarna och är obligatoriskt om inte Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) har valts.
Om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) visas Save to BaseSpace Sequence Hub (Spara i BaseSpace-sekvenseringshubb) som aktiverad. Om du valde Proactive and Run Monitoring (Proactive och körningsövervakning) visas Save to BaseSpace Sequence Hub (Spara i BaseSpace-sekvenseringshubb) som inaktiverad.
11. Granska körningsinformationen och välj **Prep** (Preparering).

Starta en fristående körning

1. Konfigurera körningsläget enligt [Konfigurera körningsläget på sidan 19](#).
2. Välj **Start** (Starta).
3. Om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) eller Proactive and Run Monitoring (Proactive och körningsövervakning) ska du ange dina inloggningsuppgifter för BaseSpace-sekvenseringshubb och sedan välja **Sign In** (Logga in).
4. Om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) ska du välja en BaseSpace-sekvenseringshubb för arbetsgrupper att spara körningen i och sedan välja **Next** (Nästa).
5. Välj **Set Up New Run** (Konfigurera en ny körning).
6. Ange ett unikt namn i fältet Run Name (Körningsnamn) för att identifiera den aktuella körningen. Körningsnamnet får innehålla alfanumeriska tecken, tankstreck, bindstreck och understreck.
7. Ange hur många sekvensavläsningar som ska utföras under Read Type (Avläsningstyp):
 - **Single Read** (Enkel avläsning) – Utför en avläsning. Det här är det enklare och snabbare alternativet.
 - **Paired End** (Paired-end) – Utför två avläsningar. Tillsammans genererar de data av högre kvalitet och en mer exakt inpassning.
8. Ange antalet cykler som ska utföras för varje avläsning:
Det finns inget maximalt antal indexcykler, men summan av avläsningscyklerna och indexcyklerna måste vara mindre än antalet cykler som anges på kassetten etikett plus 27.

Read 1 (Avläsning 1) – Ange **1–151** cykler.

Index 1 – Ange antalet cykler för primern för Index 1 (i7). Ange **0** i båda indexfälten för en körning med endast PhiX.

Index 2 – Ange antalet cykler för primern för Index 2 (i5).

Read 2 (Avläsning 2) – Ange upp till **151** cykler. Värdet är vanligtvis detsamma som värdet för avläsning 1.

9. Välj **Choose...** (Välj ...) för att importera ett provark om du valde Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring).

Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 v1.3 upptäcker automatiskt DRAGEN-versionen i provarket och uppmanar dig att byta version om det behövs. DRAGEN-versionen måste vara installerad på systemet. Installationsinformation finns i [Programuppdateringar på sidan 73](#).

i | Det valda provarket måste vara i v2-formatering. För att skapa ett v2-provark ska du ladda ner det genererade provarket från Instrument Run Setup Körningskonfiguration på instrumentet) i BaseSpace-sekvenseringshubben eller redigera en v2-provarksmall som finns på hjälpsidan för NextSeq 1000/2000. Mer information om formatering och krav för v2-provark finns i [Inställningar för provark v2 på sidan 85](#). Se till att alla filer som refereras till i provarket finns i samma mapp som provarket.

10. **[Valfritt]** Ange platser för anpassade avläsningsprimrar och anpassade indexprimrar. Information om hur du förbereder och lägger till anpassade primrar finns i *Guide för anpassade primrar för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139569)*. Besök sidan Compatible Products (Kompatibla produkter) för biblioteksprepareringssetsen för att kontrollera om Illuminas anpassade primrar är nödvändiga.
11. **[Valfritt]** Välj ett anpassat recept. Mer information finns i [Sekvensering utan avbildning på sidan 98](#).
12. **[Valfritt]** Avmarkera kryssrutan **Denature and Dilute On Board** (Denaturera och späda på instrumentet) för att denaturera och späda bibliotek manuellt. Mer information finns i *Guide för denaturering och utspädning för NextSeq 1000 och 2000 (dokumentnr 1000000139235)*. Den förvalda inställningen konfigureras i inställningarna för kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.
13. **[Valfritt]** Välj fältet Output Folder (Utdatamapp) och ange en ny plats för att ändra utdatamappen. Fältet Output Folder (Utdatamapp) fylls i automatiskt med standardinställningarna och är obligatoriskt om inte Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) har valts.
14. Välj **Prep** (Preparering).

Ladda förbrukningsmaterialet på instrumentet

1. Kontrollera att kassetten har tinats och inverterats tio gånger för att blanda dess innehåll innan du laddar flödescellen (med den grå fliken borttagen) och det utspädda biblioteket.
2. Välj **Load** (Ladda).

Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 öppnar luckan och matar ut facket.

3. Placera kassetten i facket med etiketten vänd uppåt och flödescellen i instrumentet. Tryck in kassetten tills den klickar på plats.



4. Välj **Close** (Stäng) för att mata in kassetten och stänga luckan.
Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 visar information från det skannade förbrukningsmaterialet efter cirka tre minuter.
5. [Valfritt] Välj **Eject Cartridge** (Mata ut kasset) för att ta bort kassetten.
Luckan öppnas efter en minut och kassetten matas ut.
6. Välj **Sequence** (Sekvensera).

Kontroller före körningar

Kontrollerna före körning inkluderar en instrumentkontroll som följs av en flödeskontroll. Flödeskontrollen sticker hål på kassetens förslutning, vilket kommer att orsaka 3–4 poppande ljud från instrumentet. Det är förväntat. Reagensen passeras nu genom flödescellen.

! Förbrukningsmaterialet kan inte återanvändas när flödeskontrollen har startat.

1. Det tar cirka 15 minuter för kontrollerna före körning att slutföras.
Om kontrollerna slutförs korrekt startar körningen automatiskt.
2. Om ett fel uppstår under instrumentkontrollen ska du trycka på **Retry** (Försök igen) för att göra om kontrollen.
När en kontroll pågår animeras kontrollens cirkel.
3. Information om hur du felsöker återkommande fel finns i avsnittet [Åtgärda felmeddelanden på sidan 79](#).

Övervaka körningsförloppet

1. Du kan övervaka körningens förlopp och mått på skärmen Sequencing (Sekvensering).
 - **Estimated run completion** (Uppskattad körningstid) – Det datum och den tid som körningen förväntas vara slutförd. Det beräknade mätvärdet för körningens slutförande kräver tio tidigare körningar för att beräkna korrekt körningstid.
 - **Average %Q30** (Genomsnittlig % Q30) – Den genomsnittliga procentandelen basbestämningar med ett Q-resultat ≥ 30 .
 - **Projected Yield** (Förväntat utbyte) – Förväntat antal basbestämningar för körningen.
 - **Total Reads PF** (Totalt antal godkända läsningar) – Antalet paired end-kluster (om tillämpligt) som passerar filtret (i miljoner).
 - **Real Time Demux** (Realtidsdemultiplexering) – Status för demultiplexering vid initiering i början av Read 2 (Avläsning 2) efter det att cyklerna för Read 1 (Avläsning 1), Index 1 och Index 2 har slutförts. Status kommer att visas som Complete (Slutförd) även om indexcykler inte utförs. Inte tillgängligt för körningar i molnläge.
 - **Real Time Alignment** (Realtidsinpassning) – Status för inpassning av avläsning 1 vid initiering i början av avläsning 2 efter det att cyklerna för avläsning 1, index 1 och index 2 har slutförts. Inte tillgängligt för körningar i molnläge.

Q30 och utbytesmått visas efter cykel 26 (cirka sex timmar efter körningen startades).
2. Om du vill övervaka körningar ska du först trycka på kontrollprogrammets meny och sedan på **Process Management** (Processhantering).
3. Välj **End Run** (Avsluta körning) för att avsluta körningen. Mer information om att avsluta körningar finns i [Avbryta en körning på sidan 80](#).
4. Mata ut förbrukningsmaterial från instrumentet. Avlägsna kassetten från instrumentet inom tre dagar.

Mata ut förbrukningsmaterial

1. Välj **Eject Cartridge** (Mata ut kasset) när sekvenseringen har slutförts. Programmet matar ut den använda kassetten från instrumentet.
2. Avlägsna kassetten från facket.
3. Avlägsna flödescellen från kassetten.
4. Kassera flödescellen, som innehåller elektroniska delar, i enlighet med lokala bestämmelser.
5. [Valfritt] Ta bort avtappningspluggen under Illumina-logotypen på sidan av kassetten över ett lämpligt område (t.ex. en diskbänk eller en behållare för farligt flytande avfall) med pluggen vänd horisontellt eller nedåt och bort från ansiktet. Töm ut använda reagenser i enlighet med lokala bestämmelser. Tömningstiden beror på kassetten storlek om automatisk reagenstömning inte är aktiverad.

! Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

6. Kassera reagenskassetten.

Det är inte nödvändigt att utföra en tvätt efter körningen eftersom flödestekniken kasseras med kassetten.

7. Välj **Close Door** (Stäng lucka) för att mata in facket och återgå till startskärmen.

Programmet matar automatiskt in facket igen och sensorer bekräftar att kassetten har avlägsnats.

Rengöra kassetten fack

Det är endast nödvändigt att rengöra kassettfacket om reagens har läckt ut i kassettfacket.

1. Avlägsna kassetten från instrumentet.

2. Ta på dig ett nytt par puderfria handskar och eventuellt ytterligare skyddsutrustning.

3. Spraya tioprocentig blekmedelslösning på en duk.

4. Torka av kassettfacket med duken och torka sedan omedelbart bort blekmedelslösningen med en kraftig duk.

Om blekmedlet inte tas bort omedelbart kan det skapa fläckar på kassettfacket.

5. Spraya 70-procentig etanollösning på kassettfacket och torka sedan omedelbart bort den med en kraftig duk.

6. Skjut in kassettfacket i det stängda läget.

Utdata från sekvensering

Det här avsnittet beskriver programmet för realtidsanalys, som utför basbestämning, tilldelar kvalitetsresultat och genererar utdata. Lär dig om de olika utdatafiltyperna och var du hittar dem efter en körning.

Översikt över realtidsanalys

Sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 använder RTA3-versionen av programvaran för realtidsanalys (RTA) på instrumentets Compute Engine (CE). RTA3 extraherar intensiteter från bilder från kameran, utför basbestämning, tilldelar ett kvalitetsresultat till basbestämningar, passar in efter PhiX och rapporterar data i InterOp-filer för visning i instrumentets kontrollprogram.

RTA3 lagrar information i minnet för att optimera bearbetningstiden. Om RTA3 avslutas återupptas inte bearbetningen och all körningsdata som bearbetas i minnet går förlorad.

RTA3-indata

RTA3 använder plattbilder som finns i det lokala systemminnet för bearbetning. RTA3 tar emot körningsinformation och kommandon från kontrollprogrammet.

RTA3-utdata

Bilder för varje färgkanal sparas i RTA3:s minne som plattor. RTA3 använder bilderna för att generera en uppsättning kvalitetsbestämda basbestämningsfiler och filterfiler. Alla annan utdata är stödutdatafiler.

Filtyp	Beskrivning
Basbestämningsfiler	Varje platta som analyseras ingår i en sammanslagen basbestämningsfil (*.cbcl). Plattor från samma spår och yta samlas i en *.cbcl-fil för varje spår och yta.
Filterfiler	Varje platta genererar en filterfil (*.filter) som anger om ett kluster passerar filtret.
Klusterplaceringsfiler	Klusterplaceringsfiler (*.locs) innehåller X- och Y-koordinaterna för varje kluster på en platta. En klusterplaceringsfil genereras för varje körning.

Utdatafiler används för nedströmsanalys i DRAGEN och BaseSpace-sekvenseringshubb.

Felhantering

RTA3 skapar loggfiler och skriver dem till mappen Logs (Loggar). Fel registreras i en textfil i filformatet *.log.

Följande loggfiler överförs till den slutgiltiga utdatadestinationen när bearbetningen har slutförts:

`info_00000.log` sammanfattar viktiga körningshändelser.

`error_00000.log` listar fel som inträffat under en körning.

`warning_00000.log` listar varningar som inträffat under en körning.

Flödescellsplattor

Plattor är små avbildningsområden på flödescellen. Kameran tar en bild per platta.

