

NextSeq 1000 ve 2000

Sekanslama Sistemi Kılavuzu

ILLUMINA ŞİRKETİNE ÖZEL

Belge No 1000000109376 v04 TUR

Nisan 2021

Sadece Araştırma Kullanımı İçindir. Tanı prosedürlerinde kullanım için değildir.

Bu belge ve içindekiler Illumina, Inc. ve bağılı şirketlerinin ("Illumina") mülkiyetinde olup yalnızca işbu belgede açıklanan ürün/ürünlerin kullanımıyla bağlantılı olarak müşterisinin sözleşmeye ilişkin kullanımı içindir. Bu belge ve içindekiler Illumina'nın önceden yazılı izni olmaksızın başka hiçbir amaçla kullanılamaz veya dağıtılamaz ve/veya hiçbir şekilde iletilemez, ifşa edilemez ya da kopyalanamaz. Illumina bu belge ile patenti, ticari markası, telif hakkı veya genel hukuk hakları ya da üçüncü tarafların benzer hakları kapsamında hiçbir lisansı devretmez.

Bu belgede açıklanan ürün/ürünlerin uygun ve güvenli bir şekilde kullanılması için nitelikli ve uygun eğitim almış çalışanlar bu belgedeki talimatları tam olarak ve açık bir şekilde uygulamalıdır. Söz konusu ürün/ürünler kullanılmadan önce bu belgedeki tüm bilgiler tam olarak okunmalı ve anlaşılmalıdır.

BU BELGEDE YER ALAN TÜM TALİMATLARIN TAMAMEN OKUNMAMASI VE AÇIK BİR ŞEKİLDE UYGULANMAMASI, ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN HASAR GÖRMESİNE, KULLANICI VEYA BAŞKALARI DAHİL OLMAK ÜZERE KİŞİLERİN YARALANMASINA VE DİĞER MALLARIN ZARAR GÖRMESİNE NEDEN OLABİLİR VE ÜRÜN/ÜRÜNLER İÇİN GEÇERLİ OLAN HER TÜRLÜ GARANTİYİ GEÇERSİZ KILACAKTIR.

ILLUMINA BU BELGEDE AÇIKLANAN ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN (ÜRÜNÜN PARÇALARI VE YAZILIMI DAHİL) YANLIŞ KULLANIMINDAN DOĞAN DURUMLARDAN SORUMLU TUTULAMAZ.

© 2021 Illumina, Inc. Tüm hakları saklıdır.

Tüm ticari markalar Illumina, Inc. veya ilgili sahiplerinin malıdır. Özel ticari marka bilgileri için bkz. www.illumina.com/company/legal.html.

Revizyon Geçmişi

Belge No	Tarih	Değişiklik Açıklaması
1000000109376 v04	Nisan 2021	Baseline dosyalarını içe aktarma talimatları eklendi. DRAGEN DNA Amplikon iş akışı eklendi. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3 özellikleri eklendi. Proxy sunucusu seçme bilgileri eklendi. Tween 20 içeren RSB sevkiyat ve depolama sıcaklığı güncellendi. DRAGEN RNA iş akışı diferansiyel gen ifadesini içerecek şekilde güncellendi. Sekanslama ıktı klasörü yapısı güncellendi. Numune sayfası v2 biçimlendirme nerileri güncellendi.
1000000109376 v03	Kasım 2020	Katalog numaraları düzeltildi. Yeni kullanıcı ekleme hakkında bilgi eklendi.

Belge No	Tarih	Değişiklik Açıklaması
1000000109376 v02	Ekim 2020	<p>NextSeq 1000/2000 P3 Reaktif kiti eklendi.</p> <p>DRAGEN Tek Hücreli RNA iş akışı eklendi.</p> <p>DRAGEN Zenginleştirme iş akışı eklendi.</p> <p>FASTQ sıkıştırma seçenekleri eklendi.</p> <p>DRAGEN ardışık düzen ve lisans güncellemelerini yükleme talimatları eklendi.</p> <p>Özel referans genomları içe aktarma talimatları eklendi.</p> <p>Kitaplık türleri için yükleme hacmi ve konsantrasyonlar güncellendi.</p> <p>Kitaplık seyreltme talimatları güncellendi.</p> <p>Reaktif kartuşunu otomatik olarak tahliye etme talimatları eklendi.</p> <p>Desteklenen döngü sayısı hakkındaki bilgiler güncellendi.</p> <p>Cihaz özelleştirme seçenekleri güncellendi.</p> <p>Cihaz Çalıştırma Kurulumu talimatları güncellendi.</p> <p>DRAGEN sekanslama çıktısı yapısı güncellendi.</p> <p>DRAGEN KK raporları hakkında bilgi eklendi.</p> <p>Sabit diskten özel referans genomların kaldırılması hakkında bilgi eklendi.</p> <p>Sistem denetimlerini gerçekleştirme hakkında bilgi eklendi.</p> <p>Numune sayfası v2 ayarları güncellendi.</p>

Belge No	Tarih	Değişiklik Açıklaması
1000000109376 v01	Haziran 2020	<p>NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımına ilişkin yazılım açıklamaları güncellendi.</p> <p>Kılavuz boyunca Bulut, Hibrit, Yerel ve Bağımsız mod arasındaki ayırım netleştirildi.</p> <p>Kartuşu depolama ve kartuşun buzunu çözme talimatları güncellendi.</p> <p>Desteklenen döngü sayısı hakkındaki bilgiler güncellendi.</p> <p>İkincil analizi ayarlama talimatları güncellendi.</p> <p>Reaktif kiti katalog numaraları güncellendi.</p> <p>Sekanslama protokolü şeması güncellendi.</p> <p>Bir ağ sürücüsünü varsayılan çıktı klasörü olarak belirtme talimatları güncellendi.</p> <p>Desteklenen kitaplık türleri tablosu güncellendi.</p> <p>Özel referans genomu içe aktarma talimatları eklendi.</p> <p>Özel dizin kiti ve özel kitaplık hazırlama kiti kullanarak çalıştırma ayarlama talimatları eklendi.</p> <p>Kullanıcı hesabı ve parola gereklilikleri güncellendi.</p> <p>DRAGEN çıktı klasörü yapısı hakkında ayrıntılar eklendi.</p> <p>Kullanılmış reaktiflerin kartuştan tahliye edilmesine ilişkin talimatlar netleştirildi.</p> <p>Q tablosuna ilişkin arka plan bilgileri eklendi.</p> <p>Denetim yazılımı güncellemelerini yükleme talimatları güncellendi.</p> <p>Bir çalıştırmayı yeniden kuyruğa alma talimatları eklendi.</p> <p>DRAGEN ardışık düzenlerini ve lisansını güncelleme talimatları eklendi.</p> <p>Cihaz özelleştirme talimatları eklendi.</p> <p>Yeni etiketi yansıtabilecek şekilde görseller güncellendi.</p> <p>Kılavuz boyunca "kapak" ifadesi "vizör" olarak değiştirildi.</p> <p>İki Ethernet portunun açıklaması eklendi.</p>
1000000109376 v00	Mart 2020	İlk sürüm.

İçindekiler

Sisteme Genel Bakış	1
Ek Kaynaklar	1
Cihaz Donanımı	2
Entegre Yazılım	5
İşlem Yönetimi	6
Sekanslama Protokolü Şeması	7
Sekanslama Nasıl Çalışır?	7
Sistem Yapılandırması	10
Kullanıcı Hesabı Gereklilikleri	10
BaseSpace Sekans Merkezi ve Proaktif Desteği Yapılandırma	12
Varsayılan Çıktı Klasörünün Konumunu Belirtme	14
Özel Referans Genomları İçer Aktarma	17
Gürültü Baseline Dosyalarını İçer Aktarma	17
Çalıştırma Modunu Yapılandırma	19
Cihazı Özelleştirme	20
Sarf Malzemeleri ve Ekipman	22
Sekanslama Sarf Malzemeleri	22
Yardımcı Sarf Malzemeleri	25
Yardımcı Ekipmanlar	27
Protokol	28
Sekanslama Hususları	28
BaseSpace Sekans Merkezinde Sekanslama Çalıştırması Planlama	29
Torbalı Kartuşun ve Akış Hücresinin Buzunu Çözdürme	38
Kitaplıkları Seyreltme	40
Sarf Malzemelerini Kartuşa Yükleme	42
Sekanslama Çalıştırması Başlatma	44
Sekanslama Çıktısı	52
Gerçek Zamanlı Analize Genel Bakış	52
Gerçek Zamanlı Analiz İş Akışı	54
Sekanslama Çıktısı Dosyaları	58
DRAGEN İkincil Analiz Çıktı Dosyaları	59
DRAGEN İkincil Analiz Çıktı Klasörü Yapısı	68
Bakım	71
Sabit Disk Alanını Temizleme	71
Yazılım Güncellemeleri	71
DRAGEN İş Akışı ve Lisans Güncellemeleri	73

Hava Filtresini Değiştirme	75
Sorun Giderme	77
Hata Mesajının Çözümü	77
Sarf Malzemelerini Depoya Geri Döndürme	78
Çalıştırmayı İptal Etme	78
Çalıştırmayı Yeniden Kuyruğa Alma	79
Cihaza Güç Döngüsü Uygulama	79
Sistem Denetimi Gerçekleştirme	80
Fabrika Ayarlarını Geri Yükleme	81
Yüklenen İmaji Alma	81
Alınan İmaji Geri Yükleme	81
Kaynaklar ve Referanslar	83
Numune Sayfası v2 Ayarları	83
Karanlık Döngüsü Sekanslaması	96
Dizin	98
Teknik Yardım	102

Sisteme Genel Bakış

Illumina® NextSeq™ 1000 Sekanslama Sistemi ve Illumina® NextSeq™ 2000 Sekanslama Sistemi NGS¹ konusunda hedeflenen bir yaklaşım sunar. Bu uygulama odaklı sistem, Illumina sekanslama teknolojisini, aşağıdaki özelliklere sahip uygun maliyetli bir masaüstü cihazda sunar:

- **Erişilebilirlik ve güvenilirlik**—NextSeq 1000/2000 yerel DRAGEN analiz ve cihaz üzerinde denşirme ve seyreltme özelliğine sahiptir. Bir görüntüleme modülü sisteme, fluidik bileşenleri ise sarf malzemesine yerleşik olarak sunulur ve bu, cihaz bakımını kolaylaştırır.
- **Tek adımda sarf malzemesi yükleme**—Tek kullanımlık bir kartuş, çalıştırma için gereken tüm reaktifler ile önceden doldurulur. Kitaplık ve akış hücresi doğrudan kartuşa yüklenir, kartuş ise daha sonra cihaza yüklenir. Entegre tanıtıcı doğru şekilde takip edilebilmesini sağlar.
- **NextSeq 1000/2000 yazılımı**—Entegre bir yazılım ürün seti cihaz operasyonlarını kontrol eder, görüntüleri işler ve baz aramaları oluşturur.
 - **Bulut modu**—Çalıştırmanızı BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumu ile planlayın. Seçilen analiz iş akışı, otomatik olarak bulutta başlatılır. Çalıştırma verileri ve analiz sonuçları da bulut üzerinde sunulur.
 - **Hibrit modu**—Çalıştırmanızı BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumu ile planlayın. Seçilen analiz iş akışı daha sonra cihaz üzerinde DRAGEN üzerinden başlatılır.
 - **Yerel mod**—Çalıştırmanızı yerel olarak bir numune sayfası v2 dosya biçimi ile planlayın. Seçilen analiz iş akışı otomatik olarak cihaz üzerinde DRAGEN üzerinden başlatılır.
 - **Bağımsız mod**—Çalıştırmanızı bir numune sayfası olmadan planlayın.

Bu bölümde donanım, yazılım ve veri analizi hakkında bilgiler dahil olmak üzere sisteme ilişkin bir genel bakış sağlanmaktadır. Belge boyunca yerleştirilmiş olarak sunulan temel kavramlar ve terminoloji de bu bölümde bir araya getirilmiştir. Ayrıntılı spesifikasyonlar, veri sayfaları, uygulamalar ve ilgili ürünler için Illumina web sitesindeki [NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri ürün sayfası](#) bölümüne bakın.

Ek Kaynaklar

Illumina web sitesindeki [NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri destek sayfalarında](#) ek sistem kaynakları sağlanmaktadır. Bu kaynaklar arasında yazılım, eğitim, uyumlu ürünler ve aşağıdaki belgeler yer almaktadır. En son sürümler için daima destek sayfalarını kontrol edin.

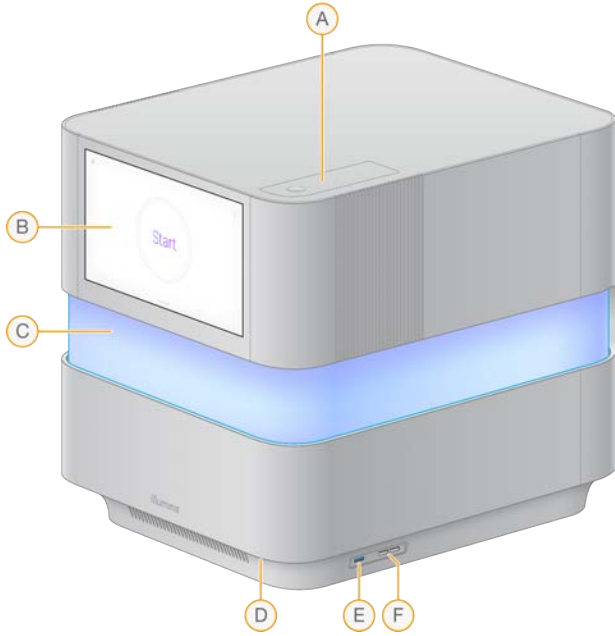
¹yeni nesil sekanslama

Kaynak	Açıklama
Özel Protokol Seçici	Ayrıntı düzeyini geliştirme seçenekleri ile birlikte kitaplık hazırlama yönteminiz, çalıştırma parametreleriniz ve analiz yönteminiz için özelleştirilen uçtan uca talimatlar oluşturmaya yönelik bir araçtır.
<i>NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri Güvenlik ve Uygunluk Kılavuzu (belge no 1000000111928)</i>	Operasyonel güvenlik hususları, uygunluk beyanları ve cihaz etiketleri hakkında bilgi sağlar.
<i>RFID Okuyucu Modülü Uygunluk Kılavuzu (belge no 1000000002699)</i>	Cihazın içerisinde yer alan RFID okuyucu, uygunluk sertifikaları ve güvenlik hususları hakkında bilgi sağlar.
<i>NextSeq 1000 ve 2000 Kitaplıkları Denşirme ve Seyreltme Kılavuzu (belge no 1000000139235)</i>	Sekanslama çalıştırması için hazırlanan kitaplıkları manuel olarak denşirme ve seyreltme konusunda ve isteğe bağlı bir PhiX denetimi hazırlama konusunda talimatlar sunar.
<i>NextSeq 1000 ve 2000 Özel Primer Kılavuzu (belge no 1000000139569)</i>	Illumina sekanslama primerlerinin özel sekanslama primerleri ile değiştirilmesi hakkında bilgi sağlar.
<i>NextSeq 2000 Sekanslama Sistemi Tesis Hazırlama Kılavuzu (belge no 1000000109378)</i>	Laboratuvar alanı, elektrik gereklilikleri ve çevre ile ağ hususları için spesifikasyonları sağlar.
<i>BaseSpace yardımı (help.basespace.illumina.com)</i>	BaseSpace™ Sekans Merkezi ve mevcut analiz seçeneklerini kullanma konusunda bilgi sağlar.
<i>Dizin Adaptörleri Havuzlama Kılavuzu (belge no 1000000041074)</i>	Havuzlama yönergeleri ve çift dizinleme stratejileri sunar.
<i>Illumina Adaptör Sekansları (belge no 1000000002694)</i>	Illumina kitaplık hazırlama kiti için adaptör sekanslarının listelerini sağlar.

Cihaz Donanımı

NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri bir güç düğmesi, monitör, durum çubuğu, sarf malzemeleri bölmesi ve USB portlarından oluşur.

Şekil 1 Harici Sistem Bileşenleri



- A. **Hava filtresi bölmesi**—Değiştirilebilir hava filtresine erişim sağlar.
- B. **Dokunmatik monitör**—Denetim yazılımı arayüzünü kullanarak cihaz üzerinde yapılandırma ve kurulum yapılabilmesini sağlar.
- C. **Durum çubuğu**—Sistem iş akışında ilerledikçe renkli ışık ilerler. Mavi ve mor renkli ışık, etkileşimi (ör. çalıştırma öncesi denetimler) ve çok renkli ışık önemli anları ve verileri (ör. sekanslamamanın tamamlanması) belirtir. Kritik hatalar kırmızı ışıkla belirtilir.
- D. **Güç düğmesi**—Cihazın gücünü kontrol eder ve sistemin açık (yanar), kapalı (sönük) veya AC gücünde ancak kapalı (yanıp söner) olduğunu belirtir.
- E. **3.0 USB Portu**—Veri aktarımı için harici taşınabilir sürücü takılması içindir.
- F. **2.0 USB Portları**—Fare ve klavye takılması içindir.

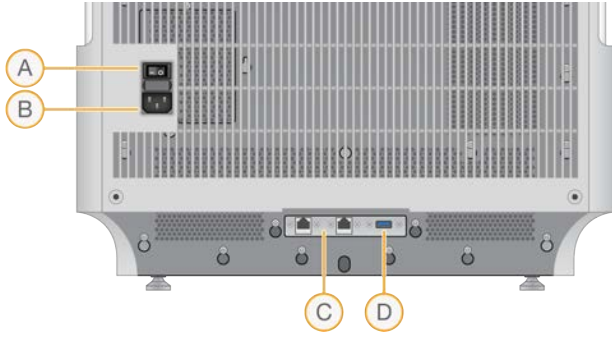
Güç ve Yardımcı Bağlantılar

Güç düğmesine, USB portuna ve cihazın arkasındaki diğer yardımcı bağlantılara erişmek için cihazı nazikçe hareket ettirebilirsiniz.

Cihazın arkasında, cihaza giden gücü kontrol eden bir anahtar ve bir giriş ile isteğe bağlı Ethernet bağlantısı için iki adet Ethernet portu bulunur. Bir 3.0 USB portu, veri aktarımı için harici taşınabilir sürücü takma seçeneği sunar (exFAT bu Linux tabanlı platformda desteklenmemektedir).

NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri, sistem özelliklerini ve esnekliğini genişletmek için iki adet Ethernet portu ile birlikte gönderilir. Örneğin, bir Ethernet portu dahili ağ sürücüsü ile iletişime ayrılabilirken diğer port, BaseSpace Sekans Merkezi veya Proaktif Destek gibi harici iletişime ayrılabilir.

Şekil 2 Arka Panel Bileşenleri

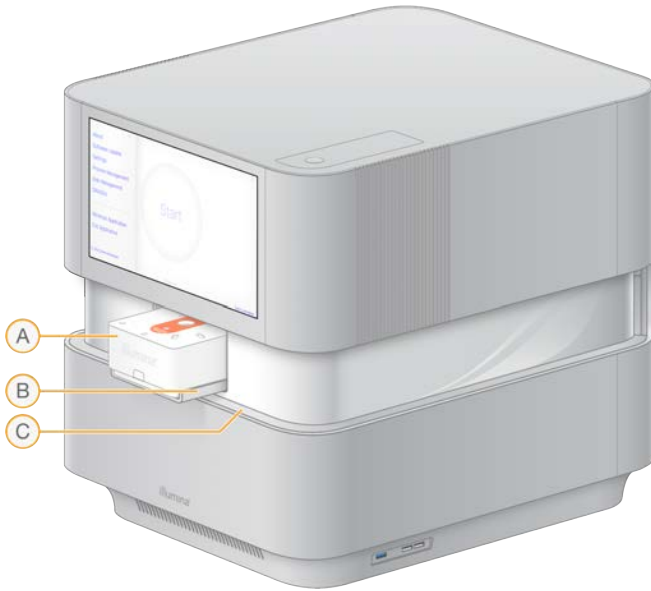


- A. **Devirmeli Anahtar**—Cihazın gücünü kapatır ve açar.
- B. **Güç girişi**—Güç kablosu bağlantısıdır.
- C. **Ethernet portları (2)**—İsteğe bağlı Ethernet kablosu bağlantısıdır.
- D. **3.0 USB portu**—Veri aktarımı için harici sabit sürücü takılması içindir.

Sarf Malzemeleri Bölmesi

Sarf malzemeleri bölümü, sekanslama çalıştırması için kartuşu (akış hücresi ve seyreltilmiş kitaplık dahil) içerir.

Şekil 3 Yüklenen Sarf Malzemeleri Bölmesi



- A. **Kartuş**—Akış hücresini, kitaplığı ve reaktifleri içerir ve çalıştırma sırasında kullanılan reaktifleri toplar.
- B. **Tava**—Sekanslama sırasında kartuşu tutar.
- C. **Vizör**—Sarf malzemeleri bölümüne erişim sağlamak üzere açılır.

Entegre Yazılım

Sistem yazılımı ürün seti, sekanslama çalıştırmalarını ve analizi gerçekleştiren entegre uygulamaları içerir.

- **NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı**—Cihaz işlemlerini kontrol eder ve sistemi yapılandırmaya, sekanslama çalıştırmasını ayarlamaya ve sekanslama ilerledikçe çalıştırma istatistiklerini izlemeye yönelik bir arayüz sunar.
- **Gerçek Zamanlı Analiz (RTA3)**—Çalıştırma sırasında görüntü analizi ve baz arama gerçekleştirir. Daha fazla bilgi için, bkz. [Sekanslama Çıktısı, sayfa 52](#).
- **Evrensel Kopya Hizmeti**—Sekanslama çıktı dosyalarını çalıştırma klasöründen BaseSpace Sekans Merkezine (uygulanabilirse) ve daha sonra erişebileceğiniz çıktı klasörüne kopyalar.

Denetim yazılımı etkileşimli olup otomatik arka plan işlemlerini çalıştırır. Gerçek Zamanlı Analiz ve Evrensel Kopya Hizmeti yalnızca arka plan işlemlerini çalıştırır.