NextSeq 1000/2000 P2 Flow Cell har totalt 132 plattor. NextSeq 1000/2000 P3 Flow Cell har totalt 264 plattor.

Tabell 5 Flödescellsplattor

Flödescellskomponent	NextSeq 1000/2000 P2 Flow Cell	NextSeq 1000/2000 P3 Flow Cell	Beskrivning
Spår	1	2	Spår är optiskt distinkta, men inte fluidiskt separerade kanaler.
Ytor	2	2	Flödescellerna P2 och P3 avbildas på två ytor, en övre och en nedre. En plattas övre yta avbildas först.
Strängar per spår	6	6	En sträng är en kolumn i ett spår.
Plattor per sträng	11	11	En platta är en del av en sträng och visar ett avbildat område på flödescellen.
Totalt antal genererade plattor	132	264	Spår × ytor × strängar × plattor per sträng är lika med det totala antalet plattor.

Plattnamn

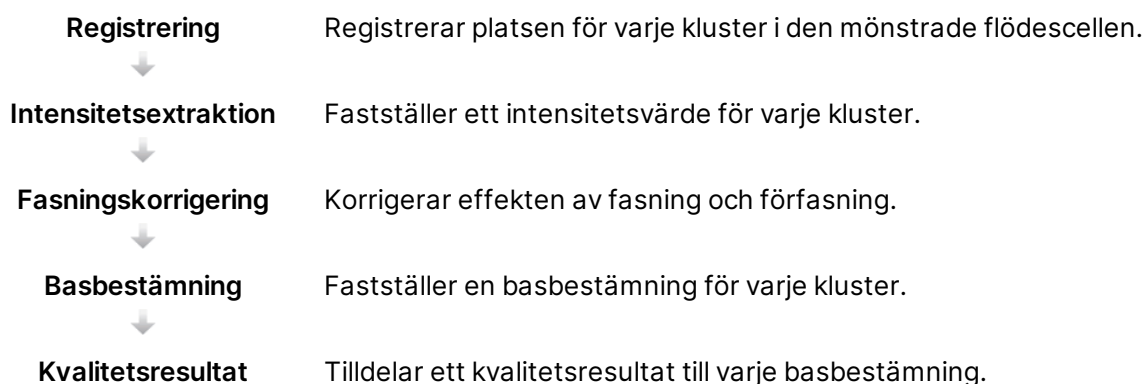
Plattans namn är ett fyrsiffrigt tal som representerar plattans plats på flödescellen. Till exempel anger plattnamnet 1205: övre yta, sträng 2, platta 05.

Den första siffran representerar ytan: 1 för den övre ytan eller 2 för den undre ytan.

Den andra siffran representerar strängnumret: 1, 2, 3, 4, 5 eller 6.

De två sista siffrorna representerar plattnumret. För strängnummer 1–4 börjar numreringen med 01 vid utloppsändan av flödescellen till 11 vid inloppsändan. För strängnummer 5–6 börjar numreringen med 01 vid inloppet och 11 vid utloppet.

Arbetsflöde för realtidsanalys



Registrering

Registrering anpassar en bild till den roterade fyrkantiga samlingen nanobrunnar på den mönstrade flödescellen. På grund av den ordnade placeringen av nanobrunnar är X- och Y-koordinaterna för varje kluster på en platta förutbestämda. Klusterpositioner skrivs till en klusterplatsfil (s.locs) för varje körning.

Om registreringen misslyckas för bilder i en cykel genereras inga basbestämningar för den plattan i den cykeln. Använd Sequencing Analysis Viewer för att identifiera vilka bilder som har registreringsfel.

Intensitetsextraktion

Efter registreringen beräknar intensitetsextraktionen ett intensitetsvärde för varje nanobrunn i en specifik bild. Om registreringen misslyckades kan inte intensiteten för den plattan extraheras.

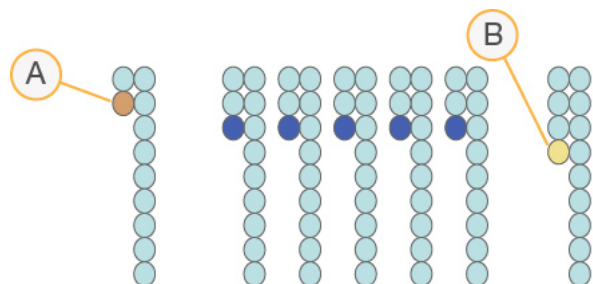
Fasningskorrigerig

Under sekvenseringsreaktionen förlängs varje DNA-sträng i ett kluster med en bas per cykel. Fasning och förfasning inträffar när en sträng hamnar ur fas med den aktuella inkorporeringscykeln.

Fasning inträffar när en bas hamnar efter.

Förfasning inträffar när en bas hamnar före.

Bild 5 Fasning och förfasning



- A. Avläsning med en bas som är ett exempel på fasning.
- B. Avläsning med en bas som är ett exempel på förfasning.

RTA3 korrigerar effekterna av fasning och förfasning så att datakvaliteten maximeras för varje cykel i körningen.

Basbestämning

Vid basbestämning bestäms en bas (A, C, G eller T) för alla kluster på en specifik platta i en specifik cykel. Sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 använder tvåkanalssekvensering, som endast kräver två bilder för att koda data för fyra DNA-baser, en från den gröna kanalen och en från den blå kanalen.

En saknad basbestämning identifieras som N. En saknad basbestämning inträffar när ett kluster inte passerar filtret, registrering misslyckas eller ett kluster flyttas från bilden.

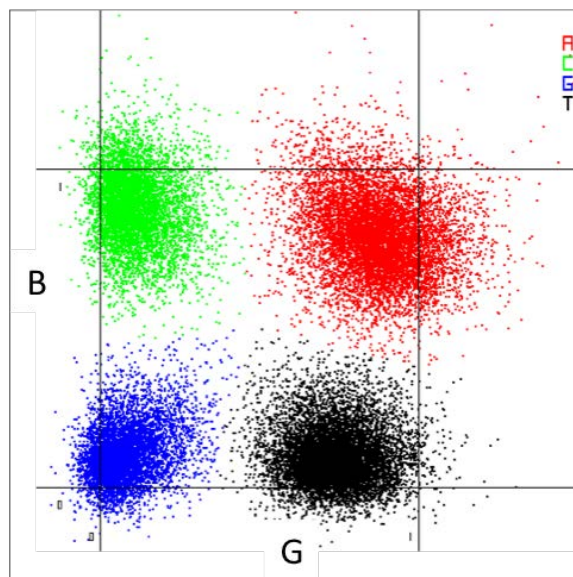
Intensiteter för varje kluster extraheras från de gröna och blå bilderna och jämförs mot varandra, vilket resulterar i fyra distinkta populationer. Varje population motsvarar en bas. Basbestämning bestämmer vilken population varje kluster tillhör.

Tabell 6 Basbestämning i tvåkanalssekvensering

Bas	Grön kanal	Blå kanal	Resultat
A	1 (förekommer)	1 (förekommer)	Kluster som visar intensitet i både gröna och blå kanaler.
C	0 (förekommer inte)	1 (förekommer)	Kluster som endast visar intensitet i den blå kanalen.
G	0 (förekommer inte)	0 (förekommer inte)	Kluster som inte visar någon intensitet vid en känd klusterplats.

Bas	Grön kanal	Blå kanal	Resultat
T	1 (förekommer)	0 (förekommer inte)	Kluster som endast visar intensitet i den gröna kanalen.

Bild 6 Visualisering av klusterintensiteter



i | Färgen på varje kluster korrelerar till basdiagrammen i procent i Sequence Analysis Viewer (SAV) och BaseSpace-sekvenseringshubbens körningsdata per cykel och är inte avsedda att korrelera med den gröna och blå kanalen.

Kluster som passerar filtret

Under körningen filtrerar RTA3 alla rådata och tar bort avläsningar som inte håller kvalitetsmålet. Överlappande kluster eller kluster av låg kvalitet tas bort.

För tvåkanalsanalys använder RTA3 ett populationsbaserat system för att bestämma en basbestämnings renhet (mått på intensitetsrenhet). Kluster passerar filtret (PF) när inte mer än en basbestämning har en renhet under ett angivet tröskelvärde under de första 25 cyklerna. När den ingår utförs PhiX-inpassning under cykel 26 på en underuppsättning av plattor för kluster som passerade filtret. Kluster som inte passerar filtret har inte basbestämts och är inte inpassade.

Kvalitetsresultat

Ett kvalitetsresultat, eller ett Q-resultat, mäter sannolikheten för en felaktig basbestämning. Ett högt Q-resultat indikerar att en basbestämning är av bra kvalitet och sannolikt är korrekt. När Q-resultatet är bestämt sparas resultaten i basbestämningsfiler (*.cbcl).

Q-resultatet är ett praktiskt sätt att mäta sannolikheten för små fel. Q-resultat skrivs som Q(X), där X är resultatet. I nedanstående tabell visas relationen mellan ett kvalitetsresultat och sannolikheten för fel.

Q-resultat Q(X)	Felsannolikhet
Q40	0,0001 (1 på 10 000)
Q30	0,001 (1 på 1 000)
Q20	0,01 (1 på 100)
Q10	0,1 (1 på 10)

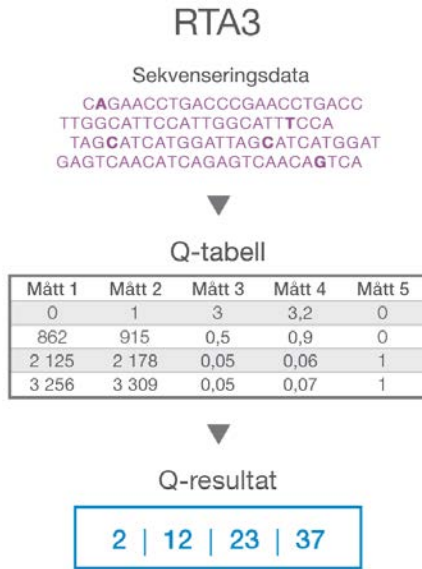
Kvalitetsresultat och rapportering

Metoden beräknar en uppsättning variabler för varje basbestämning och använder sedan variablernas värden för att hitta Q-resultatet i en kvalitetstabell. Kvalitetstabeller skapas för att ge optimalt noggranna kvalitetsprognoser för körningar som skapas av en specifik konfiguration av sekvenseringsplattform och uppsättning av kemikalier.

i | Kvalitetsresultat baseras på en anpassad version av Phred-algoritmen.

För att generera Q-tabellen för sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000 fastställdes tre grupper av basbestämningar baserat på kluster av dessa specifika förutsägbara funktioner. Efter gruppering av basbestämningarna beräknades den genomsnittliga felfrekvensen empiriskt för var och en av de tre grupperna och motsvarande Q-resultat registrerades i Q-tabellen tillsammans med de prediktiva funktionerna som korrelerar till den gruppen. Det betyder att endast tre Q-resultat är möjliga med RTA3 och dessa Q-resultat representerar gruppens genomsnittliga felfrekvens ([Förenklade Q-resultat med RTA3 på sidan 59](#)). Sammantaget resulterar det i förenklade men ändå mycket noggranna kvalitetsresultat. De tre grupperna i kvalitetstabellen motsvarar marginella (< Q15), medium (~Q20) och högkvalitativa (> Q30) basbestämningar och tilldelas de specifika resultaten 12, 23 respektive 37. Dessutom tilldelas det ogiltiga resultatet 2 alla saknade bestämningar. Den här rapporteringsmodellen för Q-resultat minskar kraven på lagringsutrymme och bandbredd utan att påverka noggrannhet eller prestanda.

Bild 7 Förenklade Q-resultat med RTA3



Utdatafiler från sekvensering

Filtyp	Filbeskrivning, plats och namn
Sammanlagda basbestämningsfiler	<p>Varje kluster som analyseras ingår i en sammanslagen basbestämningsfil, samlade i en fil per cykel, spår och yta. Den sammanslagna filen innehåller de sammanslagna basbestämningarna och kodade kvalitetsresultat för varje kluster. De sammanslagna basbestämningsfilerna används av BaseSpace-sekvenseringshubben eller bcl2fastq2.</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, till exempel L001_1.cbcl</p>
Klusterplaceringsfiler	<p>För varje flödescell innehåller en binär klusterplaceringsfil XY-koordinater för kluster på en platta. En sexkantig layout som matchar flödescellens nanobrunnslayout fördefinierar koordinaterna.</p> <p>Data/intensiteter s_[spår].locs</p>
Filterfiler	<p>Filterfilen anger om ett kluster passerar filtret. Filterfiler genereras under cykel 26 med data från de föregående 25 cyklerna. En filterfil genereras för varje platta.</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter</p>

Filtyp	Filbeskrivning, plats och namn
InterOp-filer	Binära rapporteringsfiler kan visas på instrumentet med instrumentets kontrollprogram eller utanför instrumentet i SAV eller BaseSpace-sekvenseringshubb. InterOp-filer uppdateras under hela körningen. InterOp-mapp
Körningsinformationsfil	Listar körningsnamnet, antalet cykler i varje avläsning, om avläsningen är en indexavläsning och antalet strängar och plattor på flödescellen. Körningsinformationsfilen skapas i början av körningen. [rotmapp], RunInfo.xml

Utdatafiler från sekundäranalys med DRAGEN

DRAGEN Bio-IT Platform analyserar utdata från sekvenseringen på instrumentet med ett av nedanstående analysarbetsflöden.

- BCL Convert (BCL-konvertering)
- Germline (Könszell)
- RNA
- Enrichment (Berikning)
- Single Cell RNA (Enkelcells-RNA)
- DNA Amplicon (DNA-amplikon)

Det här avsnittet innehåller information om varje DRAGEN-arbetsflöde, inklusive information om utdatafiler. Förutom att generera filer som är specifika för varje arbetsflöde tillhandhåller DRAGEN även mätvärden från analysen i en `<sample_name>.metrics.json`-fil och rapporterna som beskrivs i [Arbetsflödet DRAGEN BCL Convert på sidan 65](#). Mer information om DRAGEN finns på [hjälpsidan för DRAGEN Bio-IT Platform](#).

Alla DRAGEN-arbetsflöden stöder dekomprimeringen av BCL-filer med indata och komprimeringen av BAM-/CRAM-filer med utdata.

Att beakta för utdatafiler:

- För arbetsflödena Germline, RNA, Enrichment och DNA Amplicon som kör analyser på instrumentet kommer inte BAM-filer att laddas upp på BaseSpace-sekvenseringshubben om Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, körningsövervakning och lagring) har valts.

Arbetsflödet DRAGEN Enrichment

Arbetsflödet DRAGEN Enrichment stöder följande funktioner. Om du använder DRAGEN 3.7, eller en senare version, är både lägena germline (könszell) och somatic (tumor only) (somatiskt (endast tumör)) tillgängliga.

- Demultiplexering av prover

- Mappning och inpassning, inklusive sortering och duplikatmarkering
- Liten variantbestämning
- Strukturell variantbestämning

För att utföra variantbestämning måste en *.bed-fil vara med i provarket eller vara specificerad i Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) på BaseSpace-sekvenseringshubb. Strukturell variantbestämning genereras endast för paired-end-avläsningar och könscellsläge.

Om du använder DRAGEN Enrichment version 3.8, eller en senare version, kan du mata in en basfil för brus för att förbättra prestandan i somatiskt läge. Mer information finns i [Importerera basfiler för brus på sidan 17](#).

Arbetsflödet genererar följande utdatafiler.

Komponent	Typ	Utdatafilnamn
Mappning/inpassning	BAM eller CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam eller • <sample_name>.cram
Liten variantbestämning	VCF och gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
Strukturell variantbestämning	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.sv.vcf.gz

* gVCF-utdatafiler är endast tillgängliga i könscellsläge.

Arbetsflödet DRAGEN Germline

Arbetsflödet DRAGEN Germline stöder följande funktioner:

- Demultiplexering av prover
- Mappning och inpassning, inklusive sortering och duplikatmarkering
- Liten variantbestämning
- Strukturell variantbestämning för paired-end-avläsningar
- Kopiera variantbestämningsnumret för humana genom
- Upprepa utvidgningar för humana genom
- Homozygositetregioner för humana genom
- **[DRAGEN v3.8 eller senare]** CYP2D6-detektering

Strukturell variantbestämning genereras endast för paired-end-avläsningar.

Arbetsflödet genererar följande utdatafiler.

Komponent	Typ	Utdatafilnamn
Mappning/inpassning	BAM eller CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam eller • <sample_name>.cram
Liten variantbestämning	VCF och gVCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
Strukturell variantbestämning	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.sv.vcf.gz
Kopiera nummervarianter	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.cnv.vcf.gz
Upprepa expansion	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.repeats.vcf.gz
Homozygositetregioner	CSV och BED	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.roh_metrics.csv • <sample_name>.roh.bed
CYP2D6-detektering	TSV	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.cyp2d6.tsv

Arbetsflödet DRAGEN DNA Amplicon

Arbetsflödet DRAGEN DNA Amplicon stöder följande funktioner:

- Demultiplexering av prover
- Mappning och inpassning, inklusive sortering och duplikatmarkering
- Liten variantbestämning i könscellsläge eller somatiskt läge

För att utföra variantbestämning måste en *.bed-fil vara med i provarket eller vara specificerad i Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) på BaseSpace-sekvenseringshubb.

Arbetsflödet genererar följande utdatafiler.

Komponent	Typ	Utdatafilnamn
Mappning/inpassning	BAM eller CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam eller • <sample_name>.cram
Liten variantbestämning	VCF och gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz

*gVCF-utdatafiler är endast tillgängliga i könscellsläge.

Arbetsflödet DRAGEN RNA

Arbetsflödet DRAGEN RNA stöder följande funktioner:

- Demultiplexering av prover
- Mappning och inpassning, inklusive sortering och duplikatmarkering
- Genfusionsdetektering

- Kvantifiering av transkript
- [DRAGEN v3.8 eller senare] Differentiellt genuttryck

Specificera en GTF-fil i provarket eller se till att standardvärdet `genes.gtf.gz` finns med referensgenomet för att generera utdatafiler.

Arbetsflödet genererar följande utdatafiler.

Komponent	Typ	Utdatafilnamn	Beskrivning
Mappning/inpassning	BAM eller CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.bam</code> eller • <code><sample_name>.cram</code> 	Inpassningsutdata som uppfyller SAM-specifikationerna.
Genfusions-detektering	Oformaterad text	<ul style="list-style-type: none"> • <code><sample_name>.fusion_candidates.preliminary</code> • <code><sample_name>.fusion_candidates.final</code> 	<ul style="list-style-type: none"> • Fusionskandidater innan filter tillämpas. • Fusionskandidater efter filter har tillämpats.
Kvantifiering av transkript	Oformaterad text	<ul style="list-style-type: none"> • <code>sample_name.quant.genes.sf</code> • <code>sample_name.quant.sf</code> 	<ul style="list-style-type: none"> • Transkriptkvantifieringsresultat på gennivå. • Alla transkriptkvantifieringsresultat.
Differentiellt uttryck	PNG	Se nedanstående tabell för utdatafiler för differentiellt uttryck.	För att generera utdatafiler måste en jämförelse konfigureras i provarket.

Följande filer skapas när differentiella uttryck är aktiverat.

Filnamn	Beskrivning
<code>Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv</code>	Innehåller mätvärden för differentiellt uttryck.
<code>Control_vs_Comparison.genes.counts.csv</code>	Beskriver antalet avläsningar som mappats mot varje gen för varje prov i kontroll- och jämförelsegrupperna.

Filnamn	Beskrivning
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	En värmekarta över uttrycket av de differentiellt uttryckta generna för prover i kontroll- och jämförelsegrupperna. Värmekartan visar endast differentiellt uttryckta gener med ett justerat P-värde < 0,05. Om det finns mer än 30 differentiellt uttryckta gener kommer endast de 30 första att användas. Om DESeq1 misslyckas med att konvergera eller om det inte finns några differentiellt uttryckta gener genereras inte filen.
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	Innehåller variationen i genuttrycksförhållanden som en funktion av genomsnittlig signalintensitet. För att visa skillnaden mellan mått tagna på två prov, omvandlar diagrammet data till skalorna M (sannolikhetsförhållande) och A (medelvärde) och plottar sedan värdena. MA-diagrammet visar log ₂ -veckningsförändringarna hänförliga till en given variabel över medelvärdet av normaliserade värden för alla prover. Om det justerade P-värdet är mindre än 0,1 blir punkterna röda. Punkter som faller ut ur fönstret ritas som öppna trianglar. Trianglar som pekar uppåt representerar en positiv log-veckningsförändring. Trianglar som pekar nedåt representerar en negativ log-veckningsförändring.
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	Diagrammet visar de två första huvudkomponenterna som visar mest variation.
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	Innehåller DESeq2-resultat som beskriver medeluttrycket log ₂ (veckningsförändring), standardfel hos log ₂ , P-värde, justerat P-värde och uttrycksstatus för varje gen.
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	Innehåller regelbundna log-transformerade värden beräknade av DESeq2.

Arbetsflödet DRAGEN Single Cell RNA

DRAGEN stöder följande funktioner:

- Demultiplexering av prover
- Mappning och inpassning, inklusive sortering och duplikatmarkering
- Cell- och genklassificering

Specificera en GTF-fil i provarket eller se till att standardvärdet `genes.gtf.gz` finns med referensgenomet för att generera utdatafiler.

Arbetsflödet genererar följande utdatafiler.

Komponent	Typ	Utdatafilnamn
Mappning/inpassning	BAM eller CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <code><sample_name>.bam</code> eller <code><sample_name>.cram</code>
Cell- och genklassificering	TSV, CSV och MTX	<ul style="list-style-type: none"> <code><sample_name>.scRNA.barcodeSummary.tsv</code> <code><sample_name>.scRNA.genes.tsv</code> <code><sample_name>.scRNA.matrix.mtx</code>
Analysrapporter	HTML	<code><sample_name>.dragen.scrna-report.*.html</code>

Arbetsflödet DRAGEN BCL Convert

Arbetsflödet DRAGEN BCL Convert använder BCL-data som genereras från sekvenseringskörningen och provarksinformation för att skapa FASTQ-filer för varje prov. FASTQ-filnamnet är `<sample_name>.fastq.gz`.

Arbetsflödet genererar följande rapporter.

Komponent	Typ	Utdatafilnamn
Demultiplexering	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Demultiplex_Stats.csv</code>
Adapterstatistik	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Adapter_Metrics.csv</code>
Indexbyte	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Index_Hopping_Counts.csv</code>
Toppositionerna för okända streckkoder	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Top_Unknown_Barcodes.csv</code>

Demultiplexing-rapport

Demultiplexings-rapporten innehåller information om antalet avläsningar som passerar filtret som tilldelas varje prov i provarket. Alla avläsningar som inte är tydligt associerade med ett prov klassificeras som obestämda. Rapporten innehåller också information om kvalitetspoängen för baserna i avläsningar som passerar filtret som tilldelats varje prov.

Följande information ingår.

Mått	Beskrivning
Lane (Spår)	Spåret på flödescellen där provet sekvenserades.

Mått	Beskrivning
SampleID (Prov-ID)	Prov-ID:et från provarket. Om en läsning inte motsvarar ett prov visas fältet <code>undetermined</code> (obestämt).
Index	Sammankopplingen av indexavläsning 1 och indexavläsning 2 från provarket, åtskilda med ett bindestreck. Om en avläsning inte motsvarar ett prov visas fältet <code>undetermined</code> (obestämt).
# Reads (Antal avläsningar)	Antalet avlästa filterpasseringar, demultiplexerat för provet i det angivna spåret.
# Perfect Index Reads (Antal perfekta indexavläsningar)	Antalet avläsningar med en perfekt matchning till de kombinerade indexsekvenserna som anges i provarket.
# One Mismatch Index Reads (Antal indexavläsningar med ett fel)	Antalet avläsningar med ett fel i de kombinerade indexsekvenserna som anges i provarket.
# of \geq Q30 Bases (PF) (Antal baser \geq Q30 (PF))	Antalet baser, inklusive adapterbaser, som motsvarar avläsningar som klarar en kvalitetsgräns på Q30.
Mean Quality Score (PF) (Genomsnittligt kvalitetsresultat (PF))	Medelkvalitetsresultatet för avläsningar som motsvarar provet i det angivna spåret. Värdet inkluderar adapterbaser.