Sistem Bilgileri

About (Hakkında) bölümünü açmak için sol üst köşedeki denetim yazılımı menüsünü seçin. About (Hakkında) bölümü Illumina iletişim bilgilerini ve aşağıdaki sistem bilgilerini içerir:

- Cihaz Seri Numarası
- Bilgisayar Adı
- Sistem Ürün Seti Versiyonu
- İmaj İS Versiyonu
- Toplam Çalıştırma Sayımı

Bildirimler ve Uyarılar

Bildirim simgesi, sağ üst köşede yer alır. Bir uyarı veya hata meydana geldiğinde sağ panel, bildirimleri göstermek üzere dışarı kaydırılır. Uyarılar ve hatalar için Geçerli veya Geçmiş bildirimlerin listesini görüntülemek üzere herhangi bir anda simgeyi seçin.

- Uyarılara dikkat etmeniz gerekir ancak uyarılar, çalıştırmaları durdurmanızı gerektirmez veya yalnızca bilgi verme amaçlıdır.
- Hatalar, çalıştırmaya başlamadan veya devam etmeden önce eylem gerçekleştirmenizi gerektirir.

Denetim Yazılımını Simge Durumuna Küçültme

Diğer uygulamalara erişmek için denetim yazılımını simge boyutuna küçültün. Örneğin, Dosya Gezgininde çıktı klasörüne göz atmak veya bir numune dosyası bulmak için.

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Minimize Application** (Uygulamayı Simge Durumuna Küçült) seçeneğini belirleyin.

Denetim yazılımı simge durumuna küçültülür.

- Denetim yazılımını tam ekran yapmak için araç çubuğunda **NextSeq 1000/2000 Control Software** (NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı) seçeneğini belirleyin.

İşlem Yönetimi

Process Management (İşlem Yönetimi) ekranında, `/usr/local/illumina/runs` konumunda depolanan geçici çalıştırmalar görüntülenir. Her bir çalıştırma çalıştırma tarihine, adına ve numarasına göre tanımlanır. Her bir çalıştırma için İkincil Analiz, Çıktı Klasörü, Bulut ve Çalıştırma durumu gibi bilgiler de görüntülenir. İş Akışı, Ortalama Q30 %'si, Filtreden Geçen Toplam Okuma ve Toplam Verim dahil olmak üzere ek bilgileri görüntülemek için çalıştırma seçin. Çalıştırmaları silmek ve alanı temizlemek için bkz. [Sabit Disk Alanını Temizleme, sayfa 71](#). Cihaz üzerinde analizi yeniden kuyruğa almak için bkz. [Çalıştırmayı Yeniden Kuyruğa Alma, sayfa 79](#).

Çalıştırma Durumu

Bu bölümde, sekanslama çalıştırmasının durumu görüntülenir:

- In Progress** (Devam Ediyor)—Sekanslama çalıştırması devam ediyor.
- Complete** (Tamamlandı)—Sekanslama çalıştırması tamamlandı.
- Stopped** (Durdu)—Sekanslama çalıştırması durdu.
- Errored** (Hatalı)—Sekanslama çalıştırmasında bir hata var.

İkincil Analiz Durumu

Bu bölümde, cihaz üzerinde DRAGEN ikincil analizinin durumu görüntülenir. Analiz BaseSpace Sekans Merkezinde gerçekleştiriliyorsa bu bölümde N/A (Yok) ifadesi görüntülenir.

- Not Started** (Başlamadı)—DRAGEN analizi henüz başlamadı.
- In Progress** (Devam Ediyor)—DRAGEN analizi devam ediyor.
- Stopped** (Durdu)—DRAGEN analizi durdu.
- Errored** (Hatalı)—DRAGEN analizinde bir hata var.
- Complete** (Tamamlandı)—DRAGEN analizi tamamlandı.

Çıktı Klasörünün Durumu

Bu bölümde, çıktı klasörüne kopyalanan dosyaların durumu görüntülenir:

- In Progress** (Devam Ediyor)—Dosyalar çıktı klasörüne kopyalanıyor.
- Complete** (Tamamlandı)—Dosyalar başarıyla çıktı klasörüne kopyalandı.

Bulut Durumu (BaseSpace Sekans Merkezi)

Bu bölümde, bulut aracılığıyla BaseSpace Sekans Merkezine yüklenen dosyaların durumu görüntülenir:

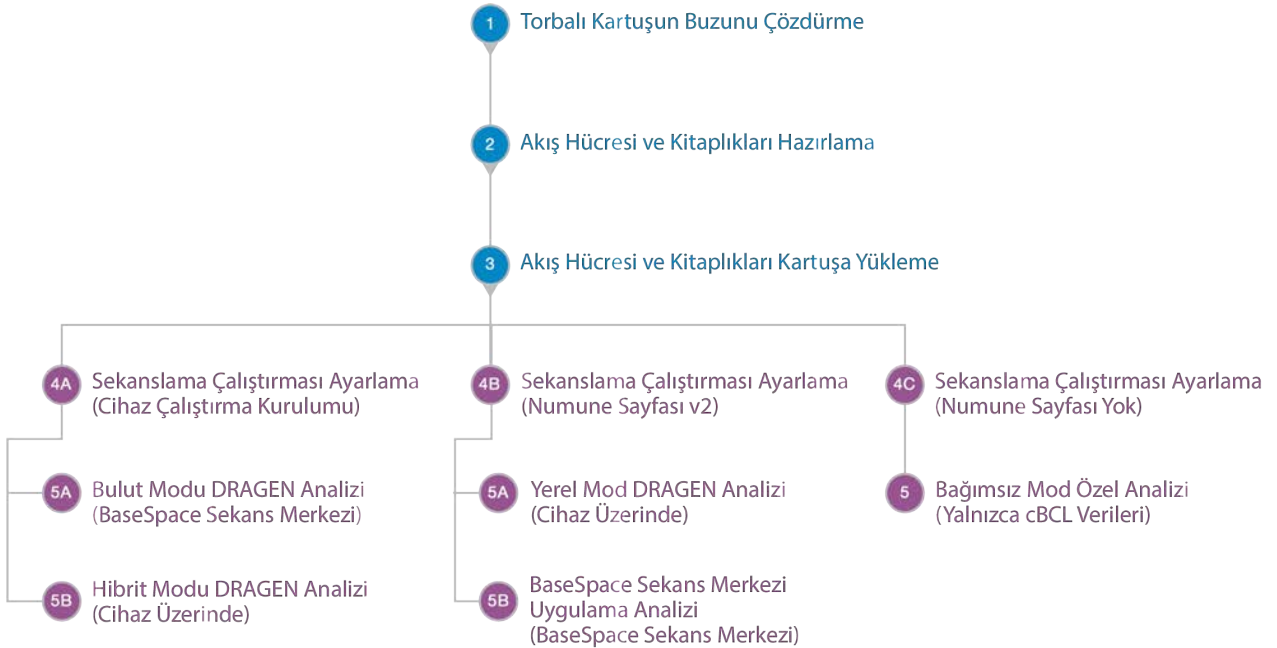
- **In Progress** (Devam Ediyor)—Denetim yazılımı dosyaları BaseSpace Sekans Merkezine yüklüyor.
- **Complete** (Tamamlandı)—Dosyalar başarıyla BaseSpace Sekans Merkezine yüklendi.

Durum Sorununu Giderme

- Çalıştırma devam ediyorsa Process Management (İşlem Yönetimi) ekranını kapatın, yaklaşık beş dakika bekleyin ve yeniden açın.
- Çalıştırma devam etmiyorsa cihaza güç döngüsü uygulayın ve ardından Process Management (İşlem Yönetimi) ekranını yeniden açın. Bkz. [Cihaza Güç Döngüsü Uygulama, sayfa 79](#).

Sekanslama Protokolü Şeması

Aşağıdaki şemada, NextSeq 1000/2000 kullanılarak gerçekleştirilen sekanslama protokolü gösterilmektedir.



Sekanslama Nasıl Çalışır?

NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemlerinde sekanslama süreci küme oluşturma, sekanslama ve analiz işlemlerinden oluşur. Her bir adım, sekanslama çalıştırması sırasında otomatik olarak gerçekleştirilir. Sistem yapılandırmasına bağlı olarak çalıştırma tamamlandıktan sonra cihaz dışında ek analiz gerçekleştirilir.

Küme Oluşturma

Kitaplık,¹ otomatik olarak tekli zincirlere denşirilir ve cihaz üzerinde ek seyreltme işlemine tabi tutulur. Küme oluşturma sırasında tekli DNA molekülleri akış hücresinin yüzeyine bağlanır ve küme² oluşturmak üzere amplifiye olur. Küme oluşturma işlemi ~4 saat sürer.

Sekanslama

Kümeleler, dört nükleotidin verilerini şifrelemek için bir yeşil kanal ve bir mavi kanal olmak üzere iki kanallı kimya kullanılarak görüntülenir. Akış hücreindeki bir kutucuk görüntülendikten sonra sonraki kutucuk görüntülenir. İşlem, her sekanslama döngüsü için tekrar edilir (döngü başına ~5 dakika). Görüntü analizinin ardından Gerçek Zamanlı Analiz yazılımı baz arama³, filtreleme ve kalite skoru⁴ işlemlerini gerçekleştirir.

Birincil Analiz

Çalıştırma ilerledikçe denetim yazılımı baz arama dosyalarını⁵ (*.bcl) veri analizi için belirtilen çıktı klasörüne otomatik olarak aktarır. Gerçek zamanlı analiz (RTA3) yazılımı sekanslama çalıştırması sırasında görüntü analizi, baz arama ve çoğullama çözme⁶ işlemlerini gerçekleştirir. Sekanslama tamamlandığında ikincil analiz başlar. İkincil veri analizi yöntemi uygulamanıza ve sisteminizin yapılandırmasına bağlıdır.

İkincil Analiz

BaseSpace Sekans Merkezi çalıştırmayı izleme, veri analizi, depolama ve iş birliği için Illumina bulut bilişim ortamıdır. Sekanslama için yaygın analiz yöntemlerini destekleyen DRAGEN ve BaseSpace Sekans Merkezi uygulamalarını barındırır.

Birincil sekanslama analizinin tamamlanmasının ardından DRAGEN, kullanılabilir analiz ardışık düzenlerinden birinden yararlanarak ikincil analiz gerçekleştirir.

Bulut veya Hibrit modu kullanılıyorsa DRAGEN, BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumundan numune sayfasını, referans genomu ve çalıştırma girdi dosyalarını alır. Bulut modu için,

¹Sekanslama için, adaptörleri olan bir DNA veya RNA numunesi eklenmiştir. Hazırlama yöntemleri değişiklik gösterir.

²Akış hücreindeki bir klonal DNA zinciri grubudur ve bir sekanslama okuması üretir. Akış hücreindeki her bir DNA zinciri, küme yüzlerce ya da binlerce kopya içerene dek amplifiye edilen bir şablon çekirdeği oluşturur. Örneğin, 10.000 küme içeren bir akış hücresi 10.000 tekli okuma ya da 20.000 çift sonlu okuma üretir.

³Belirli bir döngüde bir kutucuğa ait her küme için bazı (A, C, G veya T) belirleme işlemidir.

⁴Her bir baz arama için bir dizi kalite tahmin unsurunu hesaplar ve ardından bu tahmin unsuru değerini kullanarak Q skorunu arar.

⁵Sekanslama döngüsünün her bir kümesine ilişkin baz aramasını ve ilişkili kalite skorunu içerir.

⁶Havuzdaki her bir kitaplık için okumaları farklılaştıran bir analiz işlemidir.

cBCL verileri otomatik olarak BaseSpace Sekans Merkezine yüklenir ve BaseSpace Sekans Merkezi DRAGEN ikincil analizini başlatır. Hibrit modu için, DRAGEN ikincil analizi cihaz üzerinde gerçekleştirilir ve çıktı dosyaları seçilen bir klasörde ya da bulutta depolanabilir.

Yerel mod kullanılıyorsa DRAGEN, NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemlerinden sağlanan numune sayfasını, referans genomu ve çalıştırma girdi dosyalarını alır. DRAGEN ikincil analizi cihaz üzerinde gerçekleştirilir ve çıktı dosyaları seçilen bir klasörde depolanır. Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama seçilirse analiz, sekanslama tamamlandıktan sonra BaseSpace Sekans Merkezi üzerinden de başlatılabilir.

Bağımsız mod kullanılıyorsa numune sayfası olmadan bir çalıştırma ayarlayın. Bu iş akışı, cBCL verilerinden başlatılan özel analiz iş akışları için önerilmektedir.

- BaseSpace Sekans Merkezi hakkında daha fazla bilgi için bkz. [BaseSpace Sekans Merkezi Çevrimiçi Yardım](#).
- DRAGEN hakkında daha fazla bilgi için [DRAGEN Bio-IT Platformu destek sayfasına](#) bakın.
- Tüm uygulamalara ilişkin bir genel bakış için bkz. [BaseSpace Uygulamaları](#).

Sistem Yapılandırması

Bu bölümde yazılım ayarlarının açıklamaları dahil olmak üzere sisteminizi ayarlamaya yönelik talimatlar sunulmaktadır.

Bu talimatlarda, ağ ve işletim sistemini yapılandırmaya ilişkin bazı bilgilerle birlikte temel olarak denetim yazılımını açıklanmaktadır.

i | Cihazda Google Chrome kullandığınızda oturum açma anahtar demetinizin kilidini açmanız istenecektir. Bu komutu güvenle yok sayabilir ve iptal edebilirsiniz.

Kullanıcı Hesabı Gereklilikleri

Linux işletim sisteminde üç hesap bulunur:

- root (süper yönetici)
- ilmnadmin (yönetici)
- ilmnuser (kullanıcı)

Yönetici hesabı yalnızca sistem güncellemelerini uygulamak (ör. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımını güncelleme) ya da BT personeli tarafından kalıcı bir ağ sürücüsü takmak için tasarlanmıştır.

Sekanslama dahil olmak üzere diğer tüm işlevleri kullanıcı hesabı ile gerçekleştirin.

Parola Gereklilikleri

Saha Servis Mühendisi, cihaz kurulumunu tamamladıktan sonra üç hesap için de parola değişikliği işlemi başlatır. Her parolayı, istem belirtildiğinde 180 günde bir değiştirin.

Tablo 1 Varsayılan Parola Politikaları

Politika	Ayar
Parola geçmişini zorla	Beş parola hatırlanır
Kilitleme eşiği	On geçersiz oturum açma denemesi
Minimum parola uzunluğu	On karakter
Minimum karakter çeşitliliği	Üçer adet: numara, büyük harf, küçük harf ve sembol
Maksimum tekrar eden karakter sayısı	Üç karakter

Politika	Ayar
Parolalar karmaşıklık gerekliliklerini karşılamalıdır	Devre Dışı
Parolaları geri çevrilebilir şifreleme ile kaydet	Devre Dışı

Yeni Kullanıcı Ekleme

1. ilmnadmin hesabında oturum açın.
2. Güç düğmesini seçin ve ardından ilmnadmin açılır menüsünü açın.
3. **Account Settings** (Hesap Ayarları) ögesini seçin.
4. **Unlock** (Kilidi Aç) seçeneğini belirleyin ve ilmnadmin parolasını girin.
5. **Add User** (Kullanıcı Ekle) seçeneğini belirleyin.
6. Standart hesap türünü seçin ve ardından yeni bir kullanıcı adı girin.
7. **Set password now** (Şimdi parola ayarla) seçeneğini belirleyin ve bir parola girin.
8. **Add** (Ekle) ögesini seçin.
Yeni kullanıcı, Users (Kullanıcılar) listesine eklenir.
9. Kullanıcıya, aşağıdaki şekilde NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı erişimi verin.
 - a. Terminali açın.
 - b. Şunları girin:

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <yeni kullanıcı adı>
```
 - c. İstem görüntülenirse ilmnadmin parolasını girin.
10. Kullanıcı izinlerinin başarıyla ayarlandığını onaylamak için aşağıdaki işlemleri gerçekleştirin.
 - a. Yeni kullanıcı hesabında oturum açın.
 - b. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımına gidin.
 - c. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
 - d. Default Output Folder (Varsayılan Çıktı Klasörü) bölümünde çıktı klasörü yolunu seçip kaydedebildiğinizden emin olun.
Çıktı klasörü yolunu hiçbir hata olmadan seçip kaydedebiliyorsanız izinler başarıyla ayarlanmıştır.

Parolayı Sıfırlama

Bu bölümde ilmnuser, ilmnadmin veya kök parolası için sıfırlama işlemlerine ilişkin ayrıntılar belirtilmektedir. Parola kurtarma seçeneği kullanılamaz. Parolanızı sıfırladığınızda, çok fazla yanlış parola denemesinden sonra hesabın kilitlenmesi özelliği devre dışı bırakılmaz. Parolanızı sıfırlayabilmek veya oturum açmayı denemek için 10 dakika beklemeniz gerekir.

ilmnuser Parolasını Sıfırlama

ilmnadmin veya kök parolasını biliyorsanız ilmnuser parolasını sıfırlayabilirsiniz.

1. ilmnadmin hesabında oturum açın.
2. Terminali açın.
3. `sudo passwd ilmnuser` ifadesini girin.
4. İstem görüntülendiğinde ilmnadmin parolasını girin.
5. İstem görüntülendiğinde yeni bir ilmnuser parolası girin.
6. Yeni parolayı onaylamak için, istem görüntülendiğinde yeni ilmnuser parolasını yeniden yazın.

ilmnadmin Parolasını Sıfırlama

Kök parolasını biliyorsanız ilmnadmin parolasını sıfırlayabilirsiniz.

1. Kök oturumu açın.
2. Terminali açın.
3. ilmnadmin parolasını değiştirmek için `passwd ilmnadmin` ya da ilmnuser parolasını değiştirmek için `passwd ilmnuser` girin.
4. İstem görüntülendiğinde yeni parolayı girin.
5. Yeni parolayı onaylamak için, istem görüntülendiğinde yeni parolayı yeniden yazın.

Kök Parolasını Sıfırlama

Kök parolasını sıfırlamak için aşağıdaki seçeneklerden birini kullanın:

- Son İS imajının alındığı sıradaki parolayı biliyorsanız kaydedilen imaja geri yükleyin.
- Parolayı hatırlamıyorsanız Illumina Teknik Destek bölümü ile iletişime geçin.

BaseSpace Sekans Merkezi ve Proaktif Desteği Yapılandırma

Sisteminizde BaseSpace Sekans Merkezi ve Proaktif Desteği yapılandırmak için aşağıdaki talimatları uygulayın. Bir BaseSpace Sekans Merkezi hesabı ayarlamak için bkz. [BaseSpace Sekans Merkezi Çevrimiçi Yardım](#).

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.

2. BaseSpace Sekans Merkezi ve Proaktif Desteği Ayarları için aşağıdaki seçeneklerden birini belirleyin:

Seçenek	Açıklama ve Gereklilikler
Proactive Support Only* (Yalnızca Proaktif Destek)	Daha hızlı sorun giderme için cihaz performans verilerini Illumina'ya gönder. İnternet bağlantısı gerektirir.
Proactive and Run Monitoring (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme)	Uzak çalıştırmayı izleme için InterOp ve günlük dosyalarını BaseSpace Sekans Merkezine gönder. Bu seçenek varsayılandır. BaseSpace Sekans Merkezi hesabı ve internet bağlantısı gerektirir.
Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama)	Uzak izleme ve analiz için InterOp dosyalarını, günlük dosyalarını ve çalıştırma verilerini BaseSpace Sekans Merkezine gönder. BaseSpace Sekans Merkezi hesabı, internet bağlantısı ve numune sayfası gerektirir.
None (Hiçbiri)	Çalıştırmaların BaseSpace Sekans Merkezi hesapları bağlantısını kes ve cihaz performans verilerini Illumina Proaktif Desteğe gönderme.

* Kullanılan denetim yazılımı versiyonuna bağlı olarak yazılım arayüzünde ayarın adı, bu kılavuzda belirtilenden farklı olabilir.

None (Hiçbiri) dışındaki herhangi bir seçenek belirlendiğinde Proaktif Destek etkinleştirilir. Bu, performans verilerinizi Myllumina Müşteri Panosunda görüntülemenize Illumina servis ekiplerinin sorunları daha hızlı gidermesine olanak sağlayan ücretsiz bir hizmettir.



Proactive and Run Monitoring (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme) varsayılan olarak etkindir. Bu hizmetten çıkmak için **None** (Hiçbiri) seçeneğini belirleyin.

2. adımda None (Hiçbiri) seçeneğini belirlediyseniz işlemi tamamlamak için **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin. Aksi halde 6. adıma devam edin.
- Barındırma Konumu listesinden verilerin yüklendiği BaseSpace Sekans Merkezi sunucusunun konumunu seçin.
Bölgenizdeki veya bölgenize en yakın Barındırma Konumunu seçtiğinizden emin olun.
- Kurumsal aboneliğiniz varsa BaseSpace Sekans Merkezi hesabınız için kullanılan etki alanını (URL) girin.
Örneğin: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
- Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Varsayılan Çıktı Klasörünün Konumunu Belirtme

Varsayılan çıktı klasörü konumunu seçmek için bu bölümde belirtilen talimatları uygulayın. Çalıştırma kurulumu sırasında her bir çalıştırma için çıktı klasörünü değiştirebilirsiniz. Yazılım, cBCL dosyalarını¹ ve diğer çalıştırma verilerini çıktı klasörüne kaydeder.

BaseSpace Sekans Merkezi Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) için yapılandırılmamışsa bir çıktı klasörü gereklidir. Varsayılan çıktı klasörü için yalnızca bir harici sürücü ya da ağ sürücüsü kullanın. Cihaz üzerinde çıktı klasörü kullanılması sekanslama çalıştırmanızı olumsuz olarak etkiler.

Harici Sürücü Çıktı Klasörü Belirtme

Taşınabilir harici sürücüyü varsayılan çıktı klasörü olarak seçmek için aşağıdaki talimatları uygulayın. NFTS veya GPT/EXTA olarak biçimlendirilmiş, kendi gücünü sağlayan bir sürücü kullanılması önerilir.

1. Cihazın yan veya arka tarafında bulunan 3.0 USB portunu kullanarak bir taşınabilir harici sürücü takın.
Taşınabilir harici sürücünün yazma izinlerine olanak sağladığından emin olun. Salt Okunur olarak ayarlanırsa denetim yazılımı verileri bu sürücüye kaydedemeyecektir.
2. Taşınabilir harici sürücüde yeni bir klasör oluşturun. Bu klasör, varsayılan çıktı klasörü konumu olacaktır.
NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımının konumu taşınabilir harici sürücü olarak tanınması için en az iki adet iç içe klasör düzeyi gereklidir.
3. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
4. Varsayılan Çıktı Klasöründe mevcut klasör yolunu seçin ve taşınabilir harici sürücüdeki yeni klasöre gidin.
5. **[İsteğe Bağlı]** Çalıştırma Modunda **Online Run Setup** (Çevrimiçi Çalıştırma Kurulumu) seçeneğini belirlediyseniz Hosting Location (Barındırma Konumu) açılır menüsünden bir seçenek belirleyin.
6. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Ağ Sürücüsü Varsayılan Çıktı Klasörü Belirtme

Kalıcı bir ağ sürücüsü takmak ve varsayılan çıktı klasörü konumunu belirtmek için aşağıdaki talimatları uygulayın. Sunucu Masaj Bloğu (SMB)/Ortak İnternet Dosya Sistemi (CIFS) ve Ağ Dosya Sistemi (NFS), NextSeq 1000/2000 cihazına kalıcı olarak ağ sürücüsü takmak için desteklenen tek yöntemlerdir.

SMB/CIFS Takma Talimatları

1. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı açıkça **Minimize Application** (Uygulamayı Simge Durumuna Küçült) seçeneğini belirleyin.

¹Sekanslama döngüsünün her bir kümesine ilişkin baz aramasını ve ilişkili kalite skorunu içerir.

2. ilmnadmin hesabında oturum açın.
3. **Applications** (Uygulamalar) seçeneğini belirleyin.
4. Favorites (Favoriler) bölümünde **Terminal** ögesini seçin.
5. `sudo touch /root/.smbcreds` ifadesini girin ve **Enter** tuşunu seçin.
6. İstem görüntülendiğinde ilmnadmin parolasını girin.
Her `sudo` komutunu kullandığınızda ilmnadmin parolası gereklidir.
7. `sudo gedit /root/.smbcreds` ifadesini girip **Enter** tuşunu seçerek smbcreds adlı metin dosyasını açın.
8. `.smbcreds` metin dosyası açıldığında ağ oturum açma kimlik bilgilerinizi aşağıdaki biçimde girin.

```
kullanıcı adı=<kullanıcı adı>
parola=<parola>
etki alanı=<etki_alanı_adi>
```

 Kullanıcı adı, parola ve etki alanı kimlik bilgileri için köşeli parantez kullanılması gerekmez. Etki alanı kimlik bilgisi yalnızca uzak hesap bir etki alanındaysa gereklidir.
9. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin ve dosyadan çıkın.
10. SMB/CIFs sunucunuzun sunucu adını ve paylaşılan adını tanımlayın.
Sunucu adı ve paylaşılan ad, boşluk içeremez. Örneğin:
Sunucu adı: 192.168.500.100 veya Myserver-myinstitute-03
Paylaşılan ad: /share1
11. Terminalde `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` ifadesini girip **Enter** tuşunu seçerek `.smbcreds` metin dosyasına okuma erişimi verin.
12. `sudo mkdir /mnt/<yerel ad>` ifadesini girin.
<yerel ad> ağ sürücünüzdeki yeni dizinin adıdır ve boşluk içerebilir. Bu, cihazınızda görüntülenecek dizindir.
13. **Enter** tuşunu seçin.
14. `sudo gedit /etc/fstab` ifadesini girin ve **Enter** tuşunu seçin.
15. `fstab` dosyası açıldığında dosyanın sonuna aşağıdaki ifadeyi girin ve **Enter** tuşunu seçin.