Adapterstatistikrapporter

Adapterstatistikfilen innehåller antalet adapterbaser och provbaser som associeras med varje avläsning. Följande information ingår.

Mått	Beskrivning
Lane (Spår)	Spåret på flödescellen där provet sekvenserades.
Sample_ID (Prov-ID)	Prov-ID:et från provarket. Om en läsning inte motsvarar ett prov visas fältet <code>undetermined</code> (obestämt).
index	Index1-sekvensen från provarket. Fältet är tomt om indexet inte angavs i provarket eller om prov-ID-värdet är <code>undetermined</code> (obestämt).
index2	Index2-sekvensen från provarket. Fältet är tomt om index2 inte angavs i provarket eller om prov-ID-värdet är <code>undetermined</code> (obestämt).

Mått	Beskrivning
R1_AdapterBases (Baser – adapteravläsning 1)	Antal baser som motsvarar AdapterRead1 (Adapteravläsning 1) i provarket.
R1_SampleBases (Baser – avläsning 1)	Antal trimmade eller maskerade baser från Read 1 (Avläsning 1) för motsvarande spår och prov.
R2_AdapterBases (Baser – adapteravläsning 2)	Antal baser som motsvarar AdapterRead2 (Adapteravläsning 2) i provarket.
R2_SampleBases (Baser – avläsning 2)	Antal trimmade eller maskerade baser från Read 2 (Avläsning 2) för motsvarande spår och prov.
# Reads (Antal avläsningar)	Antalet avläsningar för provet i det angivna spåret.

Rapport om antal indexbyten

Rapporten om antalet indexbyten innehåller antalet avläsningar för varje förväntat och utbytt index för dubbla indexkörningar. Rapporten innehåller endast unika dubbla index per spår där ingen streckkodskollision detekteras i något av indexen. För att generera värden för indexbyten för en fil måste varje par poster inom varje index ha ett hamningsavstånd på minst $2N + 1$, där N representerar den tolerans för streckkodsfel som anges för indexet.

Följande information ingår.

För körningar utan index, enskilda indexkörningar eller spår som inte innehåller unika dubbla index innehåller filen endast rubrikerna.

Mått	Beskrivning
Lane (Spår)	Spåret på flödescellen där provet sekvenserades.
# Reads (Antal avläsningar)	Antalet avläsningar för provet i det angivna spåret.
SampleID (Prov-ID)	Prov-ID:et från provarket. Om en läsning inte motsvarar ett prov visas fältet <code>undetermined</code> (obestämt).
index	Index1-sekvensen från provarket. Fältet är tomt om en avläsning är oavslutad eller om prov-ID-värdet är <code>undetermined</code> (obestämt).
index2	Index2-sekvensen från provarket. Fältet är tomt om en avläsning är oavslutad eller om prov-ID-värdet är <code>undetermined</code> (obestämt).

Rapport om toppositionerna för okända streckkoder

Rapporten med toppositionerna av de okända streckkoderna innehåller de 100 toppositionerna för index eller indexpar per fil som inte identifierades i provarket baserat på antalet tillåtna felaktigheter. Om flera indexvärden delar på den 100:e indexposten visas alla indexvärden med samma antal för den 100:e posten.

Följande information ingår:

Mått	Beskrivning
Lane (Spår)	Spåret på flödescellen där provet sekvenserades.
index	Sekvensen för varje okänt index i index Read1 (Indexavläsning 1). Fältet är tomt om inga okända index hittas.
index2	Sekvensen för varje okänt index i index Read2 (Indexavläsning 2). Om körningen var en enkel avläsning eller inga okända index hittades är fältet tomt.
# Reads (Antal avläsningar)	Antalet avläsningar för provet i det angivna spåret.

QC-rapporter för Illumina DRAGEN

DRAGEN genererar som standard FastQC QC-diagram för alla arbetsflöden. Sammanslagna QC-resultat lagras i mappen `AggregatedFastqcMetrics` och provresultat lagras i mappen `<sample_name>`.

QC-rapporter genereras inte om antalet prover är över 512.

Följande QC-diagram tillhandahålls.

QC-diagram	Beskrivning
adapter_content	Procentandelen av sekvenser för varje baspar.
positional_mean_quality	Ett genomsnittligt kvalitetsresultat för baser enligt Phred-skalan för varje avläsningsposition.
gc_content	Procenten GC-innehåll för varje sekvenseringsavläsning.
positional_quality.read_1	Ett genomsnittligt kvalitetsvärde för baser enligt Phred-skalan med en specifik nukleotid och på en angiven position i Read 1 (Avläsning 1).
gc_quality	

QC-diagram	Beskrivning
positional_quality.read_2	Ett genomsnittligt kvalitetsvärde för baser enligt Phred-skalan med en specifik nukleotid och på en angiven position i Read 2 (Avläsning 2).
n_content	
read_length	Sekvenseringslängden för varje avläsning.
positional_base_content.read_1	Antal baser för varje specifik nukleotid på angivna positioner i Read 1 (Avläsning 1).
read_quality	Ett genomsnittligt kvalitetsresultat enligt Phred-skalan för varje sekvenseringsavläsning.
positional_base_content.read_2	Antal baser för varje specifik nukleotid på angivna positioner i Read 2 (Avläsning 2).

Mapstruktur för utdata från sekundäranalys med DRAGEN

Som standard genererar DRAGEN utdatafiler i utdatamappen som valts på fliken Settings (Inställningar). För varje arbetsflöde producerar DRAGEN en översiktsrapport i filen `report.html`.

📁 Data

📄 `report.html`

📄 `report_files`

📁 AggregateFastQCPlots

📄 `*.png`

📄 `*stderr_.txt`

📄 `*stdout_.txt`

📄 `dragen_prev_48_hrs.log`

📄 `d1m_prev_48_hrs.log`

📄 `Samplesheet.csv`

📄 Indatafiler för körningar (t.ex. BED och GTF-filer)

📁 sample_name

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

📁 sample_name

📄 `*.png`

- 📄 dragen_*.log
- 📄 sample_name.*.metrics.csv
- 📄 [DNA] sample_name.*.vcf.gz
- 📄 [DNA] sample_name.*.gvcf.gz – ej tillgänglig för arbetsflödet DRAGEN Bio-IT Platform Amplicon (somatisk)
- 📄 sample_name.*.bam eller sample_name.*.cram
- 📄 Logs
- 📄 [RNA] sample_name.fusion_candidates.filter_info
- 📄 [RNA] sample_name.fusion_candidates.final
- 📄 [RNA] sample_name.quant.genes.sf
- 📄 [RNA] sample_name.quant.sf
- 📄 sample_name.metrics.json
- 📄 [scRNA] sample_dragen-scRNA-report.*.html
- 📄 [scRNA] sample_name.scRNA.barcodeSummary.tsv
- 📄 [Könszell] sample_name.roh_metrics.csv
- 📄 [Könszell] sample_name.roh.bed
- 📄 [Könszell] 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** – endast tillgängligt om KeepFastq (Spara FASTQ) är inställd på sant

☰ *.fastq.gz

📁 **ora_fastq** – endast tillgänglig om FastqCompressionFormat (FASTQ-komprimeringsformat) är inställd på 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** – endast för paired-end-avläsningar


📁 **0001**


☰ dataset.json


📁 **0002**


☰ dataset.json


☰ Adapter_Metrics.csv

 Demultiplex_Stats.csv

 Index_Hopping_Counts.csv

 **Read1Metrics** – endast för paired-end-avläsningar

 Adapter_Metrics.csv


 Index_Hopping_Counts.csv

Underhåll

Det här avsnittet beskriver de procedurer som krävs för att upprätthålla ett hälsosamt system. Lär dig hur du installerar programuppdateringar, byter luftfilter och utför andra periodiska underhållsprocedurer. Att hålla styrprogramvaran uppdaterad säkerställer att ditt system har de senaste buggfixarna och funktionerna installerade för optimal prestanda.

Frigöra utrymme på hårddisken

En sekvenseringskörning kräver omkring 200 GB hårddiskutrymme. Ett varningsmeddelande visas när det är ont om ledigt diskutrymme. Använd följande steg för att frigöra utrymme genom att radera slutförda körningar och installerade referensgenom från en tillfällig körningsmapp.

 Radera endast körningar med hjälp av kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 istället för att göra det manuellt genom operativsystemet. Kontrollprogrammet kan påverkas negativt om körningar raderas manuellt.

1. Välj **Disk Management** (Diskhantering) i kontrollprogrammets meny. Skärmen Disk Management (Diskhantering) öppnas och visar en lista över körningar och referensgenom som har sparats på hårddisken.
2. Välj **Delete Run** (Radera körning) för körningen som du vill radera. När en körning tas bort tas även den lokala körningsmappen bort. Utdatamappen, som är en kopia av körningsmappen, finns kvar.
3. Välj **Yes, Delete Run** (Ja, radera körning) i dialogrutan för att bekräfta borttagningen av körningen.
4. Upprepa steg 2 och 3 för varje körning som du vill ta bort.
5. Välj **Delete Genome** (Radera genom) för det genom som du vill ta bort.
6. Välj **Yes, Delete Genome** (Ja, radera genom) i dialogrutan för att bekräfta borttagningen av genomet.
7. Upprepa steg 5 och 6 för varje genom som du vill ta bort.
8. Stäng skärmen Disk Management (Diskhantering) när du är klar för att gå tillbaka till startskärmen.

Programuppdateringar

När programmet är uppdaterat försäkras det att systemet har de senaste funktionerna och korrigeringsarna. Programuppdateringar finns samlade i en programsvit, som innehåller följande program:

- Kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000
- Recept för NextSeq 1000/2000

- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

i | DRAGEN-moduler ingår inte i systemsviten. Installera dem separat vid behov. Du har tillgång till DRAGEN-modulens programvara via hjälpsidorna.

Systemet är konfigurerat för att hämta programuppdateringar automatiskt eller manuellt:

- **Automatic updates** (Automatiska uppdateringar) – Installerbara uppdateringar hämtas automatiskt från BaseSpace Sequence Hub. För det här alternativet behövs det en internetanslutning men inte ett BaseSpace-sekvenseringshubkonto.
- **Manual updates** (Manuella uppdateringar) – Uppdateringar hämtas manuellt från webben, sparas lokalt eller på en bärbar enhet, och installeras från den sparade platsen. Det här alternativet kräver ingen internetanslutning för instrumentet.

Installera en automatisk programuppdatering


1. Säkerställ att inga sekvenseringskörningar körs eller sekundära analyser utförs på instrumentet.
2. Logga in på ilmnadmin.
3. Välj **Software Update** (Programuppdatering) i kontrollprogrammets meny.
System som är konfigurerade för automatiska uppdateringar visar en avisering när en programuppdatering är tillgänglig.
4. Välj **Check Online for Software Update** (Sök efter programuppdatering online) för att söka efter en uppdatering.
5. Välj **Update Now** (Uppdatera nu) för att hämta den senaste versionen av programmet.
När nedladdningen är klar stängs kontrollprogrammet och installationsguiden öppnas.
Kontrollprogrammet startar om automatiskt. Eventuell uppdatering av inbyggd programvara sker automatiskt efter omstarten.

i | Det går inte att avbryta en uppdatering när installationen har påbörjats. Du kan endast avbryta en uppdatering under nedladdningen.

Installera en manuell programuppdatering

1. Logga in på ilmnadmin.
2. Säkerställ att inga sekvenseringskörningar körs eller sekundära analyser utförs på instrumentet.
3. När en programuppdatering är tillgänglig kan du hämta installationsprogrammet (*.tar.gz) på [hjälp sidan för sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000](#). Spara installationsprogrammet på en lokal eller bärbar enhet.
4. Om du sparade installationsprogrammet på en bärbar enhet behöver du ansluta den till någon av de USB 3.0-portar, som finns på sidan och baksidan av instrumentet.
5. Välj **Software Update** (Programuppdatering) på kontrollprogrammets meny.

6. Välj **Choose...** (Välj ...) för att gå till installationsprogrammet.
7. Välj **Update Now** (Uppdatera nu) för att starta installationen.
Kontrollprogrammet visar en upptagen förloppsindikator under installationen.
Kontrollprogrammet startar om automatiskt. Eventuell uppdatering av inbyggd programvara sker automatiskt efter omstarten.

 | Det går inte att avbryta en uppdatering när installationen har påbörjats. Du kan endast avbryta en uppdatering under nedladdningen.

Uppdatera arbetsflöden och licenser för DRAGEN

Endast systemadministratörer kan installera DRAGEN-arbetsflöden och förnya DRAGEN-licenser.

Förnya en DRAGEN-licens online

Om NextSeq 1000/2000 är ansluten till internet ska du uppdatera licensen för DRAGEN Bio-IT Platform enligt följande.

1. Kontakta Illuminas tekniska support för att få en ny licensnyckel.
2. Vänta i 24 timmar för att uppdatera licensen automatiskt eller uppdatera licensen omedelbart enligt följande.
 - a. Välj kontrollprogrammets meny och välj sedan **DRAGEN**.
 - b. Välj **Check Online** (Kontrollera online) för att kontrollera om en ny DRAGEN-licensnyckel är tillgänglig.
 - c. Välj **Update** (Uppdatera) om det finns en tillgänglig licensnyckel.

Förnya en DRAGEN-licens offline

Om NextSeq 1000/2000 inte är ansluten till internet ska du uppdatera licensen för DRAGEN Bio-IT Platform enligt följande.

1. Kontakta Illuminas tekniska support för att få en ny licensnyckel. Spara filen `license.zip` på en lokal eller bärbar enhet.
2. Om du sparade *.zip-filen på en bärbar enhet ska du ansluta den till en USB 3.0-port, som finns på både sidan och baksidan av instrumentet. Vid behov kan du försiktigt flytta på instrumentet för att komma åt baksidan.
3. Välj kontrollprogrammets meny och välj sedan **DRAGEN**.
4. Välj **Choose** (Välj) för att gå till *.zip-filen och välj sedan **Open** (Öppna).

Installera DRAGEN-arbetsflöden online

Om NextSeq 1000/2000 är ansluten till internet kan du installera DRAGEN-arbetsflöden direkt i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000. Alternativet att installera DRAGEN-arbetsflöden online är endast tillgängligt i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 v1.3.

1. Välj kontrollprogrammets meny och sedan **Process Management** (Processhantering).
2. Säkerställ att inga sekvenseringskörningar körs eller sekundära analyser utförs på instrumentet.
3. Välj kontrollprogrammets meny och välj sedan **DRAGEN**.
Under version listar avsnittet Available Workflows (Tillgängliga arbetsflöden) de arbetsflöden som för närvarande är installerade på systemet.
4. Välj **Check Online** (Kontrollera online) för att installera DRAGEN-arbetsflöden i kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.
Alla DRAGEN-versioner och arbetsflöden är inte kompatibla med onlineinstallation. Använd offlineinstallation för ytterligare arbetsflöden.
5. Markera kryssrutan för de arbetsflöden som du vill installera. Om inte den senaste versionen av BCL Convert är installerad ska du installera den först.
Information om den senaste versionen av ett arbetsflöde finns i Viktig information.
6. Välj **Install** (Installera) för att starta installationen.
7. Ange ilmnadmin som systemlösenord och välj **Authenticate** (Autentisera).

Installera DRAGEN-arbetsflöden offline

1. Ladda ner installationsprogrammet (*.tar.gz) från [hjälpsidan för DRAGEN](#) när en uppdatering av ett DRAGEN-arbetsflöde är tillgänglig. Spara installationsprogrammet på en lokal eller bärbar enhet.
2. Om du sparade installationsprogrammet på en bärbar enhet behöver du ansluta den till någon av de USB 3.0-portar, som finns på sidan och baksidan av instrumentet. Vid behov kan du försiktigt flytta på instrumentet för att komma åt baksidan.
3. Välj kontrollprogrammets meny och sedan **Process Management** (Processhantering).
4. Säkerställ att inga sekvenseringskörningar körs eller sekundära analyser utförs på instrumentet.
5. Välj kontrollprogrammets meny och välj sedan **DRAGEN**.
6. Välj **Browse for New Version** (Sök efter ny version) under Version för att gå till installationsprogrammet.
7. Välj **Install** (Installera) för att starta installationen.
8. Ange ilmnadmin som systemlösenord och välj **Authenticate** (Autentisera).

Byta ut luftfiltret

Använd följande anvisningar för att byta ett gammalt luftfilter var sjätte månad.

Luftfiltret är en rektangulär kassett för engångsbruk som täcker fläkten på instrumentets högra sida. Det säkerställer att korrekt temperatur bibehålls och förhindrar att skräp kommer in i systemet. Instrumentet levereras med ett luftfilter installerat och ett reservfilter. Ytterligare reservdelar ingår med ett giltigt underhållskontrakt för instrument, eller så kan de köpas separat från Illumina.

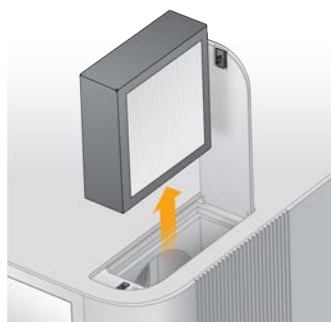
1. Tryck på den högra sidan av den övre panelen på instrumentets ovansida för att lossa panelen enligt bilden nedan.



2. Öppna panelen.



3. Tryck för att lossa luftfilterkassetten, ta bort den från mitten av panelen och kassera den.



4. För in ett nytt luftfilter i panelen och tryck det på plats.

5. Stäng topppanelen och tryck den på plats.



6. Ställ tillbaka instrumentet på sin vanliga plats.

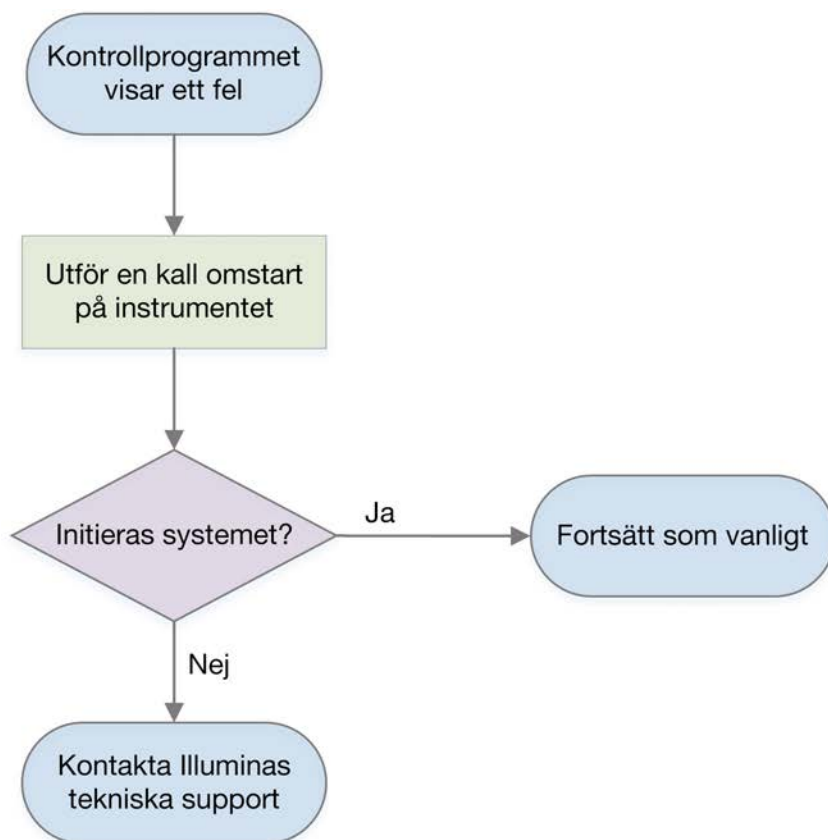
Felsökning

Det här avsnittet innehåller stegvisa anvisningar för hur du kan avbryta en körning, utföra en kall omstart på instrumentet och andra felsökningsprocedurer.

Åtgärda felmeddelanden

Den här bilagan innehåller detaljerade anvisningar för olika felsökningssteg. Följande flödesschema ger en översikt över åtgärder för felmeddelanden som visas under start, körningskonfiguration eller sekvensering, och som inte kan åtgärdas med ett nytt försök.

Många fel kan lösas genom att utföra en kall omstart, det vill säga att systemet stängs av och startas om. Mer information om kalla omstarter finns i [Utföra en kall omstart på instrumentet på sidan 81](#).



Förvara tinat förbrukningsmaterial

Använd följande anvisningar för att förvara en tinad kassett och flödescell om ett instrumentfel uppstår i samband med den förberedande instrumentkontrollen före fluidikkontrollen.

1. Separera flödescellen från kassetten.
 2. Ta bort och kassera det utspädda biblioteket från behållaren (upp till ~18 µl).
- !** Förbered en ny utspädning av samma bibliotek för nästa körning för att undvika korskontaminering av prov med kvarvarande bibliotek i behållaren.
3. Förvara kassetten vid 2 °C till 8 °C med etiketten vänd uppåt och kontrollera att luft kan cirkulera runt alla sidor.
Överskrid inte 72 timmar. Överskrid inte 60 timmar om kassetten tinades i ett kylskåp över natten i 12 timmar.
 4. Placera flödescellen i den ursprungliga silverfärgade folieförpackningen med torkmedel.
 5. Förslut folieförpackningen med tejp och i förvara den vid 2 °C till 8 °C.
Överskrid inte 72 timmar.

Avbryta en körning

1. Välj **End Run** (Avsluta körning).
2. Markera kryssrutan **Purge Reagent Cartridge** (Töm reagenskassetten) för att tömma reagenskassetten automatiskt.
Den förvalda inställningen konfigureras i inställningarna för kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.
3. Välj **Yes, end the sequencing run** (Ja, avsluta sekvenseringskörningen).
Att avbryta en körning är en definitiv handling. Programmet kan inte återuppta körningen och förbrukningsmaterialet kan inte återanvändas när instrumentkontrolldelen av kontrollen före körningen har slutförts.
4. Välj **Eject Cartridge** (Mata ut kassett) för att öppna luckan och mata ut facket.
5. Avlägsna kassetten från facket.
6. Lagra eller kassera kassetten, beroende på när avbrottet skedde:

Omständighet	Åtgärd
Du avbröt innan eller under instrumentkontrollen och vill använda förbrukningsmaterialet igen.	Mer information finns i Förvara tinat förbrukningsmaterial på sidan 80 .
Alla andra omständigheter.	Mer information finns i Mata ut förbrukningsmaterial på sidan 51 .

7. Välj **Close Door** (Stäng lucka) för att mata in facket och återgå till startskärmen.
Sensorer bekräftar att kassetten har avlägsnats.

Repetera en körning

Om ett fel visas för Status of Secondary Analysis (Status för sekundäranalys) i Process Management (Processhantering) kan du repetera körningen för att utföra en DRAGEN-analys på instrumentet igen på de genererade cBCL-filerna. Den ursprungliga körningsmappen måste fortfarande finnas på instrumentet för att det ska vara möjligt att använda repetitionsfunktionen. Körningar i BaseSpace-sekvenseringshubben repeteras inte när den här repetitionsfunktionen används. Information om hur du repeterar körningar i BaseSpace-sekvenseringshubb finns i Fix Sample Sheet (Korrigera provark) i hjälpcentret för BaseSpace-sekvenseringshubb.

1. Uppdatera provarket v2 och spara sedan provarket till en bärbar eller monterad nätverksenhet.
2. Om du sparade provarket på en bärbar enhet behöver du ansluta den till någon av de USB 3.0-portar, som finns på sidan och baksidan av instrumentet. Vid behov kan du försiktigt flytta på instrumentet för att komma åt baksidan.
3. Välj kontrollprogrammets meny och sedan **Process Management** (Processhantering).
4. Säkerställ att inga sekvenseringskörningar körs eller sekundära analyser utförs på instrumentet.
5. Välj **Requeue** (Repetera) bredvid den slutförda körningen för att repetera den.
6. Välj **Choose** (Välj) för att gå till det uppdaterade provarket och välj sedan **Open** (Öppna).
7. Välj **Start Requeue** (Starta repetition).