```
//<Sunucu adı>/<Paylaşılan ad> /mnt/<yerel ad> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
```
16. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin ve dosyadan çıkın.
17. Terminalde `sudo mount -a -vvv` ifadesini girin ve **Enter** tuşunu seçin.
Ağ sürücüsü `/mnt/<yerel ad>` olarak takılmıştır.
18. Takma işleminin başarılı olup olmadığını onaylamak için `<df | grep <yerel ad>>` ifadesini girin ve **Enter** tuşunu seçin.
Dosya paylaşımı adı görüntülenmelidir.

19. Yerel dizinde bir alt klasör oluşturmak için `sudo mkdir /mnt/<yerel ad>/<çıkıtı dizini>` ifadesini girin. `<çıkıtı dizini>` varsayılan çıkıtı klasörü konumunuzu temsil eder. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımının konumu takılı ağ sürücüsü olarak tanınması için en az iki adet iç içe klasör düzeyi gereklidir.
20. Cihaza güç döngüsü uygulayın. Bkz. [Cihaza Güç Döngüsü Uygulama, sayfa 79](#).
21. Kalıcı olarak takılı ağ sürücüsünü varsayılan çıkıtı klasörü olarak ayarlayın. Bkz. [Kalıcı Ağ Sürücüsünü Varsayılan Çıkıtı Klasörü Olarak Belirtme, sayfa 16](#).

NFS Takma Talimatları

1. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı açıkça **Minimize Application** (Uygulamayı Simge Durumuna Küçült) seçeneğini belirleyin.
2. `ilmnadmin` hesabında oturum açın.
3. NFS sunucunuzun sunucu adını tanımlayın.
Sunucu adı boşluk içeremez. Örneğin:
Sunucu adı: `192.168.500.100` veya `Myserver-myinstitute-03`
4. **Applications** (Uygulamalar) seçeneğini belirleyin.
5. Favorites (Favoriler) bölümünde **Terminal** ögesini seçin.
6. `sudo mkdir /mnt/<yerel ad>` ifadesini girin ve **Enter** tuşunu seçin.
`<yerel ad>` ağ sürücünüzdeki yeni dizinin adıdır.
7. `sudo gedit /etc/fstab` ifadesini girin ve **Enter** tuşunu seçin.
8. `fstab` dosyası açıldığında aşağıdaki ifadeyi girin ve **Enter** tuşunu seçin.
`Sunucu adı:/share //mnt/<yerel ad> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0`
9. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin ve dosyadan çıkın.
10. Terminalde `sudo mount -a -vvv` ifadesini girin ve **Enter** tuşunu seçin.
Ağ sürücüsü `<yerel ad>` klasöründe `/mnt/directory` konumuna takılmıştır.
11. `<yerel ad>` klasöründe yeni bir `<alt klasör>` oluşturun. Alt klasör, varsayılan çıkıtı klasörü konumunuzu temsil eder. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımının konumu takılı ağ sürücüsü olarak tanınması için en az iki adet iç içe klasör düzeyi gereklidir.
12. Cihaza güç döngüsü uygulayın. Bkz. [Cihaza Güç Döngüsü Uygulama, sayfa 79](#).
13. Kalıcı olarak takılı ağ sürücüsünü varsayılan çıkıtı klasörü olarak ayarlayın. Bkz. [Kalıcı Ağ Sürücüsünü Varsayılan Çıkıtı Klasörü Olarak Belirtme, sayfa 16](#).

Kalıcı Ağ Sürücüsünü Varsayılan Çıkıtı Klasörü Olarak Belirtme

1. `ilmnuser` hesabında oturum açın.
2. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.

3. Varsayılan Çıktı Klasöründe /mnt/<yerel_ad>/<çıktı_dizini> konumunda bulunan kalıcı ağ sürücüsünü seçin.
4. **[İsteğe Bağlı]** Çalıştırma Modunda **Online Run Setup** (Çevrimiçi Çalıştırma Kurulumu) seçeneğini belirlediyseniz Hosting Location (Barındırma Konumu) açılır menüsünden bir seçenek belirleyin.
5. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Özel Referans Genomları İçer Aktarma

Yeni özel referans genomlar yalnızca yönetici hesabı kullanılarak içer aktarılabilir. Tüm uyumlu referans genomların listesi için NextSeq 1000/2000 Ürün Uyumluluğu sayfasını ziyaret edin.

1. Illumina Cihazları için Referans Oluşturucu BaseSpace Sekans Merkezi uygulamasını kullanarak bir referans genom oluşturun. Daha fazla bilgi için bkz. *Illumina Cihazları için Referans Oluşturucu v1.0.0 Uygulaması Çevrimiçi Yardım*.
2. Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **Process Management** (İşlem Yönetimi) ögesini seçin.
3. Devam eden hiçbir sekanslama çalışması ya da cihaz üzerinde ikincil analizler olmadığından emin olun.
4. Denetim yazılımı menüsünde, **Minimize Application** (Uygulamayı Simge Durumuna Küçült) seçeneğini belirleyin.
5. ilmnadmin hesabında oturum açın.
6. Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **DRAGEN** ögesini seçin.
7. Genome (Genom) bölümünde, **View Installed Genomes** (Yüklenen Genomları Görüntüle) seçeneğini belirleyerek geçerli olarak yüklü olan tüm Illumina genomlarının ve özel genomların listesini görüntüleyin.
8. Modalı kapatın.
9. Import New Reference Genomes (Yeni Referans Genomları İçer Aktar) bölümünün altında **Choose** (Seç) ögesini seçin, taşınabilir ya da takılı ağ sürücüsünde referans genoma (*.tar.gz) gidin ve **Open** (Aç) seçeneğini belirleyin.
10. **Import** (İçer Aktar) seçeneğini belirleyin.

Gürültü Baseline Dosyalarını İçer Aktarma

DRAGEN Zenginleştirme iş akışını somatik modda kullanıyorsanız sekanslama gürültüsünü veya sistematik gürültüyü hariç tutacak şekilde filtrelemek için gürültü baseline dosyası kullanabilirsiniz. [Illumina Destek Sitesinden](#) standart özel gürültü dosyalarını indirebilir veya özel bir gürültü baseline dosyası oluşturabilirsiniz.

Özel Gürültü Baseline Dosyası Oluşturma

Somatik modu kullanıyorsanız özel gürültü baseline dosyası oluşturabilirsiniz. Gürültü baseline dosyası, numunelerin elde edildiği gönüllüye ait olmayan normal numuneler kullanılarak oluşturulur. Önerilen normal numune sayısı 50'dir.

Özel gürültü baseline dosyası oluşturmak için aşağıdaki yöntemlerden birini kullanın:

- DRAGEN Bio-IT Platformu sunucusunu kullanın. Talimatlar için bkz. *DRAGEN Bio-IT Platformu Çevrimiçi Yardım*.
- BaseSpace Sekans Merkezinde DRAGEN Baseline Builder Uygulamasını kullanın. FASTQ dosyaları oluşturmak için BaseSpace Sekans Merkezi Instrument Run Setup (Cihaz Çalıştırma Kurulumu) bölümündeki BCL Dönüştürme ardışık düzenini kullanın. Sekanslama çalıştırması tamamlandıktan sonra FASTQ dosyalarını DRAGEN Baseline Builder Uygulamasına alın.

Kullanıcı Arayüzünü Kullanarak Baseline Dosyalarını İçer Aktarma

Baseline dosyasını içer aktardıktan sonra, DRAGEN Zenginleştirme iş akışını somatik modunda kullanarak sekanslama çalıştırmanızın kurulumunu yapabilirsiniz.

1. [Illumina Destek Sitesinden](#) standart bir baseline dosyası indirin veya DRAGEN sunucusundan ya da DRAGEN Baseline Builder Uygulamasından özel baseline dosyası indirin.
2. Denetim yazılımı menüsünde, **Minimize Application** (Uygulamayı Simge Durumuna Küçült) seçeneğini belirleyin.
3. ilmnadmin hesabında oturum açın.
4. **Applications**(Uygulamalar) ve ardından **Favorites** (Favoriler) seçeneğini belirleyin.
5. **+Other Locations** (+Diğer Konumlar) ve ardından **Computer** (Bilgisayar) seçeneğini belirleyin.
6. **usr** ve ardından **local** (yerel) ögesine çift tıklayın.
7. **illumina** ve ardından **aux_files** seçeneğine çift tıklayın.
8. Gürültü baseline dosyasını aux_files bölümüne sürükleyin.

Terminali Kullanarak Baseline Dosyalarını İçer Aktarma

Baseline dosyasını içer aktardıktan sonra, DRAGEN Zenginleştirme iş akışını somatik modunda kullanarak sekanslama çalıştırmanızın kurulumunu yapabilirsiniz.

1. [Illumina Destek Sitesinden](#) standart bir baseline dosyası indirin veya DRAGEN sunucusundan ya da DRAGEN Baseline Builder Uygulamasından özel baseline dosyası indirin.
2. Denetim yazılımı menüsünde, **Minimize Application** (Uygulamayı Simge Durumuna Küçült) seçeneğini belirleyin.
3. ilmnadmin hesabında oturum açın.
4. **Applications** (Uygulamalar) seçeneğini belirleyin.

5. Favorites (Favoriler) bölümünde **Terminal** ögesini seçin.
6. Aşağıdaki komutu girin.

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

Çalıştırma Modunu Yapılandırma

Çalıştırma modu tüm çalıştırmalar için geçerli olur ve çalıştırma parametrelerinin nereye girileceğini ve verilerin nasıl analiz edileceğini belirler.

Bulut veya Hibrit Modu

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. BaseSpace Sekans Merkezi Hizmetleri ve Proaktif Destek bölümünde **Online Run Setup** (Çevrimiçi Çalıştırma Kurulumu) seçeneğini belirleyin.
3. Aşağıdaki seçenekleri belirleyerek ek ayarları uygun şekilde yapılandırın:
 - a. **Proactive and Run Monitoring** (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme) veya **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama).
 - b. **Hosting Location** (Barındırma Konumu) aşağı açılır menüsü.
 - c. **[İsteğe Bağlı] Private Domain Name** (Özel Etki Alanı Adı) girin.
4. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Yerel veya Bağımsız Mod

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. BaseSpace Sekans Merkezi Hizmetleri ve Proaktif Destek bölümünde **Local Run Setup** (Yerel Çalıştırma Kurulumu) seçeneğini belirleyin.
3. Aşağıdaki seçenekleri belirleyerek ek ayarları uygun şekilde yapılandırın:
 - a. **Proactive Support Only** (Yalnızca Proaktif Destek), **Proactive and Run Monitoring** (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme) veya **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) veya **None** (Hiçbiri).



BaseSpace Sekans Merkezi yalnızca **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneği belirlendiğinde yeniden kuyruğa alma işlevine izin verir. Geçersiz bir numune sayfasının kullanılması halinde bu seçenek numune sayfasında düzeltme yapabilmeyi ve çoğullama çözme analizini yeniden kuyruğa alabilmenizi sağlar. Cihaz üzerinde yeniden kuyruğa alma işlevi için bkz. [Çalıştırmayı Yeniden Kuyruğa Alma, sayfa 79](#) (Çalıştırmayı Yeniden Kuyruğa Alma).

- b. **Hosting Location** (Barındırma Konumu) aşağı açılır menüsü.
 - c. **[İsteğe Bağlı] Private Domain Name** (Özel Etki Alanı Adı) girin.
4. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Yerel veya Bağımsız Mod için Numune Sayfası Hususları

DRAGEN ile analiz gerçekleştirmek için numune sayfası v2 dosya biçimini kullanmanız gerekir. Numune sayfası v2 dosya biçimi DRAGEN özelliği etkin olmayan BaseSpace Sekans Merkezi uygulamaları ile de uyumludur. v2 dosya biçiminde numune sayfası oluşturma hakkında bilgi edinmek için bkz. [Numune Sayfası v2 Ayarları, sayfa 83](#).

Cihazı Özelleştirme

Bu bölümde, kullanılabilir özelleştirme ayarları hakkında bilgilere yer verilmektedir. Varsayılan çıktı klasörü ayarlamak için bkz. [Varsayılan Çıktı Klasörünün Konumunu Belirtme, sayfa 14](#).

Cihazı Adlandırma

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. Instrument Nickname (Cihaz Kısa Adı) ögesini seçin ve cihaz için tercih edilen bir ad girin. Ad, ekranın üst kısmında görüntülenir.
3. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Denşirme ve Seyreltme Tercihlerini Ayarlama

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. Kitaplıklar için cihaz üzerinde otomatik olarak denşirme ve seyreltme işlemlerinin yapılıp yapılmayacağını seçin. Ayar, önceki çalıştırmanız için belirlenen seçeneğe varsayılan olarak ayarlanır.
 - Kitaplıkları cihaz üzerinde otomatik olarak denşirmek ve seyreltmek için **Denature and Dilute On Board** (Cihaz Üzerinde Denşirme ve Seyreltme) onay kutusunu seçin.
 - Kitaplıkları manuel olarak denşirmek ve seyreltmek için **Denature Dilute On Board** (Cihaz Üzerinde Denşirme ve Seyreltme) onay kutusunun seçimini kaldırın. Kitaplıkları manuel olarak denşirme ve seyreltme talimatları için bkz. *NextSeq 1000 ve 2000 Kitaplıkları Denşirme ve Seyreltme Kılavuzu (belge no 1000000139235)*.

Otomatik Reaktif Tahliyesi Tercihini Ayarlama

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. Çalıştırma tamamlandıktan sonra reaktif atığı bertarafını kolaylaştırmak için sistemin kullanılmamış reaktifleri otomatik olarak kullanılmış reaktif bölmesine tahliye edip etmeyeceğini seçin:
 - Otomatik olarak tahliye etmek için **Purge Reagent Cartridge** (Reaktif Kartuşunu Tahliye Et) onay kutusunu seçin.
 - Otomatik tahliyeyi atlamak için **Purge Reagent Cartridge** (Reaktif Kartuşunu Tahliye Et) onay kutusunun seçimini kaldırın (bu, varsayılan ayardır).

Kullanılmamış reaktiflerin tahliye edilmesi, iş akışının 2 saat kadar uzamasına neden olur.

3. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Yazılım Güncellemelerini Yapılandırma

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. Sistemin yazılım güncellemelerini otomatik olarak denetlemesini isteyip istemediğinizi seçin:
 - Otomatik olarak denetlenmesi için, **Autocheck for software updates** (Yazılım güncellemelerini otomatik olarak denetle) onay kutusunu seçin.
 - Manuel olarak denetlenmesi için, **Autocheck for software updates** (Yazılım güncellemelerini otomatik olarak denetle) onay kutusunun seçimini kaldırın.

Yazılım güncellemelerinin otomatik olarak denetlenmesi için internet bağlantısı gereklidir. Yazılım güncellemelerini yükleme hakkında daha fazla bilgi için bkz. [Yazılım Güncellemeleri, sayfa 71](#).

3. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

LCD Parlaklığını Değiştirme

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. LCD Parlaklığı kaydırıcısını istenen yüzde değerine kaydırın.
3. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyin.

Proxy Sunucusu Ayarlama

Proxy sunucusu desteği yalnızca NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3 ile sunulmaktadır.

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Settings** (Ayarlar) seçeneğini belirleyin.
2. Proxy Settings (Proxy Ayarları) ekranını açmak için geçerli proxy ayarlarını seçin.
3. **Enable Proxy** (Proxy Etkinleştir) onay kutusunu seçin ve ardından sunucu IP port adresini girin.
4. **[İsteğe Bağlı]** Proxy sunucusu için kimlik doğrulama gerekirse **Requires Username and Password** (Kullanıcı Adı ve Parola Gereklidir) onay kutusunu seçin ve kullanıcı adı ve parolayı girin.
5. **Save** (Kaydet) seçeneğini belirleyerek proxy bilgilerini kaydedin ve doğrulayın.
6. Aşağıdaki seçeneklerden birini belirleyin:
 - **Yes, I'm Finished** (Evet, Tamamladım) seçeneğini belirleyerek sistemi yeniden başlatın ve yeni proxy ayarlarını uygulayın.
 - **No, Take Me Back** (Hayır, Geri Dön) seçeneğini belirleyerek Settings (Ayarlar) ekranına geri dönün. Yeni proxy ayarları kaydedilir ancak sistemi yeniden başlatana dek uygulanmaz.

Sarf Malzemeleri ve Ekipman

Bu bölümde, depolama koşulları ile reaktif kitinde sağlanan her öge listelenmektedir. Bunun yanında protokolü tamamlamak ve bakım ve sorun giderme prosedürlerini gerçekleştirmek için hangi yardımcı sarf malzemelerini ve ekipmanları satın almanız gerektiğini de görebilirsiniz.

Sekanslama Sarf Malzemeleri

NextSeq 1000/2000 sisteminde sekanslama yapılabilmesi için bir adet tek kullanımlık Illumina NextSeq 1000/2000 P2 Reaktif kitinin ya da bir adet tek kullanımlık Illumina NextSeq 1000/2000 P3 Reaktif kitinin kullanılması gerekir. NextSeq 1000/2000 P2 Reaktif kiti üç boyut seçeneğiyle (100 döngü, 200 döngü, 300 döngü) ve NextSeq 1000/2000 P3 Reaktif kiti dört boyut seçeneğiyle (50 döngü, 100 döngü, 200 döngü, 300 döngü) sunulur.

NextSeq 1000 Sekanslama Sistemi yalnızca Illumina NextSeq 1000/2000 P2 Reaktif kiti ile uyumludur.

Reaktif kiti, sekanslama için akış hücrecini ve kartuşu sağlar. NextSeq 1000/2000 P2 Reaktif ya da Illumina NextSeq 1000/2000 P3 Reaktif kitini aldığınızda:

- Uygun şekilde performans elde etmek için bileşenleri derhal belirtilen sıcaklıklarda depolayın.
- Bu yönde bir talimat verilene dek hiçbir gümüş renkli folyo torbayı açmayın.
- Folyo torbanın yırtılmaması ya da delinmemesi için kartuşları kutularında depolayın.
- Kartuşları, ok işaretleri yukarı dönük olacak şekilde depolayın.

! | Kartuşun etiketi yukarı dönük değilse sekanslama verileri olumsuz etkilenecektir.

Tablo 2 Kit Bileşenleri

Sarf Malzemesi	Miktar	Depolama Sıcaklığı	Boyutlar
Kartuş	1	-25 °C ila -15 °C	29,2 cm x 17,8 cm x 12,7 cm (11,5 inç x 7 inç x 5 inç)
Akış hücresi	1	2 °C ila 8 °C*	21,6 cm x 12,7 cm x 1,9 cm (8,5 inç x 5 inç x 0,75 inç)
Tween 20 içeren RSB	1	-25 °C ila -15 °C	4 cm x 6,6 cm x 5 cm) (1,6 inç x 2,6 inç x 2 inç)

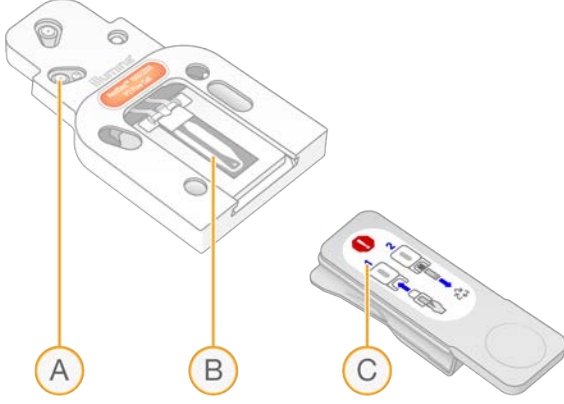
*Oda sıcaklığında gönderilir.

Her iki sarf malzemesi, takip edebilmeniz ve uyumluluğu kontrol edebilmeniz için tanıtıcılar içerir. Kartuşta ve akış hücresinde RFID¹ kullanılır.

¹ radyo frekanslı tanıtıcı

Akış Hücresi

Akış hücresi örüntülü bir tek şeritli akış hücresidir. Plastik bir kartuş, cam tabanlı akış hücresini tamamen kapatır. Gri bir tırnak akış hücresini kapatır ve güvenli bir şekilde taşınması için kartuş hücresinden çıkıntı yapar.

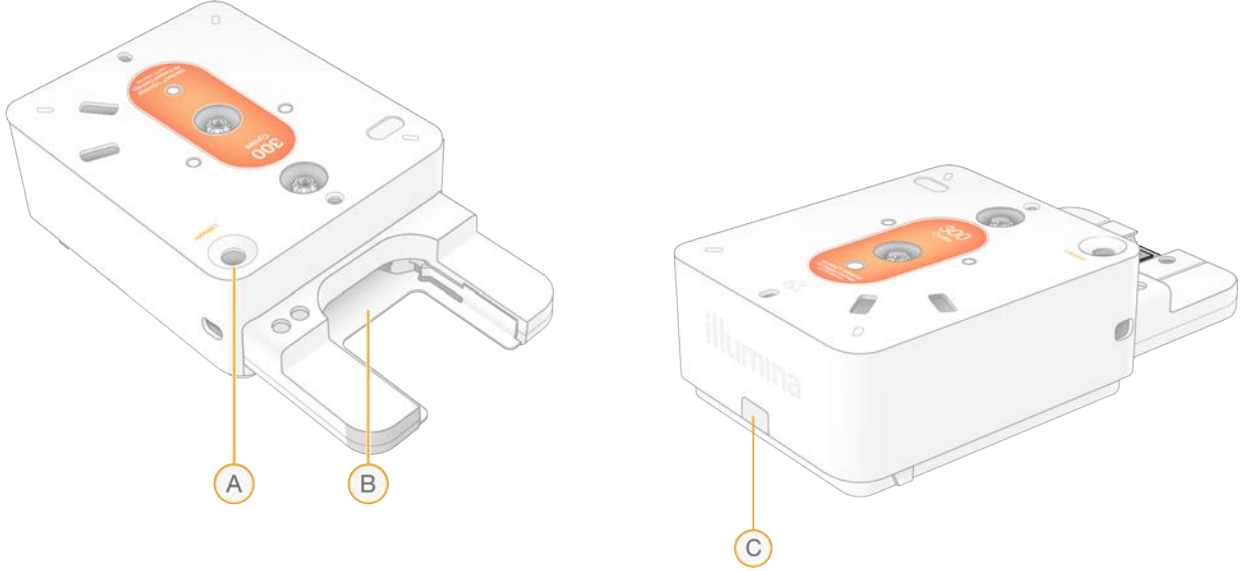


- A. Plastik kartuş
- B. Akış hücresi
- C. Gri tırnak

Milyonlarca nanokuyu akış hücresinin iç yüzeyini kaplar. Nanokuyularda kümeler oluşturulur ve daha sonra sekanslama reaksiyonu gerçekleştirilir. Nanokuyuların örüntülü bir şekilde düzenlenmesi çıktı okumalarını ve verileri artırır.

Kartuş

Sekanslama reaktif kartuşu kümeleme, sekanslama, çift sonlu ve dizinleme reaktifleri ile önceden doldurulmuştur. Folyo ile kapatılmış hazne kitaplıklar için ayrılır ve ön kısımdaki bir yuva akış hücresi için ayrılır.



- A. Kitaplık haznesi
- B. Akış hücresi yuvası
- C. Tahliye tapası

Kartuş, bir çalıştırmaya ilişkin tüm sarf malzemelerini içerir: reaktifler, kitaplık ve akış hücresi. Kitaplık ve akış hücresi buzu çözdürülen kartuşa yüklenir ve daha sonra kartuş cihaza yüklenir. Çalıştırma başladıktan sonra reaktifler ve kitaplıklar otomatik olarak kartuştan akış hücresine aktarılır.

Kartuş, kullanılmış reaktifleri toplamak için alt tarafta bulunan bir hazne dahil olmak üzere sistemin tüm fluidiklerini, pompalarını ve vanalarını içerir. Kartuş çalıştırma sonrasında atılır ve bu nedenle cihazın yıkanması gerekmez.

Desteklenen Döngü Sayısı

Kartuşun üzerinde yer alan etiket kaç döngünün gerçekleştirildiğini değil, kaç döngünün analiz edildiğini belirtir. Akış hücreleri, tüm döngü sayıları ve tüm okuma türleri ile uyumludur.

Tüm 100 döngü ve 200 döngü kartuşları ekstra 38 döngü içerir. 300 döngü kartuşu ise ekstra 27 döngü içerir. Örneğin 300 döngü kartuşu en fazla 327 sekanslama döngüsüne kadar yeterli reaktif sağlar.

Sekanslanacak döngü sayısı hakkında bilgi için bkz. [Okumadaki Döngü Sayısı, sayfa 29](#).

Sembol Açıklamaları

Aşağıdaki tabloda sarf malzemesinde veya sarf malzemesinin ambalajında yer alan semboller açıklanmaktadır.

Sembol	Açıklama
	Sarf malzemesinin son kullanma tarihidir. En iyi sonuçlar için, sarf malzemesini bu tarihten önce kullanın.
	Üreticiyi (Illumina) belirtir.
	Sadece Araştırma Kullanımı için (RUO) tasarlanmıştır.
	Sarf malzemesinin tanımlanabilmesi için parça numarasını belirtir. ¹
	Sarf malzemesinin üretildiği partinin veya lotun tanımlanabilmesi için parti kodunu belirtir. ¹
	Sağlık açısından tehlikeye işaret eder.
	Santigrad derece cinsinden depolama sıcaklığı aralığıdır. Sarf malzemesini belirtilen aralıkta depolayın. ²

Yardımcı Sarf Malzemeleri

Sekanslama ve bakım için aşağıdaki sarf malzemelerini satın alın.

Sekanslama için Sarf Malzemeleri

Tablo 3 Sekanslama için Sarf Malzemeleri

Sarf Malzemesi	Tedarikçi	Amaç
Tek kullanımlık eldivenler, pudra içermeyen	Genel laboratuvar tedarikçisi	Genel amaçlı.
NextSeq 1000/2000 P2 (v3) Reaktif kiti	Illumina: katalog no 20046811 (100 döngü) katalog no 20046812 (200 döngü) katalog no 20046813 (300 döngü)	Tek çalıştırma için reaktif kartuşunu, akış hücrecini ve Tween 20 içeren NextSeq 1000/2000 RSB'yi sağlar. NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 ile uyumludur.
NextSeq 2000 P3 Reaktif kiti	Illumina: katalog no 20046810 (50 döngü) katalog no 20040559 (100 döngü) katalog no 20040560 (200 döngü) katalog no 20040561 (300 döngü)	Tek çalıştırma için reaktif kartuşunu, akış hücrecini ve Tween 20 içeren NextSeq 1000/2000 RSB'yi sağlar. Yalnızca NextSeq 2000 ile uyumludur.
Mikrotüpler, 1,5 ml	Fisher Scientific, katalog no 14-222-158 veya eşdeğeri low-bind tüpler	Kitaplıkları yükleme konsantrasyonuna seyreltme.
Pipet uçları, 10 µl	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kitaplıkları seyreltme.
Pipet uçları, 20 µl	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kitaplıkları seyreltme ve yükleme.