Utföra en kall omstart på instrumentet

En kall omstart av instrumentet är ett säkert sätt att stänga av och starta om systemet för att återställa en förlorad anslutning, anpassa en specifikation eller åtgärda ett initieringsfel. Programmeddelanden indikerar när en kall omstart kan var lösningen på ett fel eller en varning.

1. Välj **Shut Down Instrument** (Stäng av instrumentet) i kontrollprogrammets meny.
2. Om systemet inte stängs av ska du hålla ned strömbrytaren på instrumentets högra sida tills det att lamporna tonas ned.
3. Slå av strömbrytaren på instrumentets baksida till läget av (O) när strömbrytaren blinkar.
Strömbrytaren kan fortsätta att blinka efter det att strömmen kopplats från.

Bild 8 Strömbrytarens placering



4. Vänta i 30 sekunder.
5. Slå på strömbrytaren till läget på (I).
6. Vänta i 30 sekunder när strömbrytaren blinkar och tryck sedan på den.

Bild 9 Strömbrytarens placering



7. Vänta i cirka fem minuter tills operativsystemet har lästs in. Logga in i systemet när operativsystemet har lästs in.
Kontrollprogrammet startar och initierar systemet. Vänta cirka fem minuter för systeminitiering. Startskärmen visas när initieringen har slutförts.

Utföra en systemkontroll

En systemkontroll krävs inte vid normal drift eller underhåll av instrumentet. Illuminas tekniska support kan däremot be dig att utföra en systemkontroll i felsöknings syfte.

Fyra undersystemkontroller tar cirka 58 minuter att felsöka fel och andra problem vid en kontroll före en körning. Testen bekräftar om komponenterna är korrekt inpassade och funktionella.

Testresultaten skickas till mappen `system-check` i `/usr/local/illumina/system-check`.

Se till att mata ut kassetten innan systemkontroller körs.

Köra en systemkontroll

1. Välj **System Checks** (Systemkontroller) i kontrollprogrammets meny.
2. Markera kryssrutan för de systemkontroller som du vill utföra.
 - **Network Connectivity** (Nätverksanslutning) – Kontrollerar nätverksanslutningsstatusen och prestanda.
 - **Enclosure** (Hölje) – Kontrollerar prestanda för det termiska systemets och luckans lyftmekanism.
 - **Motion** (Rörelse) – Kontrollerar rörelsegränserna och prestanda för Z-plattformen och XY-plattformen.
 - **Optics** (Optik) – Kontrollerar avbildningsmodulens prestanda.
3. Välj **Start** (Starta).

Återställ till fabriksinställningar

Återställ systemet till fabriksinställningarna för att nedgradera programmet eller återställa en önskad konfiguration. Den här funktionen bör endast användas av en Illumina-representant.

Skapa en systemavbildning

Skapa en systemavbildning för att säkerhetskopiera en fungerande programinstallation. Systemavbildningen kan återställas vid en senare tidpunkt. Det rekommenderas att du skapar systemavbildningen direkt efter den första installationen och när du har bytt ditt lösenord med hjälp av en Illumina-representant.

1. Starta om Linux.
2. Välj **Capture Installed Image** (Skapa en systemavbildning) när du uppmanas att välja ett operativsystem.

Operativsystemets inställningar visas kort innan det automatiskt fortsätter med kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.




Eftersom endast en systemavbildning sparas i minnet kommer den att skriva över den tidigare systemavbildningen.

3. Vänta i cirka 30 min för att systemet ska skapa systemavbildningen. Systemet kan starta om flera gånger under tiden som systemavbildningen skapas. När processen har slutförts startas systemet om med den systemavbildning som är sparad i minnet.

Återställa en systemavbildning

Återställ systemet till den tidigare systemavbildningen för att återställa en önskad konfiguration.

1. Starta om Linux.
2. Välj **Restore Installed Image** (Återställ en systemavbildning) när du uppmanas att välja ett operativsystem.
Operativsystemets inställningar visas kort innan det automatiskt fortsätter med kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000.
 Lösenord är knutna till systemavbildningen. När systemet har återställts ska du använda den återställda systemavbildningens lösenord för att logga in på systemet.
3. Det tar omkring 30 minuter för återställningen att slutföras.
Systemet kan starta om flera gånger under återställningen. Systemet startar om med systemavbildningen när återställningen har slutförts.

Resurser och referenser

Inställningar för provark v2

Om du använder lokalt läge kan du använda provark i v2-filformat för att konfigurera körningens inställningar. Skapa provarket i Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) eller genom att redigera *Provarksmall v2 för sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000*. När du redigerar provarket ska du se till att nedanstående avsnitt och fält ingår i den ordning som anges och uppfyller kraven. Efter redigeringen ska du använda en bärbar eller monterad nätverksenhet för att överföra provarket till sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000. När du navigerar till provarket i kontrollprogrammet kopieras det till en mapp (som används före körningen) på instrumentet så att den bärbara enheten kan tas bort.

Kontrollera att inställningarna för provarket v2 uppfyller följande krav:

- De indexsekvenser som anges i provarksavsnittet BCLConvert_Data ska matcha indexsatsen som valts i NextSeq 1000/2000.
- Om du använder NextSeq 1000/2000-kontrollprogrammet v1.2 måste den DRAGEN-version som anges på provarket vara installerad och aktiv på systemet. Installationsinformation finns i [Programuppdateringar på sidan 73](#).
- Om du använder v1.3 av kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 måste DRAGEN-versionen som anges på provarket vara installerad på systemet. Kontrollprogrammet upptäcker automatiskt DRAGEN-versionen i provarket och uppmanar dig att byta aktiva versioner, om det behövs. Installationsinformation finns i [Programuppdateringar på sidan 73](#).

Om du använder DRAGEN måste du konfigurera ytterligare inställningar. Mer information finns i [Provarksinställningar för DRAGEN på sidan 89](#).

Ladda ner mallen för provark v2 från Product Files (Produktfiler) på hjälpsidan för sekvenseringssystemen NextSeq 1000 och NextSeq 2000. Om du skapade ett provark med hjälp av Instrument Run Setup (Körningskonfiguration på instrumentet) kan ändringar av provarket efter den första nedladdningen resultera i analysfel.

Filnamn får inte innehålla specialtecken.

Krav för [Header] (Rubrik)

Avsnittet [Header] (Rubrik) innehåller övergripande information om körningen. Nedan visas tillgängliga fält för [Header] (Rubrik) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
FileFormatVersion (Filformatsversion)	Ja	Provarksversionen. Ange 2 som värde.
RunName (Körningsnamn)	Nej	Ett unikt körningsnamn som användaren väljer. Körningsnamnet får innehålla alfanumeriska tecken, understreck, bindestreck och punkter. Om körningsnamnet innehåller mellanslag eller specialtecken kommer analysen att misslyckas.
RunDescription (Körningsbeskrivning)	Nej	En beskrivning av körningen.
InstrumentPlatform (Instrumentplattform)	Nej	NextSeq 1000/2000.
InstrumentType (Instrumenttyp)	Nej	NextSeq 1000/2000.

Krav för [Reads] (Avläsningar)

Avsnittet [Reads] (Avläsningar) beskriver antalet sekvenseringscykler som används för genom- och indexavläsning 1 och 2. Följande är tillgängliga fält för [Reads] (Avläsningar) och beskrivningar av dem:

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Read1Cycles (Cykler i avläsning 1)	Ja	Antal cykler i den första avläsningen. Värdet måste vara ett heltal större än noll.
Read2Cycles (Cykler i avläsning 2)	Nej	Antal cykler i den andra avläsningen.
Index1Cycles (Cykler i index 1)	Nej	Antal cykler i den första indexavläsningen. Krävs vid sekvensering av mer än ett prov. Det maximala antalet cykler är 10.
Index2Cycles (Cykler i index 2)	Nej	Antal cykler i den andra indexavläsningen. Det maximala antalet cykler är 10.

Krav för [Sequencing_Settings] (Sekvenseringsinställningar)

Använd avsnittet [Sequencing_Settings] (Sekvenseringsinställningar) för att ange vilken biblioteksprepareringssats som används.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
LibraryPrepKits (Biblioteksprepareringssatser)	Nej	<p>Biblioteksprepareringssatsen. Det kan endast användas en biblioteksprepareringssats åt gången.</p> <p>I v1.3 av kontrollprogrammet NextSeq 1000/2000 väljs önskat recept automatiskt om satsen Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus eller satsen Illumina Stranded mRNA Prep anges som biblioteksprepareringssats. Ange ett av följande värden.</p> <ul style="list-style-type: none"> Satsen Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus – ILMNStrandedTotalRNA Satsen Illumina Stranded mRNA Prep – ILMNStrandedmRNA

Krav för BCL-konvertering

Avsnitten för BCL-konvertering ger information om hur du konverterar data från BCL till FASTQ. BCL-konverteringsalternativen innehåller två separata avsnitt: [BCLConvert_Settings] (BCL-konverteringsinställningar) och [BCLConvert_Data] (BCL-konverteringsdata). BCL-konverteringsavsnitten kräver information om indexadaptersekvenser. Information om hur du kan identifiera den kompatibla adaptersekvensen för varje avläsning och index finns i *Adaptersekvenser för Illumina (dokumentnr 1000000002694)*.

Nedan visas de tillgängliga fälten för [BCLConvert_Settings] och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
SoftwareVersion (Programvaruversion)	Ja	Versionen av DRAGEN-programmet som är installerad på systemet. Använd alla tre heltal i versionens namn. Till exempel 3.5.7.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
BarcodeMismatchesIndex1 (Strekkoden överensstämmer inte med index 1)	Nej	Antalet tillåtna felparningar mellan den första indexavläsningen och indexsekvensen. Värdena kan vara antingen 0, 1 eller 2. Standardvärdet är 1.
BarcodeMismatchesIndex2 (Strekkoden överensstämmer inte med index 2)	Nej	Antalet tillåtna felparningar mellan den andra indexavläsningen och indexsekvensen. Värdena kan vara antingen 0, 1 eller 2. Standardvärdet är 1.
FastqCompressionFormat (FASTQ-komprimeringsformat)	Nej	Om du vill spara FASTQ-filer som en *.gz-fil ska du ange <code>gzip</code> . För att spara FASTQ-filer som en *.ora-fil och använda med DRAGEN-dekompression ska du ange <code>dragen</code> .
AdapterRead1 (Adapteravläsning 1)	Nej	Sekvensen för att trimma eller maskera från slutet av avläsning 1. Adaptersekvenser för avläsning 1 som innehåller A, C, G eller T. AdapterRead1 (Adapteravläsning 1) trimmar cykler som standard.
AdapterRead2 (Adapteravläsning 2)	Nej	Sekvensen för att trimma eller maskera från slutet av avläsning 2. Adaptersekvenser för avläsning 2 som innehåller A, C, G eller T. AdapterRead2 (Adapteravläsning 2) trimmar cykler som standard.
OverrideCycles (Åsidosätt cykler)	Nej	Sträng som används för att specificera UMI-cykler och dölja cykler i en läsning. Följande värden är tillåtna: <ul style="list-style-type: none"> • N – Anger cykler som ska ignoreras. • Y – Anger sekvenseringscykler. • I – Anger indexcykler. • U – Anger UMI-cykler som ska trimmas. Varje element separeras med semikolon. Följande är exempel på OverrideCycles (Åsidosätt cykler)-indata. U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

Nedan visas de tillgängliga fälten för [BCLConvert_DATA] (BCL-konverteringsdata) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Sample_ID (Prov-ID)	Ja	Provets ID. Provets ID kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken, bindestreck och understreck. ID:t är skiftlägeskänsligt. Separera varje identifierare med ett bindestreck eller ett understreck. Till exempel Sample1-DQB1-022515.
Index	Nej	Den andra indexsekvensen som är associerad med provet. Endast A, C, T och G är tillåtna. Krävs vid sekvensering av mer än ett prov.
Index2	Nej	Den andra indexsekvensen associerad med provet. Endast A, C, T och G är tillåtna. Se till att de andra adaptersekvenserna för index (i5) är framåtriktade. DRAGEN använder automatiskt omvända komplement för i5-index under sekundäranalysen.
Lane (Spår)	Nej	Flödescellens spår. Spåren representeras av ett heltal.