Pipet uçları, 200 µl	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kitaplıkları seyreltme.
Pipet uçları, 1000 µl	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kitaplık haznesi folyosunu delme.
[İsteğe Bağlı] PhiX Denetimi v3	Illumina, katalog no FC-110-3001	Yalnızca PhiX çalıştırması veya PhiX denetiminde spike-in gerçekleştirme.
[İsteğe Bağlı] Kağıt havlular	Genel laboratuvar tedarikçisi	Su banyosundan sonra kartuşu kurutma.

Bakım için Sarf Malzemeleri

Tablo 4 Bakım için Sarf Malzemeleri

Sarf Malzemesi	Tedarikçi	Amaç
Tek kullanımlık eldivenler, pudra içermeyen	Genel laboratuvar tedarikçisi	Genel amaçlı.
NextSeq 1000/2000 Yedek Hava Filtresi*	Illumina, katalog no 20029759	Altı aylık aralıklarla hava filtresini değiştirme.

* Cihaz, bir adet takılı ve bir adet yedek ile birlikte gönderilir. Garanti kapsamında değilse yedek parçalar kullanıcı tarafından tedarik edilir. Kullanıma dek ambalajında tutun.

Yardımcı Ekipmanlar

Sekanslama amaçları doğrultusunda aşağıdaki ekipmanları satın alın.

Kalem	Kaynak	Amaç
Dondurucu, -25 °C ila -15 °C	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kartuşu depolama.
Buz kovası	Genel laboratuvar tedarikçisi	Sekanslamaya dek kitaplıkları kenara koyma.
Pipet, 10 µl	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kitaplıkları yükleme konsantrasyonuna seyreltme.
Pipet, 20 µl	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kitaplıkları yükleme konsantrasyonuna seyreltme ve kartuşa yükleme.
Pipet, 200 µl	Genel laboratuvar tedarikçisi	Kitaplıkları yükleme konsantrasyonuna seyreltme.
Buzdolabı, 2 °C ila 8 °C	Genel laboratuvar tedarikçisi	Akış hücrelerini depolama ya da kartuşun buzunu çözdürme.
[İsteğe Bağlı] 25 °C'de tutabilen aşağıdaki sıcaklık kontrollü su banyolarından biri veya eşdeğeri:		Kartuşun buzunu çözdürme.
<ul style="list-style-type: none"> Thermo Scientific Precision 35L Circulating Water Bath (aynı anda 5 kartuş tutar) SHEL LAB 22L Digital Circulating Water Bath (aynı anda 3 kartuş tutar) 	<ul style="list-style-type: none"> Thermo Fisher Scientific, katalog no TSCIR 35 Shel Lab, katalog no SWBC22 	

Protokol

Bu bölümde, sarf malzemelerini hazırlama, kitaplıkları seyreltme ve dört çalıştırma modundan birinde sekanslama çalıştırması ayarlama konusunda adım adım talimatlar sunulmaktadır (Bulut, Hibrit ve Yerel mod için DRAGEN veya BaseSpace Sekans Merkezi kullanılırken Bağımsız mod yalnızca özel analiz iş akışları için cBCL verilerini oluşturmak üzere tasarlanmış bağımsız bir moddur).

Reaktifleri ve diğer kimyasalları işlerken güvenlik gözlükleri, laboratuvar önlüğü ve pudra içermeyen eldivenleri kullanın.

Protokole başlamadan önce gereken sarf malzemelerine ve ekipmana sahip olduğunuzdan emin olun. Bkz. [Sarf Malzemeleri ve Ekipman, sayfa 22](#).

Belirtilen hacimleri, sıcaklıkları ve süreleri kullanarak gösterilen sırada protokolleri uygulayın.

Sekanslama Hususları

Protokole başlamadan önce kitaplıkları seyreltmek ve çalıştırmayı ayarlamak için hazırlanmak üzere aşağıdaki bilgileri inceleyin. Sekanslama ve analiz işlemlerinin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesi için optimum yükleme konsantrasyonunun elde edilmesi kritik önem taşır. Bir okumada doğru döngü sayısının girilmesi optimum veri çıktısı elde edilmesine yardımcı olur.

Yükleme Hacmi ve Konsantrasyonları

Yükleme hacmi 20 µl'dir. Yükleme konsantrasyonu kitaplık türüne göre değişiklik gösterir:

Kitaplık Türü	Yükleme Konsantrasyonu (pM)
Illumina için AmpliSeq™ Library PLUS	750
Illumina DNA Prep	750
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750
Illumina Stranded mRNA Prep	750
Illumina DNA PCR-Free	1000
%100 PhiX	650
TruSeq DNA Nano 350	1200
TruSeq DNA Nano 550	1500
TruSeq Stranded mRNA	1000

Diğer kitaplık türleri için önerilen başlangıç yükleme konsantrasyonu 650 pM'dir. Tutarlı olarak spesifikasyonları karşılayan veriler üreten bir yükleme konsantrasyonu belirlemek için bu konsantrasyonu sonraki çalıştırmalarda optimize edin.

i | Yükleme konsantrasyonunu optimize etmek için çalıştırma tamamlandıktan sonra kullanılabilen `PrimaryAnalysisMetrics.csv` çıktı dosyasında Yükleme Konsantrasyonu %'si metriğini kullanın. Yükleme Konsantrasyonu %'si <%95 ise yükleme konsantrasyonunu sonraki çalıştırmalarda 100 pM'lik artışlarla yükseltin.

Okumadaki Döngü Sayısı

Her bir okuma için minimum 26 döngü ve maksimum 151 döngü girilmesi veri kalitesinin garanti altına alınmasını sağlar. Gerçek döngü sayısı deneyinize bağlı olarak değişiklik gösterir. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı Okuma 1 için en az 1 döngü olmasını gerektirir ancak Okuma 1'deki döngü sayısı 26'dan az olduğunda bir uyarı görüntüler.

Okuma 1, Dizin 1, Dizin 2 ve Okuma 2 için toplam döngü sayısı 100 döngülük ve 200 döngülük kitler için artı 38 döngü ve P3 300 döngülük kitler için artı 27 döngü ile kitin desteklediği döngü sayısından fazla olamaz. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı, Dizin 1 ve Dizin 2 6 döngüden az olduğunda bir uyarı görüntüler. Dizin 1 veya Dizin 2 için döngü değeri 0 olduğunda uyarı gösterilmez.

Minimum ve maksimum döngü sayılarına ekstra bir döngü dahildir. Fazlama ve prefaz etkilerini düzeltmek için istenen okuma uzunluğuna daima bir döngü ekleyin. Okuma uzunluğu, Okuma 1 ve Okuma 2'deki **sekanslama** döngülerinin sayısıdır ve ekstra döngüleri ve dizin döngülerini içermez. Daha fazla bilgi için [Gerçek Zamanlı Analiz İş Akışı, sayfa 54](#) bölümündeki Fazlama Düzeltme kısmına bakın.

Örnek çalıştırma kurulumu:

- 35 (tekli okuma) okuma uzunluğu için, Okuma 1 alanına **36** girin.
- Okuma başına 150 (çift sonlu) okuma uzunluğu için, Okuma 1 alanına **151** ve Okuma 2 alanına **151** girin.

BaseSpace Sekans Merkezinde Sekanslama Çalıştırması Planlama

Çalıştırma ayarlarınızı oluşturmak ve yapılandırmak için BaseSpace Sekans Merkezinde Instrument Run Setup (Cihaz Çalıştırma Kurulumu) bölümünden yararlanın. Bulut modunda ya da Hibrit modda çalıştırma kurulumu yapıyorsanız çalıştırma yapılandırmasını BaseSpace Sekans Merkezi hesabında Planned Runs (Planlanan Çalıştırmalar) sekmesindeki planlanan çalıştırmalar listesine gönderin. NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemlerinde sekanslama için kullanılacak çalıştırmalar Planned Runs (Planlanan Çalıştırmalar) sekmesinde görüntülenir. Yerel modda çalıştırma kurulumu yapıyorsanız Instrument Run Setup (Cihaz Çalıştırma Kurulumu) bölümünü kullanarak

numune sayfanızı v2 dosya biçiminde oluşturabilir ve dışa aktarabilirsiniz. Alternatif olarak, sağlanan şablonu kullanarak BaseSpace Sekans Merkezi olmaksızın bir numune sayfası oluşturmak için [Numune Sayfası v2 Ayarları](#), [sayfa 83](#) bölümüne bakabilirsiniz.

BaseSpace Sekans Merkezi Instrument Run Setup (Cihaz Çalıştırma Kurulumu) 1536'dan fazla numuneyi desteklememektedir.

Çalıştırma Ayarlama

1. BaseSpace Sekans Merkezine gidin.
2. E-posta adresinizi ve BaseSpace Sekans Merkezi parolanızı girin ve ardından **Sign in** (Oturum Aç) seçeneğini belirleyin.
3. **Runs** (Çalıştırmalar) sekmesini ve ardından **New Run** (Yeni Çalıştırma) açılır menüsünü seçin.
4. **NextSeq 1000/2000** seçeneğini belirleyin.
5. Geçerli çalıştırmayı belirlemek için Run Name (Çalıştırma Adı) alanına tercih ettiğiniz benzersiz bir ad girin.
Çalıştırma adı en fazla 225 alfanumerik karakter, boşluk, kesik çizgi ve alt çizgi içerebilir.
6. Aşağıdaki analiz konumlarından birini seçin.
 - **BaseSpace**—Sekanslama verilerini bulutta analiz etme.
 - **Local** (Yerel)—Sekanslama verilerini cihaz üzerinde analiz etme ya da Yerel veya Hibrit modu için bir Numune Sayfası v2 oluşturma.
7. Bir analiz türü ve versiyonu seçin.
İkincil analizler hakkında daha fazla bilgi için [DRAGEN İkincil Analiz Çıktı Dosyaları](#), [sayfa 59](#) belgesine veya BaseSpace Sekans Merkezi uygulama belgelerine bakın. DRAGEN Tek Hücreli RNA analizini seçtiyseniz üçüncü taraf tek hücreli RNA kitaplık hazırlama kitinin uyumluluğu hakkında bilgi edinmek için NextSeq 1000/2000 Ürün Dosyaları sayfasına bakın.

i | Cihaz üzerinde analiz için, seçilen versiyon cihazda yüklü DRAGEN versiyonu ile eşleşmelidir. Cihazda yüklü DRAGEN versiyonunu onaylamak için bkz. [DRAGEN İş Akışı ve Lisans Güncellemeleri](#), [sayfa 73](#).
8. **[İsteğe Bağlı]** Aşağıda belirtildiği şekilde özel dizin kitleri ayarlayın.
Birden fazla kitaplık kullanıyorsanız kitaplıklar aynı dizin okuması uzunluklarına sahip olmalıdır.
 - a. Index Adapter Kit (Dizin Adaptörü Kiti) açılır menüsünde **Add Custom Index Adapter Kit** (Özel Dizin Adaptörü Kiti Ekle) seçeneğini belirleyin.
 - b. Şablon türü seçin ve kit adını, adaptör sekanslarını, dizin stratejilerini ve dizin sekanslarını girin. İkinci dizin (i5) adaptör sekanslarının forward yönlendirmesinde olduğundan emin olun.
 - c. **Create New Kit** (Yeni Kit Oluştur) seçeneğini belirleyin.
9. **[İsteğe Bağlı]** Aşağıda belirtildiği şekilde özel kitaplık hazırlama kitleri ayarlayın.
 - a. Library Prep Kit (Kitaplık Hazırlama Kiti) açılır menüsünde **Add Custom Library Prep Kit** (Özel Kitaplık Hazırlama Kiti Ekle) seçeneğini belirleyin.

- b. Özel kitaplık hazırlama kitiniz için adı, okuma türlerini, varsayılan okuma döngülerini ve uyumlu dizin adaptörü kitlerini girin.
- c. **Create New Kit** (Yeni Kit Oluştur) seçeneğini belirleyin.
10. Aşağıdaki cihaz ayarlarını seçin. Kitaplık hazırlama kitine bağlı olarak önerilen seçenekler otomatik olarak seçilir. Bazı kitaplık hazırlama kitlerinde dizin okumalarının ve okuma türlerinin sayısı sabittir ve değiştirilemez.
- Kitaplık hazırlama kiti
 - Dizin adaptörü kiti
 - Dizin okumalarının sayısı
 - Okuma türü
 - Okuma başına sekanslama döngüsü sayısı
- i** | Kitaplık hazırlama kiti için Not Specified (Belirtilmedi) seçeneği belirlenirse Sample Data (Numune Verileri) bölümüne dizin sekansları girilene dek dizin okumalarının sayısı güncellenmez.
11. Aşağıdaki seçeneklerden birini kullanarak Numune Verileri elektronik tablosuna numune bilgilerini girin. Numuneleri sonraki analiz sırasında veri kümeleme için gruplandırmak istiyorsanız Project (Proje) sütununda gruba bir ad atayın.
- **Import Data** (Verileri İçer Aktar) seçeneğini belirleyin ve ardından numune sayfanızı seçin. Numune sayfanızın biçimlendirme gerekliliklerini karşıladığından emin olun. Bkz. [Numune Sayfası v2 Ayarları, sayfa 83](#). İlk indirmeden sonra numune sayfanızın değiştirilmesi analizin başarısız olmasına neden olabilir.
 - Numune numaralarını ve kuyu konumlarını ya da i7 ve i5 dizinlerini doğrudan harici bir dosyadan yapıştırın. Yapıştırma işleminden önce Rows (Satırlar) alanına numune satırlarının sayısını girip + simgesini seçin. Numune numaraları en fazla 20 alfanumerik karakter, tire işareti ve alt çizgi içerebilir.
- i** | Sabit düzenli dizin plakaları, kuyu konumu için giriş yapılmasını gerektirir. Sabit düzenli olmayan dizinler, i7 ve i5 dizinleri için giriş yapılmasını gerektirir. i5 dizinleri forward yönlendirmesinde girilmelidir.
- Numune numaralarını ve karşılık gelen kuyu konumlarını ya da dizinleri manuel olarak girin. Kitaplık hazırlama kiti için Not Specified (Belirtilmedi) seçeneği belirlenmişse Dizin 2 (i5) sekanslarını forward yönlendirmesinde girin.
12. **Next** (Sonraki) seçeneğini belirleyin.

İkincil Analizi Ayarlama

Çalıştırmanız için seçtiğiniz analiz türünün ayarlarını yapılandırın. DRAGEN analiz iş akışları hakkında daha fazla bilgi için bkz. [DRAGEN İkincil Analiz Çıktı Dosyaları, sayfa 59](#).

Illumina DRAGEN BCL Dönüştürme

Illumina DRAGEN BCL Dönüştürme analizini yapılandırmak için aşağıdaki adımları uygulayın.

1. Aşağıdaki isteğe bağlı ayarları girin.

Ayar	Açıklama
AdapterRead1	Okuma 1 için adaptör sekansı. Illumina kitaplık hazırlama kiti kullanılıyorsa AdapterRead1 alanını boş bırakın.
AdapterRead2	Okuma 2 için adaptör sekansı. Illumina kitaplık hazırlama kiti kullanılıyorsa AdapterRead2 alanını boş bırakın.
BarcodeMismatchesIndex1	Birinci dizin okuma ve dizin sekansı arasında izin verilen uyumsuzlukların sayısıdır. Varsayılan değer 1'dir. Barkod 6 bp ise önerilen değer 0 şeklindedir.
BarcodeMismatchesIndex2	İkinci dizin okuma ve dizin sekansı arasında izin verilen uyumsuzlukların sayısıdır. Varsayılan değer 1'dir. Barkod 6 bp ise önerilen değer 0 şeklindedir.
OverrideCycles	<p>UMI döngülerini belirtmek ve bir okumanın döngülerini maskeleyen için kullanılan dizedir. Aşağıdaki değerlere izin verilir:</p> <ul style="list-style-type: none"> • N—Yok sayılacak döngüleri belirtir. • Y—Sekanslama döngülerini belirtir. • I—Dizin döngülerini belirtir. • U—Kesilecek UMI döngülerini belirtir. <p>Her bir öge noktalı virgülle ayrılır. Aşağıda OverrideCycles girdisi örnekleri belirtilmektedir.</p> <p>U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66</p>

2. FASTQ dosyalarının bir kopyasının kaydedilip kaydedilmeyeceğini seçin. FASTQ dosyaları, yalnızca FASTQ dosyalarını tutmayı seçerseniz oluşturulur.
3. Aşağıdaki FASTQ çıktı biçimi seçeneklerinden birini belirleyin:
 - **gzip**—FASTQ dosyalarını gzip biçiminde kaydeder.
 - **DRAGEN**—FASTQ dosyalarını ora biçiminde kaydeder.

4. Çalıştırma yapılandırmasını tamamlayın.

- Çalıştırma yapılandırmasını BaseSpace Sekans Merkezi hesabınıza göndermek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) seçeneğini belirleyin. BaseSpace Sekans Merkezine gönderilen çalıştırmalar planlanan çalıştırmalar listesinde görüntülenir ve Bulut modunun ya da Hibrit modunun kullanıldığı sistemler için kullanılabilir.
- Çalıştırma yapılandırmasını v2 dosya biçiminde numune sayfası olarak kaydetmek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) açılır listesinden **Export Sample Sheet** (Numune Sayfasını Dışa Aktar) seçeneğini belirleyin. Yerel modun kullanıldığı sistemlerde çalıştırmaları başlatmak için numune sayfası gereklidir. Bu seçenek yalnızca analiz konumu için Yerel seçeneği belirlendiyse kullanılabilir.

Illumina DRAGEN Zenginleştirme

Illumina DRAGEN Zenginleştirme analizini yapılandırmak için aşağıdaki adımları uygulayın.

1. Bir referans genom seçin.
Mümkünse alt duyarlı bir referans genom kullanın.
2. Hedeflemek istediğiniz bölgelerin bulunduğu bir *.bed dosyası seçin veya yeni bir özel dosya yükleyin.
BED dosyasının referans genomunun, adım 1 kısmında seçilen referans genom ile eşleştiğinden emin olun. Yeni bir özel BED dosyası için şu adlandırma biçimini kullanın: `panel_adi_ versiyonNumarası.referencegenome.bed`.
 - **Yerel mod**—Tek çalıştırma için yüklemek üzere **Select Custom File (Local)** (Özel Dosya Seç (Yerel)) seçeneğini belirleyin veya tekrar eden kullanım için **Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin.
 - **Bulut veya Hibrit modu**—**Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin. Özel BED dosyası yalnızca yüklendiği İş Grubunda bulunur.
3. Germ hattı veya somatik varyant arayıcı seçeneğini belirleyin.
4. **[İsteğe Bağlı]** Somatik varyant arayıcı kullanıyorsanız bir gürültü baseline dosyası seçin. Daha fazla bilgi için bkz. [Gürültü Baseline Dosyalarını İçer Aktarma, sayfa 17](#).
5. Çıktı eşleme/hizalama biçimi seçin.
6. FASTQ dosyalarının bir kopyasının kaydedilip kaydedilmeyeceğini seçin. FASTQ dosyaları, yalnızca FASTQ dosyalarını tutmayı seçerseniz oluşturulur.
7. Aşağıdaki FASTQ çıktı biçimi seçeneklerinden birini belirleyin:
 - **gzip**—FASTQ dosyalarını gzip biçiminde kaydeder.
 - **DRAGEN**—FASTQ dosyalarını ora biçiminde kaydeder.

8. Çalıştırma yapılandırmasını tamamlayın.

- Çalıştırma yapılandırmasını BaseSpace Sekans Merkezi hesabınıza göndermek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) seçeneğini belirleyin. BaseSpace Sekans Merkezine gönderilen çalıştırmalar planlanan çalıştırmalar listesinde görüntülenir ve Bulut modunun ya da Hibrit modunun kullanıldığı sistemler için kullanılabilir.
- Çalıştırma yapılandırmasını v2 dosya biçiminde numune sayfası olarak kaydetmek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) açılır listesinden **Export Sample Sheet** (Numune Sayfasını Dışa Aktar) seçeneğini belirleyin. Numune sayfası ve ikincil analiz destekleyici dosyaları *.zip klasörüne indirilir ve Yerel mod kullanılan sistemlerde çalıştırma başlatmak için gereklidir. Bu seçenek yalnızca analiz konumu için Yerel seçeneği belirlendiyse kullanılabilir.

Illumina DRAGEN Germ Hattı

Illumina DRAGEN Germ Hattı analizini yapılandırmak için aşağıdaki adımları uygulayın.

1. Referans genomunuzu seçin.
Mümkünse alt duyarlı bir referans genom kullanın.
2. Çıktı eşleme/hizalama biçimi seçin.
3. FASTQ dosyalarının bir kopyasının kaydedilip kaydedilmeyeceğini seçin. FASTQ dosyaları, yalnızca FASTQ dosyalarını tutmayı seçerseniz oluşturulur.
4. Aşağıdaki FASTQ çıktı biçimi seçeneklerinden birini belirleyin:
 - **gzip**—FASTQ dosyalarını gzip biçiminde kaydeder.
 - **DRAGEN**—FASTQ dosyalarını ora biçiminde kaydeder.
5. Çalıştırma yapılandırmasını tamamlayın.
 - Çalıştırma yapılandırmasını BaseSpace Sekans Merkezi hesabınıza göndermek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) seçeneğini belirleyin. BaseSpace Sekans Merkezine gönderilen çalıştırmalar planlanan çalıştırmalar listesinde görüntülenir ve Bulut modunun ya da Hibrit modunun kullanıldığı sistemler için kullanılabilir.
 - Çalıştırma yapılandırmasını v2 dosya biçiminde numune sayfası olarak kaydetmek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) açılır listesinden **Export Sample Sheet** (Numune Sayfasını Dışa Aktar) seçeneğini belirleyin. Numune sayfası ve ikincil analiz destekleyici dosyaları *.zip klasörüne indirilir ve Yerel mod kullanılan sistemlerde çalıştırma başlatmak için gereklidir. Bu seçenek yalnızca analiz konumu için Yerel seçeneği belirlendiyse kullanılabilir.

Illumina DRAGEN RNA

Illumina DRAGEN RNA analizini yapılandırmak için aşağıdaki adımları uygulayın.

1. Referans genomunuzu seçin.
Mümkünse alt duyarsız bir referans genom kullanın.
2. Çıktı eşleme/hizalama biçiminizi seçin.

3. FASTQ dosyalarının bir kopyasının kaydedilip kaydedilmeyeceğini seçin. FASTQ dosyaları, yalnızca FASTQ dosyalarını tutmayı seçerseniz oluşturulur.
4. Aşağıdaki FASTQ çıktı biçimi seçeneklerinden birini belirleyin:
 - **gzip**—FASTQ dosyalarını gzip biçiminde kaydeder.
 - **DRAGEN**—FASTQ dosyalarını ora biçiminde kaydeder.
5. **[İsteğe Bağlı]** Gen Aktarım Biçiminde (GTF) bir RNA Açıklama dosyası yükleyin.
 - **Yerel mod**—Tek çalıştırma için yüklemek üzere **Select Custom File (Local)** (Özel Dosya Seç (Yerel)) seçeneğini belirleyin veya tekrar eden kullanım için **Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin.
 - **Bulut veya Hibrit modu**—**Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin. GTF dosyası yalnızca yüklendiği İş Grubunda bulunur. BaseSpace Sekans Merkezi İş Grubuna bir GTF dosyası yüklendiğinde açılır menüden RNA Açıklama dosyasını seçin.
6. Diferansiyel ifadeyi etkinleştirip etkinleştirmemeyi seçin.
7. Diferansiyel ifadeyi etkinleştirdiyseniz her bir numune için bir kontrol veya karşılaştırma değeri seçin. Her bir karşılaştırma grubunda, kontrol olarak işaretlenen her numune karşılaştırma olarak işaretlenen tüm numuneler ile karşılaştırılır. Numunede bir kontrol veya karşılaştırma değeri yoksa değer olarak **na** (geçerli değil) seçeneğini belirleyin.
8. Çalıştırma yapılandırmasını tamamlayın.
 - Çalıştırma yapılandırmasını BaseSpace Sekans Merkezi hesabınıza göndermek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) seçeneğini belirleyin. BaseSpace Sekans Merkezine gönderilen çalıştırmalar planlanan çalıştırmalar listesinde görüntülenir ve Bulut modunun ya da Hibrit modunun kullanıldığı sistemler için kullanılabilir.
 - Çalıştırma yapılandırmasını v2 dosya biçiminde numune sayfası olarak kaydetmek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) açılır listesinden **Export Sample Sheet** (Numune Sayfasını Dışa Aktar) seçeneğini belirleyin. İsteğe bağlı bir GTF dosyası sağlanmışsa numune sayfası ve ikincil analiz destekleyici dosyaları *.zip klasörüne indirilir ve Yerel mod kullanılan sistemlerde çalıştırma başlatmak için gereklidir. Bu seçenek yalnızca analiz konumu için Yerel seçeneği belirlendiyse kullanılabilir.