Provarksinställningar för DRAGEN

Det här avsnittet beskriver provarkskrav för varje DRAGEN-arbetsflöde. Lägg till inställningarna för DRAGEN-arbetsflödet som det sista avsnittet på provarket. Du kan endast använda ett DRAGEN-arbetsflöde.

Varje DRAGEN-arbetsflöde innehåller separata avsnitt för inställningar och data.

Krav på arbetsflödet DRAGEN Germline

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENGermline_Settings] (Inställningar för DRAGEN Germline) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
SoftwareVersion (Programvaruversion)	Ja	Versionen av DRAGEN-programmet som är installerad på systemet. Använd alla tre heltal i versionens namn. Till exempel 3.5.7. Programvaruversionen måste matcha versionen som angavs i avsnittet [BCLConvert_Settings] (BCL-konverteringsinställningar).

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
ReferenceGenomeDir (Referensgenomets namn)	Ja	Referensgenomets namn. Till exempel hg19_alt_aware. Använd namnet på referensgenomet som finns i <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Mer information finns i <i>onlinehjälp</i> en för <i>appen Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
MapAlignOutFormat (Utdatafilens formatering)	Nej	Utdatafilens formatering. Tillåtna värden är bam eller cram. Om inget värde anges är standardvärdet none (inget).
KeepFastq (Spara FASTQ)	Nej	Ange <code>true</code> för att spara FASTQ-filer. Ange <code>false</code> för att radera FASTQ-filer.

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENGermline_Data] (Data för DRAGEN Germline) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Sample_ID (Prov-ID)	Ja	Provets ID. Provets ID kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken. ID:t är skiftlägeskänsligt. Separera varje identifierare med ett bindestreck. Till exempel Sample1-DQB1-022515. Provets ID måste matcha med ID:t som anges i avsnittet BCLConvert_Data (BCL-konverteringsdata).

Krav på arbetsflödet DRAGEN RNA

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENRNA_Settings] (Inställningar för DRAGEN RNA) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
SoftwareVersion (Programvaruversion)	Ja	Versionen av DRAGEN-programmet som är installerad på systemet. Använd alla tre heltal i versionens namn. Till exempel 3.5.7. Programvaruversionen måste matcha versionen som angavs i avsnittet [BCLConvert_Settings] (BCL-konverteringsinställningar).

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
ReferenceGenomeDir (Referensgenomets namn)	Ja	Referensgenomets namn. Till exempel hg38_noalt_with_decoy. Använd namnet på referensgenomet som finns i <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Mer information finns i <i>onlinehjälpen för appen Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
RnaGeneAnnotationFile (Fil med RNA-genanteckningar)	Nej	Filen som innehåller RNA-genanteckningar. Endast alfanumeriska tecken är tillåtna. Standardanteckningsfilen som ingår i det angivna referensgenomet används om ingen annan tillhandahålls.
MapAlignOutFormat (Utdatafilens formatering)	Nej	Utdatafilens formatering. Tillåtna värden är bam eller cram. Om inget värde anges är standardvärdet none (inget).
KeepFastq (Spara FASTQ)	Nej	Ange <code>true</code> för att spara FASTQ-filer. Ange <code>false</code> för att radera FASTQ-filer.
DifferentialExpressionEnable (Aktivera differentiellt uttryck)	Nej	Ange <code>true</code> för att aktivera differentiellt uttryckta gener. Ange <code>false</code> för att inaktivera differentiellt uttryckta gener.

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENRna_Data] och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Sample_ID (Prov-ID)	Ja	Provets ID. Provets ID kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken. ID:t är skiftlägeskänsligt. Separera varje identifierare med ett bindestreck. Till exempel Sample1-DQB1-022515. Provets ID måste matcha med ID:t som anges i avsnittet BCLConvert_Data (BCL-konverteringsdata).
Comparison<N> (Jämförelse <N>)	Nej	Värdet för kontroll eller jämförelse för varje prov. Provet markeras som <code>na</code> (Ej tillämpligt) om det inte finns varken kontroll eller jämförelse för provet. Alla prover som markeras med kontroll jämförs med de som markeras med jämförelse. Värdet <code>N</code> anger provernas jämförelsegrupp.

Krav på arbetsflödet DRAGEN Enrichment

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENenrichment_Settings] (Inställningar för DRAGEN Enrichment) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
SoftwareVersion (Programvaruversion)	Ja	Versionen av DRAGEN-programmet som är installerad på systemet. Använd alla tre heltal i versionens namn. Till exempel 3.5.7. Programvaruversionen måste matcha versionen som angavs i avsnittet [BCLConvert_Settings] (BCL-konverteringsinställningar).
ReferenceGenomeDir (Referensgenomets namn)	Ja	Referensgenomets namn. Till exempel hg38_alt_aware. Referensgenomen finns på <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Mer information finns i <i>onlinehjälpen för appen Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
BedFile (Bed-fil)	Ja	Bed-filen innehåller målregionerna.
GermlineOrSomatic (Köns-cell eller somatiskt)	Ja	Ange <code>germline</code> för att utföra en Enrichment Germline-analys. Ange <code>somatic</code> för att utföra en Enrichment Somatic-analys.
KeepFastq (Spara FASTQ)	Nej	Ange <code>true</code> för att spara FASTQ-filer. Ange <code>false</code> för att radera FASTQ-filer.
MapAlignOutFormat (Utdatafilens formatering)	Nej	Utdatafilens formatering. Tillåtna värden är <code>bam</code> eller <code>cram</code> . Om inget värde anges är standardvärdet <code>none</code> (inget).
AuxNoiseBaselineFile (Basfil för brus)	Nej	Namnet på basfilen för brus. Du kan använda <code>*.txt</code> eller <code>*.gz</code> som filformat. Basfiler för brus är endast tillgängliga vid användning av somatiskt läge. Mer information finns i <i>Importera basfiler för brus på sidan 17</i> .

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENrichment_Data] och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Sample_ID (Prov-ID)	Ja	Provets ID. Provets ID kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken. ID:t är skiftlägeskänsligt. Separera varje identifierare med ett bindestreck. Till exempel Sample1-DQB1-022515. Provets ID måste matcha med ID:t som anges i avsnittet BCLConvert_Data (BCL-konverteringsdata).

Krav på arbetsflödet DRAGEN DNA Amplicon

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENamplicon_Settings] (Inställningar för DRAGEN Amplicon) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
SoftwareVersion (Programvaruversion)	Ja	Versionen av DRAGEN-programmet som är installerad på systemet. Använd alla tre heltal i versionens namn. Till exempel 3.5.7. Programvaruversionen måste matcha versionen som angavs i avsnittet [BCLConvert_Settings] (BCL-konverteringsinställningar).
ReferenceGenomeDir (Referensgenomets namn)	Ja	Referensgenomets namn. Till exempel hg38_alt_aware. Referensgenomen finns på <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Mer information finns i <i>onlinehjälp</i> en för appen <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
DnaBedFile (Bed-fil för DNA)	Ja	Bed-filen innehåller målregionerna. Bed-filen kan anges med filformatet *.txt eller *.gz.
DnaGermlineOrSomatic (Köns-cell eller somatiskt för DNA)	Ja	Ange <code>germline</code> för att utföra en DNA Amplicon Germline-analys. Ange <code>somatic</code> för att utföra en DNA Amplicon Somatic-analys.
KeepFastq (Spara FASTQ)	Nej	Ange <code>true</code> för att spara FASTQ-filer. Ange <code>false</code> för att radera FASTQ-filer.
MapAlignOutFormat (Utdatafilens formatering)	Nej	Utdatafilens formatering. Tillåtna värden är <code>bam</code> eller <code>cram</code> . Om inget värde anges är standardvärdet <code>none</code> (inget).

Nedan visas tillgängliga fält för [DragenAmplicon_Data] (Data för Dragen Amplicon) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Sample_ID (Prov-ID)	Ja	Provets ID. Provets ID kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken. ID:t är skiftlägeskänsligt. Separera varje identifierare med ett bindestreck. Till exempel Sample1-DQB1-022515. Provets ID måste matcha med ID:t som anges i avsnittet BCLConvert_Data (BCL-konverteringsdata).
DnaOrRna (DNA eller RNA)	Ja	Typen av Amplikon-analys som ska utföras. Endast DNA-analys stöds för DRAGEN v3.8. Ange dna.

Krav på arbetsflödet DRAGEN Single Cell RNA

Nedan visas tillgängliga fält för [DRAGENSINGLECELLRNA_Settings] (Inställningar för DRAGEN Single Cell RNA) och beskrivningar av dem. Mer information om kompatibilitet med satser från en tredje part finns på hjälpsidan om produktkompatibilitet för DRAGEN Bio-IT Plattform.

Encellsbibliotekssats 1–5

Följande provarkinställningar gäller biblioteksprepareringssatser med samma genetiska konstruktion som DRAGEN-encellsbibliotekssats 1–5. Använd hjälpsidan om produktkompatibilitet för DRAGEN Bio-IT Plattform för att bekräfta satsens genetiska struktur.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
SoftwareVersion (Programvaruversion)	Ja	Versionen av DRAGEN-programmet som är installerad på systemet. Använd alla tre heltal i versionens namn. Till exempel 3.5.7. Programvaruversionen måste matcha versionen som angavs i avsnittet [BCLConvert_Settings] (BCL-konverteringsinställningar).
ReferenceGenomeDir (Referensgenomets namn)	Ja	Referensgenomets namn. Till exempel hg38_alt_aware. Referensgenomen finns på <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Mer information finns i <i>onlinehjälp</i> en för appen <i>Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
RnaLibraryType (RNA-bibliotekstyp)	Nej	Ange ett av följande värden. <ul style="list-style-type: none"> • <code>SF</code> – Framåtriktad. <code>SF</code> är standardvärdet. • <code>SR</code> – Bakåtriktad. • <code>U</code> – Ingen riktning.
RnaGeneAnnotationFile (Fil med RNA-genanteckningar)	Nej	Filen som innehåller RNA-genanteckningar. Endast alfanumeriska tecken är tillåtna. Standardanteckningsfilen som ingår i det angivna referensgenomet används om ingen annan tillhandahålls.
BarcodeRead (Strekkodsavläsning)	Nej	Platsen inom sekvenseringskörningen för strekkodsavläsningen som innehåller både strekkoden och UMI. Värden kan innehålla <code>Read1</code> (Avläsning 1) eller <code>Read2</code> (Avläsning 2). Standardvärdet är <code>Read1</code> (Avläsning 1).
BarcodePosition (Strekkodens plats)	Ja	Platsen för baserna som motsvarar strekkoden inom det värde som anges för BarcodeRead (Strekkodsavläsning). Baspositioner indexeras från nollpositionen. Ange värdet BarcodePosition (Strekkodens plats) i följande format: <code>0_<barcode end position></code> Värdet är exempelvis <code>0_15</code> om strekkoden innehåller 16 baser.
UmiPosition (UMI-plats)	Ja	Platsen för baserna som motsvarar UMI:n inom det värde som anges för BarcodeRead (Strekkodsavläsning). Ange värdet UmiPosition (UMI-plats) i följande format: <code><UMI start position>_<UMI end position></code> Värdet är exempelvis <code>16_25</code> om UMI:n innehåller tio baser och strekkoden innehåller 16.
BarcodeSequenceWhitelist (Strekkodssekvenser som ska inkluderas)	Nej	Namnet på filen som innehåller strekkodssekvenserna som ska inkluderas. Filnamnet får endast innehålla alfanumeriska tecken, understreck, bindestreck och punkter.
KeepFastq (Spara FASTQ)	Nej	Ange <code>true</code> för att spara FASTQ-filer. Ange <code>false</code> för att radera FASTQ-filer.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
MapAlignOutFormat (Utdatafilens formatering)	Nej	Utdatafilens formatering. Tillåtna värden är bam eller cram. Om inget värde anges är standardvärdet none (inget).

Nedan visas tillgängliga fält för [DragenSingleCellRNA_Data] (Data för DRAGEN Single Cell RNA) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Sample_ID (Prov-ID)	Ja	Provets ID. Provets ID kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken. ID:t är skiftlägeskänsligt. Separera varje identifierare med ett bindestreck. Till exempel Sample1-DQB1-022515. Provets ID måste matcha med ID:t som anges i avsnittet BCLConvert_Data (BCL-konverteringsdata).

Encellsbiblioteksats 6

Följande provarksinställningar gäller för biblioteksatsar med samma genetiska struktur som DRAGEN Encellsbiblioteksats 6. Använd hjälpsidan om produktkompatibilitet för DRAGEN Bio-IT Platform för att bekräfta satsens genetiska struktur.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
SoftwareVersion (Programvaruversion)	Ja	Versionen av DRAGEN-programmet som är installerad på systemet. Använd alla tre heltal i versionens namn. Till exempel 3.5.7. Programvaruversionen måste matcha versionen som angavs i avsnittet [BCLConvert_Settings] (BCL-konverteringsinställningar).
ReferenceGenomeDir (Referensgenomets namn)	Ja	Referensgenomets namn. Till exempel hg38_alt_aware. Referensgenomen finns på <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Mer information finns i <i>onlinehjälpen för appen Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
RnaLibraryType (RNA-bibliotekstyp)	Nej	Ange ett av följande värden. <ul style="list-style-type: none"> • SF – Framåtriktad. • SR – Bakåtriktad. • U – Ingen riktning.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
RnaGeneAnnotationFile (Fil med RNA-genanteckningar)	Nej	<p>Filen som innehåller RNA-genanteckningar. Endast alfanumeriska tecken är tillåtna. Standardanteckningsfilen som ingår i det angivna referensgenomet används om ingen annan tillhandahålls.</p>
BarcodeRead (Strekkodsavläsning)	Nej	<p>Platsen inom sekvenseringskörningen för strekkodsavläsningen som innehåller både strekkoden och UMI. Värdet kan innehålla <code>Read1</code> (Avläsning 1) eller <code>Read2</code> (Avläsning 2). Standardvärdet är <code>Read1</code> (Avläsning 1).</p>
BarcodePosition (Strekkodens plats)	Ja	<p>Platsen för baserna som motsvarar strekkoderna inom det värde som anges för BarcodeRead (Strekkodsavläsning). Baspositioner indexerar från nollpositionen. Ange värdet BarcodePosition (Strekkodens plats) i följande format:</p> <pre>0_<first barcode end position>+<second barcode start position>_<second barcode end position>+<third barcode start position>_<third barcode end position></pre> <p>Till exempel skulle följande struktur resultera i värdet <code>0_8+21_29+43_51</code>:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nio baser i den första strekkoden (<code>0_8</code>). • Tolv baser mellan den första och andra strekkoden. • Nio baser i den andra strekkoden (<code>21_29</code>). • Tretton baser mellan den andra och tredje strekkoden. • Nio baser i den tredje strekkoden (<code>43_51</code>).
UmiPosition (UMI-plats)	Ja	<p>Platsen för baserna som motsvarar UMI:n inom det värde som anges för BarcodeRead (Strekkodsavläsning). Ange strängen i följande format:</p> <pre><UMI start position>_<UMI end position></pre> <p>Värdet blir exempelvis <code>52_59</code> om UMI:n innehåller åtta baser och antalet baser innan den är totalt 51.</p>

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
BarcodeSequenceWhitelist (Strekkodssekvenser som ska inkluderas)	Nej	Namnet på filen som innehåller strekkodssekvensen som ska vitlistas. Filnamnet får endast innehålla alfanumeriska tecken, understreck, bindestreck och punkter.
KeepFastq (Spara FASTQ)	Nej	Ange <code>true</code> för att spara FASTQ-filer. Ange <code>false</code> för att radera FASTQ-filer.
MapAlignOutFormat (Utdatafilens formatering)	Nej	Utdatafilens formatering. Tillåtna värden är <code>bam</code> eller <code>cram</code> . Om inget värde anges är standardvärdet <code>none</code> (inget).

Nedan visas tillgängliga fält för [DragenSingleCellRNA_Data] (Data för DRAGEN Single Cell RNA) och beskrivningar av dem.

Fält	Obligatoriskt	Beskrivning
Sample_ID (Prov-ID)	Ja	Provets ID. Provets ID kan innehålla upp till 20 alfanumeriska tecken. ID:t är skiftlägeskänsligt. Separera varje identifierare med ett bindestreck. Till exempel Sample1-DQB1-022515. Provets ID måste matcha med ID:t som anges i avsnittet BCLConvert_Data (BCL-konverteringsdata).

Sekvensering utan avbildning

Den här delen beskriver hur sekvensering utan avbildning går till.

Sekvensering utan avbildning används för att endast slutföra de kemiska stegen i en sekvenseringscykel. Information om huruvida sekvensering utan avbildning behövs finns på sidan [Compatible Products \(Kompatibla produkter\)](#) för biblioteksprepareringssatsen på [Illumina Support Center](#).

Följ följande steg för sekvensering utan avbildning.

Redigera receptfilen

- Ladda ner XML-receptfilen från [Illumina Support Center](#).
- Redigera XML-receptfilen.
 - Identifiera ett lämpligt protokollavsnitt baserat på konfigurationen för avläsning och indexsekvensering. Det finns sex olika möjliga protokoll per anpassat recept som kan redigeras.

Till exempel skulle namnet på protokollet för en enkel Read 1 (Avläsning 1) utan indexsekvenseringskonfiguration vara `<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >`.

- b. Ange följande steg för sekvensering utan avbildning på en ny rad före `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` och `<ReadRef ReadName="Read 2"/>`.
`<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />`.
- c. Ange steget för sekvensering utan avbildning på en ny rad för varje sekvensering utan avbildning som ska utföras.

3. Spara XML-receptfilen.

Följande är ett exempel på ett recept för sekvensering utan avbildning:

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

Bifoga receptet till körningen.

- 1 Välj **Choose** (Välj) under Custom Recipe (Anpassat recept) i Run Setup (Konfiguration av körning) i kontrollprogrammet.
- 2 Gå till den uppdaterade XML-receptfilen.
- 3 Välj **Open** (Öppna).
4. Gå tillbaka till [Starta en sekvenseringskörning på sidan 45](#).

Index

%

%PF 57

A

alkoholservett 27
amplifikation 8
analys 8
analysmetoder 5
anpassa specifikationer 81
antal cykler 30
antal körningar 5
automatiska uppdateringar 73
avbildning 53-54
avbruten anslutning 81
avläsningscykler 30
avläsningslängder 30

B

basbestämning 5
basbestämningsfiler 8, 53, 59
BaseSpace-sekvenseringshubb 1
BaseSpace-
 sekvenseringshubbdokumentation 13
BaseSpace-
 sekvenseringshubbinställningar 13
BCL-filer 6
bcl2fastq2 53
bildanalys 5
bilder 53
bildskärm 2
blekmedelsservetter 27

C

CBCL-filer 57
CE 53
Compute Engine 53

D

datakvalitet 57
datornamn 5
denaturerade bibliotek 8
denaturering 8
diskutrymme 6, 73
dokumentation 58
domäner 13
droppbricka dynor 27
dynor 27

E

egen domän 13
eluttag 4
enhet D 73
enkel avläsning 48
Ethernet-kabel 4
Ethernet-port 4
exempel på körningskonfigurationer 30
extracykler 30

F

fabriksinställningar 83-84
fack för förbrukningsmaterial 2
fasning och förfasning 55
FASTQ-konvertering 53
fel 6, 81
 sannolikhet 57-58
felloggar 54
felmeddelanden 79
filterfiler 53, 59
filtrera kluster 57
flytta 4
fläktar 77
frysspecifikationer 27
företagsprenumeration 13
första installation 77, 83-84

G

garanti 27
grön kanal 56

H

hjälpidor 73
hårddisk 6, 73

I

Illumina Proactive Support 13
indexcykler 30
initiering 82
initieringsfel 81
installation av program 73
installationsprogram för programsvit 73
installera program 73
instrumentets prestandadata 13
instrumentnamn 20
intensitetsvärde 55
internetanslutning 13
InterOp-fil 59
InterOp-filer 53
IP-adress 5

K

kall omstart 79
kameror 54
kassetts riktning 49
katalognummer 26
klusterintensiteter 55
klusterplacering 53
klusterplaceringar 59
kvalitetstabell 58
kylspecifikationer 27
körningsmapp 73
körningsmått 53
körningsstatus 6
körningsstorlek 73

L

ljudinställningar 20
Local Run Manager 5
loggfiler 54
lokal analys 1
luftfilter
 reservdelar 27
luftfiltrens placering 77

M

mallgenerering 55
manuella programuppdateringar 73
mappade enheter 48
metoder 8
miniatyrer 59
molnbaserad analys 1
mus 4

N

namn 5
namnge 20
namnge instrument 20
nanobrunnar 55
nedgraderingsprogram
 nedgradera program 83-84
NextSeq 1000/2000-reagenser 26
nucleotides 56

O

omstart 83-84
operativsystem 82

P

paired-end 48
passerfilter (PF) 57
PhiX 27
 inpassning 53
PhiX Control v3 26

Phred-algoritm 58
plattnumrering 55
plattor 53
prestandadata 13
processhantering 73
program 21
programsvit 1, 5

Q

Q-resultat 57-58

R

recept 73
receptfragment 5
redigera körningsparametrar 48
registreringsfel 55
renhetsfilter 57
reservdelar 77
resuspensionsbuffert 26
RunInfo.xml 59
röd kanal 56

S

saknade bestämmingar 55-56
satser 26
 katalognummer 27
Sequencing Analysis Viewer 53, 55
serienummer, namnge dator 5
serverplats 13
skanna förbrukningsmaterial 49
smeknamn 20
spår 54
spåra förbrukningsmaterial 1
spårning av förbrukningsmaterial 1
standardmapp för utdata 48
statusfält 2
strängar 54-55
strömbrytare 2, 4, 81
strömkabel 4
stänga av 81

stänga luckor 49
substitut för RSB 26
symboler 6
systemkontroller 79

T

ta bort körningar 6, 73
tangentbord 4
teknisk hjälp, hjälp, teknisk, kundtjänst,
 dokumentation 103
testsats 27
tvåkanalssekvensering 56

U

UNC-sökvägar 48
universell kopieringstjänst 5, 73
uppdateringsaviseringar 21
upplyst fält 2
USB-portar 4
utdatamapp 48, 73
utgångsdatum 77
utspädning av bibliotek 8

V

varningar 6, 73, 81
värdplats 13

W

Windows-inloggning 82

Y

ytnumrering 55

Teknisk hjälp

Kontakta Illuminas tekniska support för all form av teknisk hjälp.

Webbplats: www.illumina.com
E-post: techsupport@illumina.com

Telefonnummer till Illuminas tekniska support

Region	Avgiftsfritt	Internationellt
Australien	+61 1800 775 688	
Belgien	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Danmark	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Filippinerna	+63 180016510798	
Finland	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Frankrike	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Hongkong, Kina	+852 800 960 230	
Indien	+91 8006500375	
Indonesien		0078036510048
Irland	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Italien	+39 800 985513	+39 236003759
Japan	+81 0800 111 5011	
Kanada	+1 800 809 4566	
Kina		+86 400 066 5835
Malaysia	+60 1800 80 6789	
Nederländerna	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Norge	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Nya Zeeland	+64 800 451 650	
Schweiz	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Singapore	1 800 5792 745	
Spanien	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Storbritannien	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197

Region	Avgiftsfritt	Internationellt
Sverige	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Sydkorea	+82 80 234 5300	
Taiwan, Kina	+886 8 06651752	
Thailand	+66 1800 011 304	
Tyskland	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
USA	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Vietnam	+84 1206 5263	
Österrike	+43 800 006249	+43 1 9286540

Säkerhetsdatablad (SDS) – Finns på Illuminas webbplats på support.illumina.com/sds.html.

Produktdokumentation – Kan hämtas på support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 USA

+1 800-8094566

+1 858-2024566 (utanför Nordamerika)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Endast för forskningsbruk. Inte för användning i diagnostiska procedurer.

© 2021 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

illumina[®]