Illumina DRAGEN Tek Hücreli RNA

Illumina DRAGEN Tek Hücreli RNA analizini yapılandırmak için aşağıdaki adımları uygulayın.

1. Referans genomunuzu seçin. Mümkünse alt duyarsız bir referans genom kullanın.

2. **[İsteğe Bağlı]** Gen Aktarım Biçiminde (GTF) bir RNA Açıklama dosyası yükleyin.
 - **Yerel mod**—Tek çalıştırma için yüklemek üzere **Select Custom File (Local)** (Özel Dosya Seç (Yerel)) seçeneğini belirleyin veya tekrar eden kullanım için **Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin.
 - **Bulut veya Hibrit modu**—**Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin. GTF dosyası yalnızca yüklendiği İş Grubunda bulunur. BaseSpace Sekans Merkezi İş Grubuna bir GTF dosyası yüklendiğinde açılır menüden RNA Açıklama dosyasını seçin.
3. Çıktı eşleme/hizalama biçiminizi seçin.
4. FASTQ dosyalarının bir kopyasının kaydedilip kaydedilmeyeceğini seçin. FASTQ dosyaları, yalnızca FASTQ dosyalarını tutmayı seçerseniz oluşturulur.
5. Aşağıdaki FASTQ çıktı biçimi seçeneklerinden birini belirleyin:
 - **gzip**—FASTQ dosyalarını gzip biçiminde kaydeder.
 - **DRAGEN**—FASTQ dosyalarını ora biçiminde kaydeder.
6. Kitaplık hazırlama kitinizin türü ile aynı yapılandırmayı seçin. Örneğin, kitaplık hazırlama kitiniz olarak Tek Hücreli RNA Kitaplık Kiti 1'i seçtiyseniz Yapılandırma Türü için Tür 1'i seçin.
7. Barkod okumasını seçin.
8. **[İsteğe Bağlı]** UMI ve barkodlardaki baz sayısını girin. Değerler seçtiğiniz kitaplık hazırlama kiti ve yapılandırma türüne göre otomatik olarak doldurulur.
9. Zincir yönlendirmesini seçin.
10. **[İsteğe Bağlı]** Barkod sekanslarınızı içeren bir dosya seçin ya da yeni bir özel dosya yükleyin.
11. Gelişmiş/Özel yapılandırma türü kullanıyorsanız geçersiz kılma döngülerinin sayısı, barkod konumu ve UMI konumu için değerleri girin.
12. Çalıştırma yapılandırmasını tamamlayın.
 - Çalıştırma yapılandırmasını BaseSpace Sekans Merkezi hesabınıza göndermek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) seçeneğini belirleyin. BaseSpace Sekans Merkezine gönderilen çalıştırmalar planlanan çalıştırmalar listesinde görüntülenir ve Bulut modunun ya da Hibrit modunun kullanıldığı sistemler için kullanılabilir.
 - Çalıştırma yapılandırmasını v2 dosya biçiminde numune sayfası olarak kaydetmek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) açılır listesinden **Export Sample Sheet** (Numune Sayfasını Dışa Aktar) seçeneğini belirleyin. İsteğe bağlı bir GTF dosyası sağlanmışsa numune sayfası ve ikincil analiz destekleyici dosyaları *.zip klasörüne indirilir ve Yerel mod kullanılan sistemlerde çalıştırma başlatmak için gereklidir. Bu seçenek yalnızca analiz konumu için Yerel seçeneği belirlendiyse kullanılabilir.

Illumina DRAGEN Amplikon

Illumina DRAGEN Amplikon analizini yapılandırmak için aşağıdaki adımları uygulayın.

1. Referans genomunuzu seçin.
2. Hedeflemek istediğiniz bölgelerin bulunduğu bir *.bed dosyası seçin veya yeni bir özel dosya yükleyin.
BED dosyasının referans genomunun, adım 1 kısmında seçilen referans genom ile eşleştiğinden emin olun. Yeni bir özel BED dosyası için şu adlandırma biçimini kullanın: `panel_adi_ versiyonNumarası.referencegenome.bed`.
 - **Bulut veya Hibrit modu—Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin. Özel BED dosyası yalnızca yüklendiği İş Grubunda bulunur.
 - **Yerel mod**—Tek çalıştırma için yüklemek üzere **Select Custom File (Local)** (Özel Dosya Seç (Yerel)) seçeneğini belirleyin veya tekrar eden kullanım için **Upload Custom File (BaseSpace)** (Özel Dosya Yükle (BaseSpace)) seçeneğini belirleyin.
3. Germ hattı veya somatik varyant arayıcı seçeneğini belirleyin.
4. Çıktı eşleme/hizalama biçiminizi seçin.
5. **[Yerel]** FASTQ dosyalarının bir kopyasının kaydedilip kaydedilmeyeceğini seçin. FASTQ dosyaları, yalnızca FASTQ dosyalarını tutmayı seçerseniz oluşturulur.
6. FASTQ dosyalarının bir kopyasının kaydedilip kaydedilmeyeceğini seçin. FASTQ dosyaları, yalnızca FASTQ dosyalarını tutmayı seçerseniz oluşturulur.
7. Aşağıdaki FASTQ çıktı biçimi seçeneklerinden birini belirleyin:
 - **gzip**—FASTQ dosyalarını gzip biçiminde kaydeder.
 - **DRAGEN**—FASTQ dosyalarını ora biçiminde kaydeder.
8. Çalıştırma yapılandırmasını tamamlayın.
 - Çalıştırma yapılandırmasını BaseSpace Sekans Merkezi hesabınıza göndermek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) seçeneğini belirleyin. BaseSpace Sekans Merkezine gönderilen çalıştırmalar planlanan çalıştırmalar listesinde görüntülenir ve Bulut modunun ya da Hibrit modunun kullanıldığı sistemler için kullanılabilir.
 - **[Yerel]** Çalıştırma yapılandırmasını v2 dosya biçiminde numune sayfası olarak kaydetmek için **Submit Run** (Çalıştırmayı Gönder) açılır listesinden **Export Sample Sheet** (Numune Sayfasını Dışa Aktar) seçeneğini belirleyin. Numune sayfası ve ikincil analiz destekleyici dosyaları *.zip klasörüne indirilir ve Yerel mod kullanılan sistemlerde çalıştırma başlatmak için gereklidir. Bu seçenek yalnızca analiz konumu için Yerel seçeneği belirlendiyse kullanılabilir.

Torbalı Kartuşun ve Akış Hücresinin Buzunu Çözdürme

Bu adımda, *açılmamış torbadaki* kartuşun buzunu çözülür ve akış hücresi hazırlanır. Şu üç yöntemden birini kullanarak torbalı kartuşun buzunu çözün: kontrollü su banyosu, soğutucu ya da oda sıcaklığında hava. Kartuşu çözdürdükten sonra, yeniden dondurmadan hemen kullanın. Kartuşu buzunu çözdürdükten sonra hemen kullanamayacaksınız bkz. [Sarf Malzemelerini Depoya Geri Döndürme](#), sayfa 78.

Şekil 4 Torbalı Kartuş



Kontrollü Su Banyosunda Kartuşun Buzunu Çözdürme

1. Yeni bir çift pudra içermeyen eldiven takın ve kartuşu depodan çıkarın.
2. Kartuşu kutudan çıkarın ancak *gümüş folyo torbayı açmayın*.



Yırtılmış ya da delinmiş bir torbanın su banyosunda çözülmesi sekanslamanın başarısız olmasına yol açabilir. Bunun yerine oda sıcaklığında ya da soğutucuda buzunu çözün.

3. 6 saat süreyle 25 °C kontrollü su banyosunda torbalı kartuşun buzunu çözün:
 - Kaç adet kartuşun buzunu çözürüyor olursanız olun en az 9,5–10 cm'lik su derinliği sağlayın.
 - 25 °C'de sıcaklık kontrollü su banyosu ayarlayın.
 - Torbanın etiketini yukarı dönük olacak şekilde tutun ve tamamen batırmaksızın su banyosuna yerleştirin.

! | Suya batırmak için kartuşun üzerine bastırmaya çalışmayın. Torba etiketi yukarı dönük değilse veya buzunu çözme işlemi sırasında kartuş ters dönerse sekanslama verileri olumsuz etkilenecektir.

- Su banyosunu 8 saatten uzun süre devam ettirmeyin.
- Aynı anda su banyosunun desteklediğinden fazla kartuşun buzunu çözme işlemi yapmayın. Uyumlu su banyoları için bkz. [Yardımcı Ekipmanlar, sayfa 27](#).
- Kartuşları istiflemeyin.

4. Kartuşu su banyosundan çıkarın ve kağıt havlularla kurutun.

Soğutucuda Kartuşun Buzunu Çözme

1. Yeni bir çift pudra içermeyen eldiven takın.
2. Beklenen çalıştırmadan bir gün önce kartuşu -25 °C ila -15 °C depodan çıkarın.
3. Kartuşu kutudan çıkarın ancak **gümüş folyo torbayı açmayın**.
4. Kartuşu, etiketi yukarı dönük olacak ve yanlardan ve üstten hava dolaşımı olacak şekilde oda sıcaklığına yerleştirin.

! | Torba etiketi yukarı dönük değilse sekanslama verileri olumsuz etkilenecektir.

5. 6 saat süreyle oda sıcaklığında çözün.
6. Kartuşu, etiketi yukarı dönük olacak ve yanlardan hava dolaşımı olacak şekilde 2 °C ila 8 °C soğutucuya yerleştirin.

! | Torba etiketi yukarı dönük değilse sekanslama verileri olumsuz etkilenecektir.

7. 12 saat süreyle soğutucuda buzunu çözün. 72 saati aşmayın.

Oda Sıcaklığında Kartuşun Buzunu Çözme

1. Yeni bir çift pudra içermeyen eldiven takın.
2. Kartuşu -25 °C ila -15 °C depodan çıkarın.
3. Kartuşu kutudan çıkarın ancak **gümüş folyo torbayı açmayın**.
4. Kartuşu, etiketi yukarı dönük olacak ve yanlardan ve üstten hava dolaşımı olacak şekilde yerleştirin.

! | Torba etiketi yukarı dönük değilse sekanslama verileri olumsuz etkilenecektir.

5. 9 saat süreyle oda sıcaklığında çözün. 16 saati aşmayın.

Akış Hücrecini ve Kartuşu Hazırlama

1. Akış hücrecini aşağıda belirtildiği şekilde hazırlayın.
 - a. Yeni bir akış hücrecini 2 °C ila 8 °C depodan çıkarın.
 - b. Akış hücrecini ambalajdan çıkarırken yoğuşmayı önlemek için, açılmamış ambalajı oda sıcaklığında 10–15 dakika süreyle kenarda bekletin. Akış hücreci bu şekilde hazırlanarak akış hücrecinin zamanında oda sıcaklığına ulaşması sağlanır.
2. Soğutucu ile buzunu çözme yöntemi kullanılıyorsa:
 - a. Buzu çözöürölmüş kartuşu 2 °C ila 8 °C depodan çıkarın.
 - b. Açılmamış kartuşu sekanslamadan önce oda sıcaklığında en az 15 dakika süreyle kenarda bekletin. 1 saati aşmayın.

Kitaplıkları Seyreltme

Cihaz üzerinde denşirme ve seyreltme özelliğini kullanıyorsanız bu adımda kitaplıklar uygun yükleme konsantrasyonuna seyreltilir. İsteğe bağı bir %2 PhiX¹ spike-in işlemi ek metrikler, baz çeşitliliği veya pozitif kontrol sağlar. PhiX spike-in yüzdesi daha düşük baz çeşitliliğine sahip kitaplıklar için artırılmalıdır.

Kitaplıkları manuel olarak denşiriyor ve seyreltiyorsanız *NextSeq 1000 ve 2000 Kitaplıkları Denşirme ve Seyreltme Kılavuzu (belge no 1000000139235)* belgesinden yararlanın. Bu adım yalnızca cihaz üzerinde denşirme ve seyreltme için geçerlidir.

Kitaplığı 2 nM'ye Seyreltme

1. [İsteğe Bağılı] 10 nM PhiX stoku -25 °C ila -15 °C depodan çıkarın.
PhiX, yalnızca isteğe bağı spike-in veya yalnızca PhiX çalıştırması için gereklidir.
2. [İsteğe Bağılı] PhiX'i 5 dakika süreyle oda sıcaklığında çözöürün ve ardından Qubit gibi bir floresan bazlı yöntemle miktar tayini yaparak PhiX konsantrasyonunu onaylayın.
Miktar tayini yapılamıyorsa 10 nM konsantrasyonla devam edin.
3. Kısa süreyle kitaplığı ya da PhiX'i karıştırın ve ardından 1 dakika süreyle 280 x g düzeyinde santrifüjleyin.
4. Seyreltici olarak Tween 20 ile birlikte RSB'yi kullanarak bir low-bind mikrotüpte en az 24 µl 2 nM kitaplık hazırlayın.
PhiX spike-in talimatları için bkz. [PhiX Denetimi Ekleme \(İsteğe Bağılı\)](#), sayfa 42.
5. Kısa süreyle karıştırın ve ardından 1 dakika süreyle 280 x g düzeyinde santrifüjleyin.

¹PhiX, dengeli nükleotid temsili içeren küçük, kullanıma hazır bir Illumina kitaplığıdır.

2 nM Kitaplığı Yükleme Konsantrasyonuna Seyreltme

- Uygun yükleme konsantrasyonuna seyreltilmiş 24 µl kitaplık hazırlamak için aşağıda belirtilen hacimleri low-bind mikrotüpte birleştirin:

Kitaplık Türü*	Yükleme Konsantrasyonu (pM)	2 nM Kitaplık Hacmi (µl)	Tween 20 ile RSB Hacmi (µl)
Illumina için Ampliseq Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000	12	12
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15
Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-Free	1000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1200	14,4	9,6
TruSeq DNA Nano 550	1500	18	6
TruSeq Stranded mRNA	1000	12	12
%100 PhiX	650	7,8	16,2

* Listede yer almayan kitaplık türleri için, 650 pM yükleme konsantrasyonu ile başlayın ve sonraki diğer çalıştırmalar ile optimize edin.

Bu tabloda örnek yükleme konsantrasyonları sunulmaktadır. NextSeq 1000/2000, tüm Illumina kitaplık hazırlama kitleri ile uyumludur ancak optimum yükleme konsantrasyonu değişiklik gösterebilir.

- Kısa süreyle karıştırın ve ardından 1 dakika süreyle 280 x g düzeyinde santrifüjleyin.
- Sekanslama için hazır olana dek, seyreltilen kitaplığı buzun üzerine koyun. Yükleme konsantrasyonuna seyreltilen kitaplıkları, seyreltikleri gün sekanslayın.
- Aşağıda belirtildiği şekilde devam edin.
 - PhiX ekleniyorsa bkz. [PhiX Denetimi Ekleme \(İsteğe Bağlı\)](#), sayfa 42.
 - PhiX eklemiyor veya yalnızca PhiX çalıştırması gerçekleştiriyorsanız bkz. [Sarf Malzemelerini Kartuşa Yükleme](#), sayfa 42.

PhiX Denetimi Ekleme (İsteğe Bağlı)

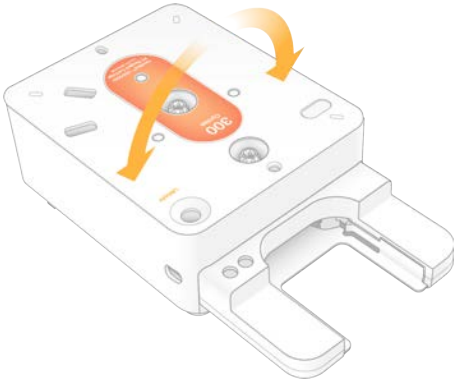
- 20 µl 1 nM PhiX hazırlamak için aşağıdaki hacimleri bir low-bind mikrotüpte birleştirin:
 - 10 nM PhiX (2 µl)
 - Tween 20 içeren RSB (18 µl)
- Kısa süreyle karıştırın ve ardından 1 dakika süreyle 280 x g düzeyinde santrifüjleyin.
- Son yükleme konsantrasyonuna seyreltilmiş 24 µl kitaplığa 1 µl 1 nM PhiX ekleyin.
Bu hacimler, ~%2 PhiX spike-in elde edilmesini sağlar. Gerçek yüzde, kitaplık kalitesine ve miktarına göre değişiklik gösterir.
- Sekanslama için hazır olana dek, PhiX spike-in içeren kitaplığı buzun üzerine koyun.
PhiX spike-in içeren kitaplıkları seyreltikleri gün sekanslayın.

Sarf Malzemelerini Kartuşa Yükleme

Bu adımda, önceden doldurulmuş reaktifler karıştırılarak ve seyreltilmiş kitaplıklar ve akış hücresi yüklenerek kartuş sekanslamaya hazırlanır.

Kartuşu Hazırlama

- Her iki tarafta yer alan üst çentiklerden yırtarak ya da makasla keserek kartuş torbasını açın.
- Kartuşu torbadan çıkarın. Torbayı ve nem gidericiyi atın.
- Reaktifleri karıştırmak için kartuşu 10 kez ters çevirin.
Dahili bileşenler ters çevirme işlemi sırasında ses çıkarabilir, bu normaldir.



Akış Hücresini Yükleme

- Her iki tarafta yer alan üst yarıktan yırtarak ya da makasla keserek gümüş renkli folyo ambalajı açın.
Akış hücresini hemen kullanamayacaksınız bkz. [Sarf Malzemelerini Depoya Geri Döndürme, sayfa 78](#).

2. Akış hücrelerini ambalajından dışarı çekin.

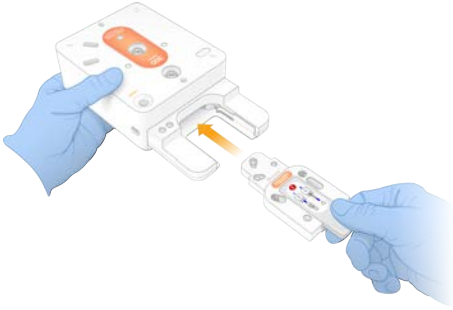
Akış hücrelerini depoya geri döndürmeniz gerekirse folyo ambalajı ve nem gidericiyi kenara koyun. Nem giderici, folyo ambalajın alt kısmındaki bir kesede yer alır. Sekanslama başladığında bunları atın.



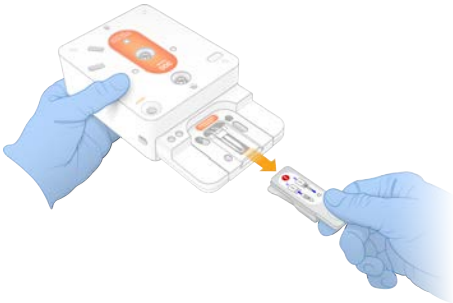
3. Akış hücrelerini, tırnağın üzerindeki etiket yukarı dönük olacak şekilde gri tırnaktan tutun.

4. Akış hücrelerini kartuşun ön kısmındaki yuvaya yerleştirmek üzere itin.

Bir tık sesi ile akış hücrelerinin yerine oturduğu belirtilir. Uygun şekilde yüklendiğinde gri tırnak kartuştan dışarı çıkar.



5. Akış hücrelerini açığa çıkarmak için gri tırnağı geri çekip çıkarın. Tırnağı geri dönüşüme atın.



Kitaplıkları Yükleme

1. Yeni bir P1000 pipet ucu kullanarak Kitaplık haznesini delin ve deliği genişletmek üzere folyoyu kenarlara doğru bastırın.
2. Kontaminasyonu önlemek için pipet ucunu atın.

3. Dağıtım işleminden önce pipet ucunu yavaşça haznenin alt kısmına indirerek haznenin *alt* kısmına 20 µl seyreltilmiş kitaplık ekleyin. Folyoya dokunmayın.



Sekanslama Çalıştırması Başlatma

Bu adımda, dört moddan birinde bir sekanslama çalıştırması başlatılır:

- **Bulut modu**—Çalıştırma, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımında planlanan çalıştırma listesinden seçilir. Sekanslama sırasında cBCL verileri BaseSpace Sekans Merkezine yüklenir. Sekanslama işleminin ardından otomatik olarak BaseSpace Sekans Merkezinde DRAGEN başlatılır.
- **Hibrit modu**—Çalıştırma, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımında planlanan çalıştırma listesinden seçilir. Sekanslama işleminin ardından otomatik olarak cihaz üzerinde analiz başlatılır. cBCL verileri ve DRAGEN ikincil analiz çıktı dosyaları seçilen çıktı klasöründe depolanır.
- **Yerel mod**—v2 dosya biçimindeki bir numune sayfası manuel olarak NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımına içe aktarılır. Sekanslama işleminin ardından otomatik olarak cihaz üzerinde analiz başlatılır. cBCL verileri ve DRAGEN ikincil analiz çıktı dosyaları seçilen çıktı klasöründe depolanır. Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama seçilirse analiz, sekanslama tamamlandıktan sonra BaseSpace Sekans Merkezi üzerinden de başlatılabilir.
- **Bağımsız mod**—cBCL verileri oluşturmak için NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımındaki talimatları uygulayarak bir çalıştırma ayarlayın.



Çalıştırma öncesi denetim veya çalıştırma sırasında vizörün açılması, çalıştırmanın arıza vermesine neden olabilir.



Yaralanmaların önüne geçmek için vizörün açılması ve kapanması sırasında ellerinizi cihazdan uzak tutun.

Bulut veya Hibrit Çalıştırma Başlatma

1. [Çalıştırma Modunu Yapılandırma, sayfa 19](#) kısmında açıklandığı şekilde çalıştırma modunu yapılandırın.
 2. **Start** (Başlat) seçeneğini belirleyin.
 3. BaseSpace Sekans Merkezi kimlik bilgilerinizi girin ve ardından **Sign In** (Oturum Aç) seçeneğini belirleyin.
 4. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini belirlediyseniz BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumunda oluşturduğunuz çalıştırmanın bulunduğu İş Grubunu seçin.
- !** Hataların oluşmaması için iş grubu seçilmelidir. Devam etmeden önce bir iş grubu seçtiğinizden emin olun.
5. **Next** (Sonraki) seçeneğini belirleyin.
 6. Çalıştırmanızı seçin.
 7. Analiz, Çalıştırma Uzunluğu ve İkincil Analiz versiyonunun doğru çalıştırma ile eşleştiğinden emin olun.
Analizde, analizin BaseSpace Sekans Merkezinde gerçekleştiğini belirten Cloud_ ifadesi görüntülenir.
 8. **Review** (İncele) seçeneğini belirleyin.
 9. **[İsteğe Bağlı]** Özel okuma primeri ve özel dizin primeri konumlarını girin.
Özel primerleri hazırlama ve ekleme hakkında bilgi için bkz. *NextSeq 1000 ve 2000 Özel Primer Kılavuzu (belge no 1000000139569)*. Illumina özel primerlerin gerekli olup olmadığını kontrol etmek üzere mutlaka kitaplık hazırlama kitiniz için Uyumlu Ürünler sayfasını ziyaret edin.
 10. **[İsteğe Bağlı]** Özel reçete seçin. Daha fazla bilgi için bkz. [Karanlık Döngüsü Sekanslaması, sayfa 96](#).
NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3'ü, Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kitini ya da Illumina Stranded mRNA Prep kitini kullanıyorsanız özel reçete seçeneği otomatik olarak seçilir.
 11. **[İsteğe Bağlı]** Kitaplıkları manuel olarak denşirmek ve seyreltmek için **Denature and Dilute On Board** (Cihaz Üzerinde Denşirme ve Seyreltme) onay kutusunun seçimini kaldırın. Bkz. *NextSeq 1000 ve 2000 Kitaplıkları Denşirme ve Seyreltme Kılavuzu (belge no 1000000139235)*.
Varsayılan seçim, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı ayarlarında yapılandırılır.
 12. **[İsteğe Bağlı]** Çıktı klasörünü değiştirmek için Output Folder (Çıktı Klasörü) alanını seçin ve yeni bir konum girin.
Çıktı Klasörü alanı varsayılan ayarlarınıza göre otomatik olarak doldurulur ve **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçilmediği sürece gereklidir. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini belirlediyseniz Save to BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace Sekans Merkezine Kaydet) alanında "Enabled" (Etkin) ifadesi görüntülenir.

Proactive and Run Monitoring (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme) seçeneğini belirlediyseniz Save to BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace Sekans Merkezine Kaydet) alanında "Disabled" (Etkin Değil) ifadesi görüntülenir.

13. Çalıştırma bilgilerinizi inceleyin ve ardından **Prep** (Hazırlık) seçeneğini belirleyin.

Yerel Çalıştırma Başlatma

1. [Çalıştırma Modunu Yapılandırma, sayfa 19](#) kısmında açıklandığı şekilde çalıştırma modunu yapılandırın.
2. **Start** (Başlat) seçeneğini belirleyin.
3. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini ya da Proactive and Run Monitoring (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme) seçeneğini belirlediyseniz BaseSpace Sekans Merkezi oturum açma kimlik bilgilerinizi girin ve ardından **Sign In** (Oturum Aç) ögesini seçin.
4. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini belirlediyseniz çalıştırmanızı kaydedeceğiniz BaseSpace Sekans Merkezi İş Grubunu ve ardından **Next** (Sonraki) ögesini seçin.

! Hataların oluşmaması için iş grubu seçilmelidir. Devam etmeden önce bir iş grubu seçtiğinizden emin olun.

5. Start With Sample Sheet (Numune Sayfasıyla Başla) seçeneğinin altında yer alan **Choose...** (Seç...) ögesini seçin ve NextSeq 1000/2000 cihazında, taşınabilir sürücüde ya da takılı ağ sürücüsünde v2 biçimindeki numune sayfasına gidin. Numune sayfası dosyası adında özel karakterler bulunamaz. NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3 otomatik olarak numune sayfasından DRAGEN versiyonunu saptar ve gerekiyorsa versiyonları değiştirmenizi belirtir. DRAGEN versiyonu sistemde yüklü olmalıdır. Kurulum bilgileri için bkz. [Yazılım Güncellemeleri, sayfa 71](#) (Yazılım Güncellemeleri).
 - **Instrument Run Setup Used** (Cihaz Çalıştırma Kurulumu Kullanılıyor)—Numune sayfası v2'yi ve destekleyici dosyaları içeren .zip klasörünü seçin. Alternatif olarak numune sayfası v2'yi seçin.
 - **Instrument Run Setup Not Used** (Cihaz Çalıştırma Kurulumu Kullanılmıyor)—İkincil analiz destekleyici dosyasının numune sayfası v2 ile aynı dizinde olduğundan emin olun.

i Seçilen numune sayfası v2 biçiminde olmalıdır. Numune sayfası v2 oluşturmak için oluşturulan numune sayfasını BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumundan indirin veya NextSeq 1000/2000 destek sayfasında sağlanan bir numune sayfası v2 şablonunu düzenleyin. Numune sayfası v2 biçimi ve gereklilikleri hakkında daha fazla bilgi için bkz. [Numune Sayfası v2 Ayarları, sayfa 83](#). Numune sayfasında referansta bulunulan tüm dosyaların numune sayfası ile aynı klasörde bulunduğundan emin olun.

6. **Review** (İncele) seçeneğini belirleyin.
7. **[İsteğe Bağlı]** Özel okuma primeri ve özel dizin primeri konumlarını girin.

Özel primerleri hazırlama ve ekleme hakkında bilgi için bkz. *NextSeq 1000 ve 2000 Özel Primer Kılavuzu (belge no 1000000139569)*. Illumina özel primerlerin gerekli olup olmadığını kontrol etmek üzere mutlaka kitaplık hazırlama kitiniz için Uyumlu Ürünler sayfasını ziyaret edin.

8. **[İsteğe Bağlı]** Özel reçete seçin. Daha fazla bilgi için bkz. [Karanlık Döngüsü Sekanslaması, sayfa 96](#). NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3'ü, Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kitini ya da Illumina Stranded mRNA Prep kitini kullanıyorsanız özel reçete seçeneği otomatik olarak seçilir.
9. **[İsteğe Bağlı]** Kitaplıkları manuel olarak denşirmek ve seyreltmek için **Denature and Dilute On Board** (Cihaz Üzerinde Denşirme ve Seyreltme) onay kutusunun seçimini kaldırın. Bkz. *NextSeq 1000 ve 2000 Kitaplıkları Denşirme ve Seyreltme Kılavuzu (belge no 1000000139235)*. Varsayılan seçim, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı ayarlarında yapılandırılır.
10. **[İsteğe Bağlı]** Çıktı klasörünü değiştirmek için Output Folder (Çıktı Klasörü) alanını seçin ve yeni bir konum girin.
Çıktı Klasörü alanı varsayılan ayarlarınıza göre otomatik olarak doldurulur ve Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçilmediği sürece gereklidir. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini belirlediyseniz Save to BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace Sekans Merkezine Kaydet) alanında "Enabled" (Etkin) ifadesi görüntülenecektir.
Proactive and Run Monitoring (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme) seçeneğini belirlediyseniz Save to BaseSpace Sequence Hub (BaseSpace Sekans Merkezine Kaydet) alanında "Disabled" (Etkin Değil) ifadesi görüntülenir.
11. Çalıştırma bilgilerinizi inceleyin ve ardından **Prep** (Hazırlık) seçeneğini belirleyin.

Bağımsız Çalıştırma Başlatma

1. [Çalıştırma Modunu Yapılandırma, sayfa 19](#) kısmında açıklandığı şekilde çalıştırma modunu yapılandırın.
2. **Start** (Başlat) seçeneğini belirleyin.
3. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini ya da Proactive and Run Monitoring (Proaktif ve Çalıştırmayı İzleme) seçeneğini belirlediyseniz BaseSpace Sekans Merkezi oturum açma kimlik bilgilerinizi girin ve ardından **Sign In** (Oturum Aç) ögesini seçin.
4. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini belirlediyseniz çalıştırmanızı kaydedeceğiniz BaseSpace Sekans Merkezi İş Grubunu ve ardından **Next** (Sonraki) ögesini seçin.
5. **Set Up New Run** (Yeni Çalıştırma Ayarla) seçeneğini belirleyin.
6. Geçerli çalıştırmayı belirlemek için Run Name (Çalıştırma Adı) alanına tercih ettiğiniz benzersiz bir ad girin.
Çalıştırma adı alfanumerik karakterleri, kesik çizgileri, tire işaretlerini ve alt çizgileri içerebilir.

7. Read Type (Okuma Türü) için gerçekleştirilecek sekanslama okumalarının sayısını seçin:
- **Single Read** (Tek Okuma)—Tek okuma gerçekleştirme, daha hızlı ve basit olan seçenektir.
 - **Paired End** (Çift Sonlu)—İki okuma gerçekleştirme, buradaki uyuma daha yüksek kaliteli veriler oluşturur ve daha doğru hizalama sağlar.
8. Her okumada gerçekleştirilen döngü sayısını girin:
Dizin döngüleri için belirlenen bir maksimum sayı yoktur ancak okuma döngülerinin ve dizin döngülerinin toplamı, kartuş etiketinde belirtilen döngü sayısına 27 eklendiğinde elde edilen değerden az olmalıdır.

Read 1 (Okuma 1)—**1–151** döngü girin.

Index 1 (Dizin 1)—Dizin 1 (i7) primeri için döngü sayısını girin. Yalnızca PhiX çalıştırması için her iki dizin alanına **0** girin.

Index 2 (Dizin 2)—Dizin 2 (i5) primeri için döngü sayısını girin.

Read 2 (Okuma 2)—En fazla **151** döngü girin. Bu değer tipik olarak Okuma 1 değeri ile aynıdır.

9. Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneğini belirlediyseniz bir numune sayfasını içe aktarmak için **Choose...** (Seç...) ögesini seçin.
NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3 otomatik olarak numune sayfasından DRAGEN versiyonunu saptar ve gerekiyorsa versiyonları değiştirmenizi belirtir. DRAGEN versiyonu sistemde yüklü olmalıdır. Kurulum bilgileri için bkz. [Yazılım Güncellemeleri, sayfa 71](#) (Yazılım Güncellemeleri).

i | Seçilen numune sayfası v2 biçiminde olmalıdır. Numune sayfası v2 oluşturmak için oluşturulan numune sayfasını BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumundan indirin veya NextSeq 1000/2000 destek sayfasında sağlanan bir numune sayfası v2 şablonunu düzenleyin. Numune sayfası v2 biçimi ve gereklilikleri hakkında daha fazla bilgi için bkz. [Numune Sayfası v2 Ayarları, sayfa 83](#). Numune sayfasında referansta bulunulan tüm dosyaların numune sayfası ile aynı klasörde bulunduğundan emin olun.

10. **[İsteğe Bağlı]** Özel okuma primeri ve özel dizin primeri konumlarını girin.
Özel primerleri hazırlama ve ekleme hakkında bilgi için bkz. *NextSeq 1000 ve 2000 Özel Primer Kılavuzu (belge no 1000000139569)*. Illumina özel primerlerin gerekli olup olmadığını kontrol etmek üzere mutlaka kitaplık hazırlama kitiniz için Uyumlu Ürünler sayfasını ziyaret edin.
11. **[İsteğe Bağlı]** Özel reçete seçin. Daha fazla bilgi için bkz. [Karanlık Döngüsü Sekanslaması, sayfa 96](#)
12. **[İsteğe Bağlı]** Kitaplıkları manuel olarak denşirmek ve seyreltmek için **Denature and Dilute On Board** (Cihaz Üzerinde Denşirme ve Seyreltme) onay kutusunun seçimini kaldırın. Bkz. *NextSeq 1000 ve 2000 Kitaplıkları Denşirme ve Seyreltme Kılavuzu (belge no 1000000139235)*.
Varsayılan seçim, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı ayarlarında yapılandırılır.
13. **[İsteğe Bağlı]** Çıktı klasörünü değiştirmek için Output Folder (Çıktı Klasörü) alanını seçin ve yeni bir konum girin.
Çıktı Klasörü alanı varsayılan ayarlarınıza göre otomatik olarak doldurulur ve Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçilmediği sürece gereklidir.

14. **Prep** (Hazırlık) seçeneğini belirleyin.

Sarf Malzemelerini Cihaza Yükleme

1. Akış hücresi yüklenmeden önce (gri tırnak çıkarılmış) kartuşun buzunun çözdürüldüğünden ve 10 kez ters çevrildiğinden ve kitaplığın seyreltiğinden emin olun.
2. **Load** (Yükle) seçeneğini belirleyin.
NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı vizörü açar ve tavayı çıkarır.
3. Kartuşu tavanın üzerine, etiket yukarı dönük olacak ve akış hücresi cihazın içinde olacak şekilde yerleştirin. Kartuşu yerine oturana dek itin.



4. Kartuşu geri çekmek ve vizörü kapatmak üzere **Close** (Kapat) seçeneğini belirleyin.
NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı yaklaşık 3 dakika sonra taranan sarf malzemelerinin bilgilerini görüntüler.
5. [İsteğe Bağlı] Kartuşu çıkarmak için **Eject Cartridge** (Kartuşu Çıkar) seçeneğini belirleyin.
1 dakika sonra vizör açılır ve kartuşu çıkarır.
6. **Sequence** (Sekans) seçeneğini belirleyin.

Çalıştırma Öncesi Denetimleri

Çalıştırma öncesi denetimler bir cihaz denetimi ve ardından fluidik denetimi içerir. Fluidik denetiminde kartuş kapakları delinir ve bu, cihazdan 3-4 kez "pıt" sesinin çıkmasına neden olur. Bu beklenen bir durumdur. Bu aşamada reaktif akış hücresinden geçirilir.

! Fluidik denetimi başladıktan sonra sarf malzemeleri yeniden kullanılamaz.

1. Çalıştırma öncesi denetimlerin tamamlanması için yaklaşık 15 dakika bekleyin.
Başarıyla tamamlandıktan sonra çalıştırma otomatik olarak başlatılır.
2. Cihaz denetimi sırasında bir hata meydana gelirse denetimi yeniden yapmak için **Retry** (Yeniden Dene) seçeneğini belirleyin.
Bir denetim devam ederken denetime ilişkin bir daire görüntülenir.

3. Tekrar eden hatalara ilişkin sorun giderme adımları için bkz. [Hata Mesajının Çözümü, sayfa 77](#).

Çalıştırma İlerleme Durumunu İzleme

- Sequencing (Sekanslama) ekranında görüntülediğinde metrikleri ve çalıştırma ilerleme durumunu izleyin.
 - Estimated run completion** (Tahmini çalıştırma tamamlama zamanı)—Çalıştırmanın tahmini olarak tamamlanma tarihi ve saati. Tahmini çalıştırma tamamlama zamanı metriği, çalıştırma tamamlama zamanının doğru hesaplanması için daha önceki 10 çalıştırmayı gerektirir.
 - Average %Q30** (Ortalama Q30 %'si)—Q skoru ≥ 30 olan baz aramalarının ortalama yüzdesidir.
 - Projected Yield** (Tahmin Edilen Verim)—Çalıştırma için beklenen aranan baz sayısıdır.
 - Total Reads PF** (Filtreden Geçen Toplam Okuma)—Filtreden geçen çift sonlu (geçerliyse) kümelerin sayısı (milyon cinsinden).
 - Real Time Demux** (Gerçek Zamanlı Çoğullama Çözme)—Okuma 1, Dizin 1 ve Dizin 2 döngülerinin tamamlanmasının ardından Okuma 2 başlangıcında başlatıldığında çoğullama çözme durumu. Dizin döngüleri gerçekleştirilmese de durum Complete (Tamamlandı) olarak görüntülenecektir. Bulut modundaki çalıştırmalar için kullanılamaz.
 - Real Time Alignment** (Gerçek Zamanlı Hizalama)—Okuma 1, Dizin 1 ve Dizin 2 döngülerinin tamamlanmasının ardından Okuma 2 başlangıcında başlatıldığında Okuma 1 hizalamasının durumu. Bulut modundaki çalıştırmalar için kullanılamaz.

Q30 ve verim metrikleri 26. döngüden sonra görüntülenir (çalıştırma başlatıldıktan ~6 saat sonra).
- Çalıştırma işlemlerini izlemek için, denetim yazılımı menüsünü ve ardından **Process Management** (İşlem Yönetimi) seçeneğini belirleyin.
- Bir çalıştırmayı iptal etmek için **End Run** (Çalıştırmayı Sonlandır) seçeneğini belirleyin. Çalıştırmaları iptal etme hakkında daha fazla bilgi için bkz. [Çalıştırmayı İptal Etme, sayfa 78](#).
- Sarf malzemelerini cihazdan boşaltın. 3 gün içinde kartuşu cihazdan çıkarın.

Sarf Malzemelerini Boşaltma

- Sekanslama işlemi tamamlandığında **Kartuşu Çıkar** seçeneğini belirleyin. Yazılım, kullanılan kartuşu cihazdan çıkarır.
- Kartuşu tavadan kaldırın.
- Akış hücrelerini kartuştan çıkarın.
- Elektronik bileşenler içeren akış hücrelerini bölgenizde geçerli standartlar uyarınca imha edin.
- [İsteğe Bağlı] Kartuşun yan tarafındaki Illumina logosunun altında yer alan tahliye tapasını, yatay durumda ya da yüzünüz yerine aşağı dönük durumda olacak şekilde uygun bir alanın (ör. lavabo ya da tehlikeli sıvı atık kabı) üzerinde çıkarın. Kullanılmış reaktifleri bölgenizde geçerli standartlar uyarınca tahliye edin. Otomatik reaktif tahliyesi özelliği etkinleştirilmemişse tahliye süresi kartuş boyutuna bağlı olarak değişiklik gösterir.

! Bu reaktif seti potansiyel olarak tehlikeli kimyasallar içerir. Solunması, yutulması, ciltle ve gözle teması halinde kişisel yaralanmaya neden olabilir. Maruziyet riskine karşı göz koruması, eldivenler ve laboratuvar önlüğü dahil olmak üzere koruyucu ekipman giyin. Kullanılan reaktifleri kimyasal atık olarak ele alın ve geçerli bölgesel, ulusal ve yerel kanun ve düzenlemeler uyarınca atın. Ek çevre, sağlık ve güvenlik bilgileri için, support.illumina.com/sds.html adresindeki SDS bölümüne bakın.

6. Reaktif kartuşunu bertaraf edin.
Fluidikler kartuşla beraber atıldığından çalıştırma sonrası yıkama işleminin gerçekleştirilmesi gerekmez.
7. **Close Door** (Kapağı Kapat) seçeneğini belirleyerek tavayı yeniden yükleyin ve Ana ekrana geri dönün.
Yazılım otomatik olarak tavayı geri yükler ve sensörler kartuşun kaldırıldığını doğrular.

Kartuş Tavasını Temizleme

Kartuş tavası, yalnızca kartuş tavasına reaktif sızdırmışsa temizlenmelidir.

1. Kartuşu cihazdan çıkarın.
2. Yeni bir çift pudrasız eldiven ve ek koruyucu giysi kullanın.
3. Bir beze %10 ağartıcı solüsyonu püskürtün.
4. Bezi kullanarak kartuş tavasını silin ve ardından ağartıcı solüsyonu, ağır hizmete uygun bir bezle hemen çıkarın.
Ağartıcı, hemen çıkarılmadığı takdirde kartuş tavasında leke bırakır.
5. Kartuş tavasına %70 etanol solüsyonu püskürtün ve ağır hizmete uygun mendil kullanarak derhal çıkarın.
6. Kartuş tavasını yükleme konumuna geri ayarlayın.

Sekanslama Çıktısı

Bu bölümde, baz arama yapan, kalite skorlarını atayan ve veri çıktısı sağlayan Gerçek Zamanlı Analiz yazılımına ilişkin açıklamalar sunulmaktadır. Farklı çıktı dosyası türleri ve bir çalıştırmadan sonra bu dosyaları nerede bulabileceğiniz hakkında bilgi edinin.

Gerçek Zamanlı Analize Genel Bakış

NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemlerinde cihazın Bilgi İşlem Motorunda (CE) RTA3, yani Gerçek Zamanlı Analiz yazılımının bir uygulaması çalıştırılır. RTA3 kameradan alınan görüntülerden yoğunlukları ekstrakte eder, baz arama gerçekleştirir, baz aramalara kalite skoru atar, PhiX'e hizalama yapar ve Cihaz Denetim Yazılımında görüntülemek üzere verileri InterOp dosyalarında rapor eder.

RTA3 işleme süresini optimize etmek için bilgileri bellekte depolar. RTA3 sonlandırılırsa işleme devam etmez ve bellekte işlenmekte olan tüm çalıştırma verileri kaybolur.

RTA3 Girdileri

RTA3, işleme için kutucuk görüntülerinin yerel sistem belleğinde bulunmasını gerektirir. RTA3, çalıştırma bilgilerini ve komutları denetim yazılımından alır.

RTA3 Çıktıları

Her renkli kanala ilişkin görüntüler RTA3'e bellekte kutucuklar olarak aktarılır. RTA3, bu görüntülerden bir dizi kalite skorlu baz arama dosyası ve filtre dosyası üretir. Diğer tüm çıktılar, destekleyici çıktı dosyalarıdır.

Dosya Türü	Açıklama
Baz arama dosyaları	Analiz edilen her bir kutucuk, bitleştirilmiş bir baz arama (*.cbcl) dosyasına dahil edilir. Aynı şerit ve yüzeyden elde edilen kutucuklar her bir şerit ve yüzey için 1 *.cbcl dosyasında kümelenir.
Filtre dosyaları	Her bir kutucuk, bir kümenin filtrelerden geçip geçmediğini belirten bir filtre dosyası (*.filter) üretir.
Küme konumu dosyaları	Küme konumu (s.locs) dosyaları, bir kutucuktaki her bir kümenin X,Y koordinatlarını içerir. Küme konumu dosyası her bir çalıştırma için oluşturulur.

Çıktı dosyaları, DRAGEN ve BaseSpace Sekans Merkezinde sonraki analiz için kullanılır.

Hata İşleme

RTA3 günlük dosyaları oluşturur ve bu dosyaları Logs (Günlükler) klasörüne yazar. Hatalar, *.log dosya biçiminde bir metin dosyasına kaydedilir.

Aşağıdaki günlük dosyaları, işleme sonunda nihai çıktı hedefine aktarılır:

info_00000.log önemli çalıştırma olaylarını özetler.

error_00000.log; çalıştırma sırasında meydana gelen hataları listeler.

warning_00000.log; çalıştırma sırasında meydana gelen uyarıları listeler.

Akış Hücresi Kutucukları

Kutucuklar, akış hücresindeki küçük görüntüleme alanlarıdır. Kamera, kutucuk başına bir görüntü alır.

NextSeq 1000/2000 P2 Akış Hücresinde toplam 132 kutucuk bulunur. NextSeq 1000/2000 P3 Akış Hücresinde toplam 264 kutucuk bulunur.

Tablo 5 Akış Hücresi Kutucukları

Akış Hücresi Bileşeni	NextSeq 1000/2000 P2 Akış Hücresi	NextSeq 1000/2000 P3 Akış Hücresi	Açıklama
Şeritler	1	2	Şeritler optik olarak ayrıdır ancak fluidik açısından ayrı kanallar değildir.
Yüzeyler	2	2	P2 ve P3 akış hücreleri iki yüzeyde görüntülenir: üst ve alt. Bir kutucuğun önce üst yüzeyi görüntülenir.
Şerit başına düşen yataklar	6	6	Yatak, bir akış hücresi şeridindeki bir sütundur.
Yatak başına düşen kutucuklar	11	11	Kutucuk, yatağın bir bölümü olup akış hücresinde görüntülenen bir alanı betimler.
Oluşturulan toplam kutucuk	132	264	Şeritler × yüzeyler × yataklar × yatak başına düşen kutucuklar, toplam kutucuk sayısına eşittir.

Kutucuk Adlandırma

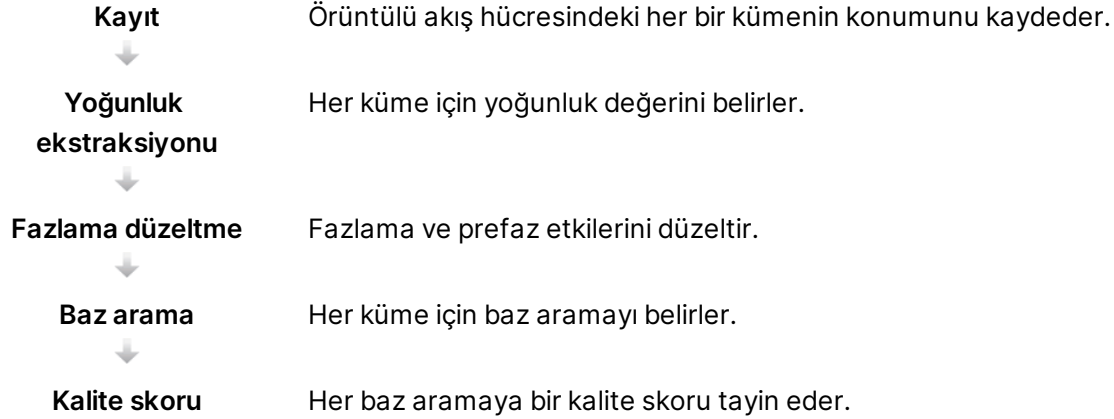
Kutucuk adı, akış hücresindeki kutucuk konumunu temsil eden dört haneli bir numaradır. Örneğin, kutucuk adı 1205 üst yüzey, yatak 2, kutucuk 05 anlamına gelir.

İlk hane yüzeyi temsil eder: üst için 1 veya alt için 2.

İkinci hane yatak numarasını temsil eder: 1, 2, 3, 4, 5 veya 6.

Son iki hane kutucuk numarasını temsil eder. Yatak numarası 1-4 için, numaralandırma akış hücresinin çıkış ucunda 01 ile başlar ve giriş ucunda 11 ile biter. Yatak numarası 5-6 için, numaralandırma giriş ucunda 01 ile başlar ve çıkış ucunda 11 ile biter.

Gerçek Zamanlı Analiz İş Akışı



Kayıt

Kayıt işlemi, bir görüntüyü örüntülü akış hücresindeki nanokuyuların döndürülen kare dizisine hizalar. Nanokuyuların sıralı olarak düzenlenmesi nedeniyle bir kutucuktaki her bir kümenin X ve Y koordinatları önceden belirlenir. Küme konumları, her bir çalıştırma için bir küme konumu (s.locs) dosyasına yazdırılır. Döngüdeki herhangi bir görüntü için kayıt işlemi başarısız olursa söz konusu döngüdeki kutucuk için hiçbir baz arama oluşturulmaz. Hangi görüntülerin kayıt işleminde başarısız olduğunu belirlemek için Sekanslama Analizi Görüntüleyiciyi kullanın.

Yoğunluk Ekstraksiyonu

Kayıt işleminin ardından yoğunluk ekstraksiyonu, belirli bir görüntüdeki her bir nanokuyu için bir yoğunluk değeri hesaplar. Kayıt başarısız olursa söz konusu kutucuk için yoğunluk ekstrakte edilemez.

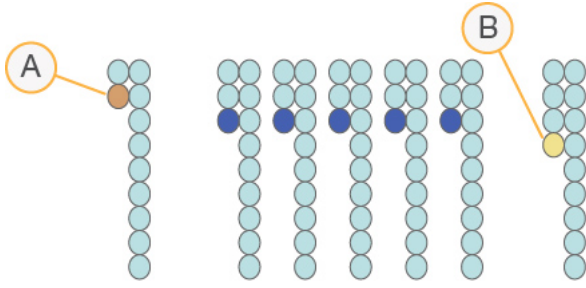
Fazlama Düzeltme

Sekanslama reaksiyonu sırasında bir kümedeki her DNA zinciri, döngü başına bir baz genişletilir. Fazlama ve prefaz, bir zincir geçerli birleşme döngüsü ile faz dışı hale geldiğinde gerçekleşir.

Fazlama, bir baz geride kaldığında gerçekleşir.

Prefaz, bir baz ileri geçtiğinde gerçekleşir.

Şekil 5 Fazlama ve Prefaz



- A. Fazlama gerçekleşen bir baz ile okuma
B. Prefaz gerçekleşen bir baz ile okuma.

RTA3 fazlama ve prefazın etkilerini düzelterek çalıştırma boyunca her döngüde veri kalitesini en yüksek düzeye çıkarır.

Baz Arama

Baz arama, belirli bir döngüde belirli bir kutucuğa ait her küme için bazı (A, C, G veya T) belirler. NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemlerinde, dört DNA bazı için veri şifrelemek üzere biri yeşil kanaldan ve biri mavi kanaldan olmak üzere yalnızca iki görüntü gerektiren iki kanallı sekanslama kullanılır.

No call, N olarak tanımlanır. No call durumu bir küme filtreden geçmediğinde, kayıt başarısız olduğunda ya da bir küme kayarak görüntüden çıktığında meydana gelir.

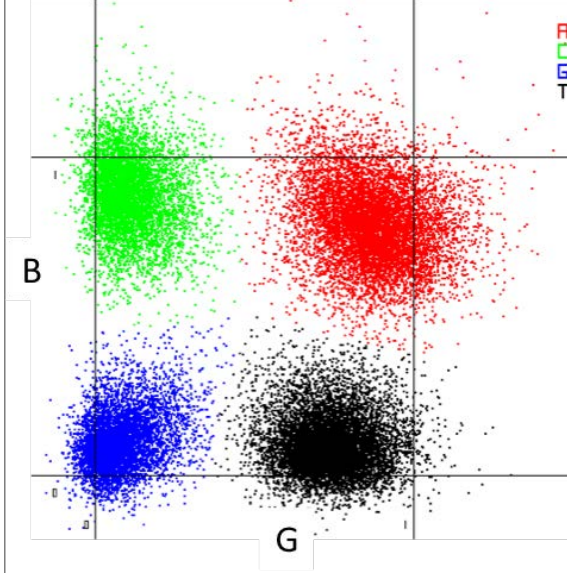
Her bir kümenin yoğunlukları, yeşil ve mavi görüntülerden ekstrakte edilip birbirleri ile karşılaştırılır ve bunun sonucunda dört ayrı popülasyon elde edilir. Her bir popülasyon bir baza karşılık gelir. Baz arama işlemi, her bir kümenin hangi popülasyona ait olduğunu belirler.

Tablo 6 2 Kanallı Sekanslamada Baz Aramaları

Baz	Yeşil Kanal	Mavi Kanal	Sonuç
A	1 (mevcut)	1 (mevcut)	Hem yeşil hem mavi kanalda yoğunluk gösteren kümeler.
C	0 (mevcut değil)	1 (mevcut)	Yalnızca mavi kanalda yoğunluk gösteren kümeler.
G	0 (mevcut değil)	0 (mevcut değil)	Bilinen bir küme konumunda yoğunluk göstermeyen kümeler.

Baz	Yeşil Kanal	Mavi Kanal	Sonuç
T	1 (mevcut)	0 (mevcut değil)	Yalnızca yeşil kanalda yoğunluk gösteren kümeler.

Şekil 6 Küme Yoğunluklarını Görselleştirme



i Her bir kümenin rengi, Sekans Analizi Görüntüleyicideki (SAV) ve BaseSpace Sekans Merkezi Döngüye Göre Çalıştırma Verileri bölümündeki Baz çizimleri %'si ile bağıntılıdır ve yeşil ve mavi kanalla bağıntılı olması amaçlanmamıştır.

Filtreden Geçen Kümeler

Çalıştırma sırasında RTA3, veri kalitesi eşiğini karşılamayan okumaları kaldırmak üzere ham verileri filtreler. Üst üste gelen ve düşük kaliteli kümeler kaldırılır.

İki kanallı sekanslama için RTA3, bir baz aramanın saflığını (yoğunluk saflık ölçümü) belirlemek üzere popülasyon temelli bir sistem kullanır. Kümeler, ilk 25 döngüde en fazla bir baz aramada, saflık bir sabit eşiğin altında olduğunda filtreden geçer (PF). Dahil edildiğinde PhiX hizalaması, filtreden geçen kümelere ilişkin bir kutucuk alt kümesinde 26. döngüde gerçekleştirilir. Filtreden geçmeyen kümeler, baz aramasına ve hizalamaya tabi tutulmaz.

Kalite Skorları

Kalite skoru (Q skoru), hatalı bir baz araması olasılığına ilişkin tahmindir. Q skorunun daha yüksek olması, baz aramanın daha yüksek kalitede olduğunu ve doğru olmasının daha olası olduğunu belirtir. Q skoru belirlendikten sonra sonuçlar, baz araması (*.cbcl) dosyalarına kaydedilir.

Q skoru, küçük hata olasılıklarını kısa ve öz bir biçimde bildirir. Kalite skorları $Q(X)$ olarak ifade edilir, burada X skordur. Aşağıdaki tabloda bir kalite skoru ile hata olasılığı arasındaki ilişki gösterilmektedir.

Q Skoru $Q(X)$	Hata Olasılığı
Q40	0,0001 (10.000'de 1)
Q30	0,001 (1000'de 1)
Q20	0,01 (100'de 1)
Q10	0,1 (10'da 1)

Kalite Skoru ve Raporlama

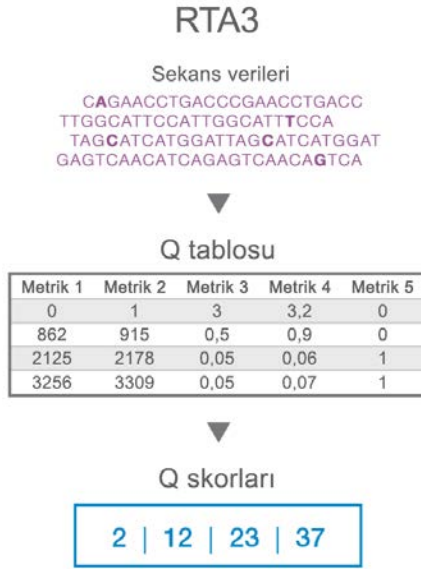
Kalite skoru, her bir baz arama için bir dizi tahmin unsurunu hesaplar ve ardından bu tahmin unsuru değerlerini kullanarak kalite tablosunda Q skorunu arar. Kalite tabloları, kimyasal versiyonu ve sekanslama platformunun belirli bir yapılandırması ile oluşturulan çalıştırmalara ilişkin optimum düzeyde doğru kalite tahminleri sunmak amacıyla tasarlanmıştır.



Kalite skoru, Phred algoritmasının değiştirilmiş bir versiyonunu temel alır.

NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri için Q tablosu oluşturmak için bu belirli tahmini özelliklerin kümelemesine göre üç baz araması grubu tayin edilmiştir. Baz aramalarının gruplanmasının ardından ortalama hata oranı, üç grubun her biri için ampirik olarak hesaplanmıştır ve karşılık gelen Q skorları, söz konusu gruba bağımlı tahmini özelliklerin yanında Q tablosuna kaydedilmiştir. Bu kapsamda, RTA3 ile yalnızca üç Q skoru elde edilmesi mümkündür ve bu Q skorları, grubun ortalama hata oranını temsil eder ([RTA3 ile Basitleştirilmiş Q Skoru, sayfa 58](#)). Genel olarak bu durum basitleştirilmiş ancak yine de yüksek düzeyde doğru kalite skorları elde edilmesini sağlar. Kalite tablosundaki üç grup marjinal (< Q15), orta (~Q20) ve yüksek kaliteli (> Q30) baz aramalarına karşılık gelir ve sırasıyla belirli 12, 23 ve 37 skorlarına atanmıştır. Ek olarak tüm no call'lar için null olan 2 skoru atanmıştır. Bu Q skoru raporlama modeli, doğruluğu veya performansı etkilemeden depolama alanını ve bant genişliği gerekliliklerini azaltır.

Şekil 7 RTA3 ile Basitleştirilmiş Q Skoru



Sekanslama Çıktısı Dosyaları

Dosya Türü	Dosya Açıklaması, Konumu ve Adı
Bitiştirilmiş Baz arama dosyaları	Analiz edilen her bir küme bitiştirilmiş baz arama dosyasına dahil edilir ve döngü, şerit ve yüzey başına bir dosyada kümelenir. Kümelenen dosya, her kümeye ilişkin bitiştirilmiş baz aramasını ve şifrelenmiş kalite skorunu içerir. Bitiştirilmiş baz arama dosyaları BaseSpace Sekans Merkezi ya da bcl2fastq2 tarafından kullanılır. Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[şerit]_[yüzey].cbcl, örneğin, L001_1.cbcl
Küme konumu dosyaları	Her bir akış hücresi için ikili bir küme konumu dosyası bir kutucuktaki kümelerin XY koordinatlarını içerir. Akış hücresinin nanokuyu düzeni ile eşleşen altıgen bir düzen koordinatları önceden tanımlar. Data/Intensities s_[şerit].locs
Filtre dosyaları	Filtre dosyası bir kümenin filtrelerden geçip geçmediğini belirtir. Filtre dosyaları 25 döngülük veri ile 26. döngüde oluşturulur. Her bir kutucuk için bir filtre dosyası oluşturulur. Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[şerit]_[kutucuk].filter

Dosya Türü	Dosya Açıklaması, Konumu ve Adı
InterOp dosyaları	İkili raporlama dosyaları, Cihaz Denetim Yazılımı ile cihaz üzerinde ya da SAV veya BaseSpace Sekans Merkezinde cihaz dışında görüntülenebilir. InterOp dosyaları çalıştırma boyunca güncellenir. InterOp klasörü
Çalıştırma bilgileri dosyası	Çalıştırmanın adını, her bir okumadaki döngü sayısını, okumanın Dizin Okuması olup olmadığını ve akış hücresindeki yatak ve kutucuk sayısını listeler. Çalıştırma bilgileri dosyası, çalıştırmanın başlangıcında oluşturulur. [Kök dizin], RunInfo.xml

DRAGEN İkincil Analiz Çıktı Dosyaları

DRAGEN Bio-IT Platformu, aşağıdaki analiz ardışık düzenlerinden birini kullanarak sekanslama çıktınızı cihaz üzerinde ilave analize tabi tutar.

- BCL Dönüştürme
- Germ Hattı
- RNA
- Zenginleştirme
- Tek Hücreli RNA
- DNA Amplikon

Bu bölümde, çıktı dosyası bilgileri dahil olmak üzere her bir DRAGEN ardışık düzenine ilişkin bilgiler sunulmaktadır. Her bir ardışık düzene özgü dosyalar oluşturmanın yanı sıra DRAGEN bir `<numune_adi>.metrics.json` dosyasında yer alan analizden metrikler sunar ve [DRAGEN BCL Dönüştürme Ardışık Düzeni, sayfa 64](#) kısmında açıklanan raporları sağlar. DRAGEN hakkında daha fazla bilgi için [DRAGEN Bio-IT Platformu destek sitesi sayfasına](#) bakın.

Tüm DRAGEN ardışık düzenleri, girdi BCL dosyalarını genişletmeyi ve çıktı BAM/CRAM dosyalarını sıkıştırma destekler.

Çıktı dosyası hususları:

- Proactive, Run Monitoring and Storage (Proaktif, Çalıştırmayı İzleme ve Depolama) seçeneği belirlenmişse cihaz üzerinde analiz gerçekleştiren Germ Hattı, RNA, Zenginleştirme ve DNA Amplikon ardışık düzenleri için BAM dosyaları BaseSpace Sekans Merkezine yüklenmeyecektir.

DRAGEN Zenginleştirme Ardışık Düzeni

DRAGEN Zenginleştirme ardışık düzeni şu özellikleri destekler. DRAGEN 3.7 veya üzeri kullanılıyorsa hem germ hattı hem somatik (yalnızca tümör) modu desteklenir.

- Numune çoğullama çözme
- Eşleme ve hizalama; sıralama ve duplikasyon işaretleme dahil

- Küçük varyant arama
- Yapısal varyant arama

Varyant arama gerçekleştirmek için, bir *.bed dosyası numune sayfasına dahil edilmeli ya da BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumunda belirtilmelidir. Yapısal varyant arama, yalnızca çift sonlu okumalar ve germ hattı modu için oluşturulur.

DRAGEN Zenginleştirme versiyon 3.8 veya üzeri kullanılıyorsa somatik modda performansı iyileştirmek için bir gürültü baseline dosyası ekleyebilirsiniz. Bkz. [Gürültü Baseline Dosyalarını İçer Aktarma, sayfa 17.](#)

Ardışık düzen, aşağıdaki çıktı dosyalarını oluşturur.

Bileşen	Tür	Çıktı Dosyası Adı
Eşleme/hizalama	BAM veya CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <numune_adi>.bam veya • <numune_adi>.cram
Küçük varyant arama	VCF ve gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • <numune_adi>.hard-filtered.gvcf.gz • <numune_adi>.hard-filtered.vcf.gz
Yapısal varyant arama	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <numune_adi>.sv.vcf.gz

* gVCF çıktı dosyaları yalnızca germ hattı modu için kullanılabilir.

DRAGEN Germ Hattı Ardışık Düzeni

DRAGEN Germ Hattı ardışık düzeni şu özellikleri destekler:

- Numune çoğullama çözme
- Eşleme ve hizalama; sıralama ve duplikasyon işaretleme dahil
- Küçük varyant arama
- Çift sonlu okumalar için yapısal varyant arama
- İnsan genomları için kopya sayısı varyantı arama
- İnsan genomları için tekrar ekspansiyonları
- İnsan genomları için homozigote bölgeleri
- **[DRAGEN v3.8 veya üzeri]** CYP2D6 saptama

Yapısal varyant arama, yalnızca çift sonlu okumalar için oluşturulur.

Ardışık düzen, aşağıdaki çıktı dosyalarını oluşturur.

Bileşen	Tür	Çıktı Dosyası Adı
Eşleme/hizalama	BAM veya CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.bam veya <numune_adi>.cram
Küçük varyant arama	VCF ve gVCF	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.hard-filtered.gvcf.gz <numune_adi>.hard-filtered.vcf.gz
Yapısal varyant arayıcı	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.sv.vcf.gz
Kopya sayısı varyantları	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.cnv.vcf.gz
Tekrar ekspansiyonu	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.repeats.vcf.gz
Homozigozite Bölgeleri	CSV ve BED	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.roh_metrics.csv <numune_adi>.roh.bed
CYP2D6 Saptama	TSV	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.cyp2d6.tsv

DRAGEN DNA Amplikon Ardışık Düzeni

DRAGEN ardışık düzeni şu özellikleri destekler:

- Numune çoğullama çözme
- Eşleme ve hizalama; sıralama ve duplikasyon işaretleme dahil
- Germ hattı veya somatik modunda küçük varyant arama.

Varyant arama gerçekleştirmek için, bir *.bed dosyası numune sayfasına dahil edilmeli ya da BaseSpace Sekans Merkezinde Cihaz Çalıştırma Kurulumunda belirtilmelidir.

Ardışık düzen, aşağıdaki çıktı dosyalarını oluşturur.

Bileşen	Tür	Çıktı Dosyası Adı
Eşleme/hizalama	BAM veya CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.bam veya <numune_adi>.cram
Küçük varyant arama	VCF ve gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <numune_adi>.hard-filtered.gvcf.gz <numune_adi>.hard-filtered.vcf.gz

* gVCF çıktı dosyaları yalnızca germ hattı modunda kullanılabilir.

DRAGEN RNA Ardışık Düzeni

DRAGEN RNA ardışık düzeni şu özellikleri destekler:

- Numune çoğullama çözme
- Eşleme ve hizalama; sıralama ve duplikasyon işaretleme dahil
- Gen füzyonu saptaması
- Transkript miktar tayini

- [DRAGEN v3.8 veya üzeri] Diferansiyel gen ifadesi

Çıktı dosyaları oluşturmak için, numune sayfasında bir GTF dosyası belirtin veya varsayılan `genes.gtf.gz` ögesinin referans genom ile birlikte mevcut olduğundan emin olun.

Ardışık düzen, aşağıdaki çıktı dosyalarını oluşturur.

Bileşen	Tür	Çıktı Dosyası Adı	Açıklama
Eşleme/hizalama	BAM veya CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <numune_adi>.bam veya • <numune_adi>.cram 	SAM spesifikasyonlarını karşılayan hizalama çıktısı.
Gen füzyonu saptaması	Düz metin	<ul style="list-style-type: none"> • <numune_adi>.fusion_candidates.preliminary • <numune_adi>.fusion_candidates.final 	<ul style="list-style-type: none"> • Filtreler uygulanmadan önceki füzyon adayları. • Filtreler uygulandıktan sonraki füzyon adayları.
Transkript miktar tayini	Düz metin	<ul style="list-style-type: none"> • numune_adi.quant.genes.sf • numune_adi.quant.sf 	<ul style="list-style-type: none"> • Gen düzeyinde transkript miktar tayini sonuçları. • Tüm transkript miktar tayini sonuçları.
Diferansiyel ifade	PNG	Aşağıdaki diferansiyel ifade çıktı dosyaları tablosuna bakın.	Çıktı dosyalarının oluşturulması için numune sayfasında bir karşılaştırma ayarlanmış olmalıdır.

Diferansiyel ifade etkin olduğunda şu dosyalar çıktı olarak elde edilir.

Dosya Adı	Açıklama
Kontrol_ve_Karşılaştırma.differential_expression_metrics.csv	Diferansiyel ifade analizi metriklerini içerir

Dosya Adı	Açıklama
Kontrol_ve_ Karşılaştırma.genes.counts.csv	Kontrol ve karşılaştırma gruplarında her bir numunenin her genine eşlenen okumaların sayısını açıklar.
Kontrol_ve_ Karşılaştırma.genes.heatmap.png	Kontrol ve karşılaştırma gruplarında numuneler için diferansiyel olarak ifade edilen genlerin ifadesinin bir ısı haritasıdır. Isı haritasında yalnızca ayarlanan P değeri $< -0,05$ ile diferansiyel olarak ifade edilen genler gösterilir. 30'dan fazla diferansiyel olarak ifade edilen gen varsa yalnızca diferansiyel olarak ifade edilen ilk 30 gen kullanılır. DESeq1 yakınsayamazsa veya diferansiyel olarak ifade edilen hiçbir gen olmazsa dosya oluşturulmaz.
Kontrol_ve_ Karşılaştırma.genes.ma.png	Ortalama sinyal yoğunluğu fonksiyonu olarak gen ifadesi oranlarının varyasyonunu içerir. İki numunede alınan ölçümler arasındaki farkları göstermek için çizim, verileri M (logaritmik oran) ve A (ortalama) ölçeklerine dönüştürür ve ardından değerlerin çizimi oluşturulur. MA çizimi, tüm numuneler için normalleştirilmiş sayımların ortalamasının üzerindeki belirli bir değişken ile ilişkilendirilebilir \log_2 kat değişimleri gösterir. Ayarlanan P değeri 0,1'in altındaysa noktalar kırmızıdır. Pencerenin dışında kalan noktalar açık üçgenler olarak çizilir. Yukarı dönük üçgenler, pozitif logaritmik kat değişimini temsil eder. Aşağı dönük üçgenler, negatif logaritmik kat değişimini temsil eder.
Kontrol_ve_ Karşılaştırma.genes.pca.png	Çizimde, en çok varyansı açıklayan ilk iki başlıca bileşen görüntülenir.
Kontrol_ve_ Karşılaştırma.genes.res.csv	Ortalama ifadeyi, \log_2 'yi (kat değişimi), standart \log_2 hatasını, P değerini, ayarlanan P değerini ve her bir genin ifade durumunu açıklayan DESeq2 sonuçlarını içerir.
Kontrol_ve_ Karşılaştırma.genes.rlog.csv	DESeq2 ile hesaplanan düzenlenmiş logaritmik dönüşümlü sayımları içerir.

DRAGEN Tek Hücreli RNA Ardışık Düzeni

DRAGEN şu özellikleri destekler:

- Numune çoğullama çözme

- Eşleme ve hizalama; sıralama ve duplikasyon işaretleme dahil
- Hücre ve gen sınıflandırması

Çıktı dosyaları oluşturmak için, numune sayfasında bir GTF dosyası belirtin veya varsayılan `genes.gtf.gz` ögesinin referans genom ile birlikte mevcut olduğundan emin olun.

Ardışık düzen, aşağıdaki çıktı dosyalarını oluşturur.

Bileşen	Tür	Çıktı Dosyası Adı
Eşleme/hizalama	BAM veya CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <numune_adi>.bam veya • <numune_adi>.cram
Hücre/gen sınıflandırması	TSV, CSV ve MTX	<ul style="list-style-type: none"> • <numune_adi>.scrna.barcodeSummary.tsv • <numune_adi>.scrna.genes.tsv • <numune_adi>.scrna.matrix.mtx
Analiz raporları	HTML	<numune_adi>.dragen.scrna-report.*.html

DRAGEN BCL Dönüştürme Ardışık Düzeni

DRAGEN BCL Dönüştürme ardışık düzeni, sekanslama çalıştırmanızdan ve numune sayfası bilgilerinden oluşturulan BCL verilerini kullanarak her bir numune için bir FASTQ dosyası çıktısı oluşturur. FASTQ dosyasının adı <numune_adi>.fastq.gz şeklindedir.

Ardışık düzen, aşağıdaki raporları oluşturur.

Bileşen	Tür	Çıktı Dosyası Adı
Çoğullama çözme	CSV	• Demultiplex_Stats.csv
Adaptör metrikleri	CSV	• Adapter_Metrics.csv
Dizin atlama (hopping)	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv
Bilinmeyen üst barkodlar	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv

Çoğullama Çözme İstatistik Raporu

Çoğullama çözme istatistik raporu, numune sayfasında her bir numuneye atanan filtreden geçen okumaların sayısı hakkında bilgi içerir. Bir numune ile açıkça ilişkilendirilmemiş tüm okumalar belirsiz olarak sınıflandırılır. Rapor her bir numuneye atanan filtreden geçen (PF) okumalardaki bazların kalite skorları hakkında da bilgi içerir.

Aşağıdaki bilgiler dahildir.

Metrik	Açıklama
Lane	Numunenin sekanslandığı akış hücresindeki şerittir.
SampleID	Numune sayfasından elde edilen numune numarasıdır. Bir okumanın numuneye karşılık gelmediği durumlarda alanda <code>undetermined</code> (belirsiz) ifadesi görüntülenir.
Index	Aralarında tire işareti ile birlikte numune sayfasındaki Dizin Okuması 1 ve Dizin Okuması 2 bitişmesidir. Bir okumanın numuneye karşılık gelmediği durumlarda alanda <code>undetermined</code> (belirsiz) ifadesi görüntülenir.
# Reads	Belirtilen şeritte numune için çoğullama çözme işlemi gerçekleştirilen PF okumaların sayısıdır.
# Perfect Index Reads	Numune sayfasında belirtilen birleştirilmiş dizin sekansları ile mükemmel düzeyde eşleşen okumaların sayısıdır.
# One Mismatch Index Reads	Numune sayfasında belirtilen birleştirilmiş dizin sekansları ile bir hatayla eşleşen okumaların sayısıdır.
# of \geq Q30 Bases (PF)	Q30 kalite eşiğini geçen okumalara karşılık gelen bazların sayısıdır (adaptörler dahildir).
Mean Quality Score (PF)	Belirtilen şeritte numuneye karşılık gelen okumalar için ortalama kalite skorudur. Değere adaptör bazları dahildir.

Adaptör Metrikleri Raporu

Adaptör metrikleri raporu, her bir okuma ile ilişkili adaptör ve numune bazlarının sayısını içerir.

Aşağıdaki bilgiler dahildir.

Metrik	Açıklama
Lane	Numunenin sekanslandığı akış hücresindeki şerittir.
Sample_ID	Numune sayfasından elde edilen numune numarasıdır. Bir okumanın numuneye karşılık gelmediği durumlarda alanda <code>undetermined</code> (belirsiz) ifadesi görüntülenir.
index	Numune sayfasındaki index1 sekansıdır. Numune sayfasında dizin belirtilmemişse ya da numune numarası değeri <code>undetermined</code> (belirsiz) ise bu alan boştur.
index2	Numune sayfasındaki index2 sekansıdır. Numune sayfasında index2 belirtilmemişse ya da numune numarası değeri <code>undetermined</code> (belirsiz) ise bu alan boştur.
R1_AdapterBases	Numune sayfasında AdapterRead1'e karşılık gelen bazların sayısıdır.

Metrik	Açıklama
R1_ SampleBases	Karşılık gelen şerit ve numune için Okuma 1'den kesilen ya da maskelenen bazların sayısıdır.
R2_ AdapterBases	Numune sayfasında AdapterRead2'ye karşılık gelen bazların sayısıdır.
R2_ SampleBases	Karşılık gelen şerit ve numune için Okuma 2'den kesilen ya da maskelenen bazların sayısıdır.
# Reads	Belirtilen şeritte numune için okumaların sayısıdır.

Dizin Atlama Sayımı Raporu

Dizin atlama sayımı raporu, çift dizinli çalıştırmalar için beklenen ve atlanan her bir dizinin okuma sayısını içerir. Rapor yalnızca herhangi bir dizinde barkod çarpışmasının saptanmadığı şerit başına benzersiz çift dizinleri içerir. Bir şerit için dizin atlama metrikleri oluşturmak için, her bir dizindeki her giriş çiftinde en az 2N+1 hamming mesafesi olmalıdır; burada N, dizin için belirtilen barkod uyumsuzluğu toleransını temsil eder.

Aşağıdaki bilgiler dahildir.

Dizinlenmeyen çalıştırmalar, tek dizin çalıştırmaları veya benzersiz çift dizinler içermeyen şeritler söz konusu olduğunda dosya yalnızca başlıkları içerir.

Metrik	Açıklama
Lane	Numunenin sekanslandığı akış hücresindeki şerittir.
# Reads	Belirtilen şeritte numune için okumaların sayısıdır.
SampleID	Numune sayfasından elde edilen numune numarasıdır. Bir okumanın numuneye karşılık gelmediği durumlarda alanda <code>undetermined</code> (belirsiz) ifadesi görüntülenir.
index	Numune sayfasındaki index1 sekansıdır. Bir okuma tek sonluysa ya da numune numarası değeri <code>undetermined</code> (belirsiz) ise alan boştur.
index2	Numune sayfasındaki index2 sekansıdır. Bir okuma tek sonluysa ya da numune numarası değeri <code>undetermined</code> (belirsiz) ise alan boştur.

Bilinmeyen Üst Barkodlar Raporu

Bilinmeyen üst barkodlar raporu, izin verilen uyumsuzluk sayısına göre numune sayfasında tanımlanmamış en üstteki 100 dizini ya da şerit başına dizin çiftini içerir. En yüksek 100. dizin sayımı girişi olarak birden fazla dizin değerine yer verilmesi durumunda aynı sayıma sahip tüm dizin değerleri 100. giriş olarak belirtilir.

Aşağıdaki bilgiler dahildir:

Metrik	Açıklama
Lane	Numunenin sekanslandığı akış hücresindeki şerittir.
index	Dizin Okuması 1'de her bir bilinmeyen dizinin sekansıdır. Hiçbir bilinmeyen dizin yoksa alan boştur.
index2	Dizin Okuması 2'de her bir bilinmeyen dizinin sekansıdır. Çalıştırma tek okuma ise ya da bulunan hiçbir bilinmeyen dizin yoksa alan boştur.
# Reads	Belirtilen şeritte numune için okumaların sayısıdır.

Illumina DRAGEN KK Raporları

Tüm ardışık düzenler için DRAGEN FastQC varsayılan olarak KK çizimleri oluşturur. Kümelenmiş KK sonuçları `AggregatedFastqcMetrics` klasöründe depolanır ve numune başına sonuçlar `<numune_adi>` klasöründe depolanır.

KK raporları, numune sayısı 512'den fazlaysa oluşturulmaz.

Aşağıdaki KK çizimleri sağlanır.

KK Çizimi	Açıklama
adapter_content	Her bir baz çifti için sekansların yüzdesidir.
positional_mean_quality	Her bir okuma konumu için Phred ölçeğinde ortalama baz kalitesi skorudur.
gc_content	Her bir sekanslama okuması için GC içeriğinin yüzdesidir.
positional_quality.read_1	Okuma 1'de belirli bir konumda olan ve belirli bir nükleotid içeren bazların Phred ölçeğinde ortalama kalite değeridir.
gc_quality	
positional_quality.read_2	Okuma 2'de belirli bir konumda olan ve belirli bir nükleotid içeren bazların Phred ölçeğinde ortalama kalite değeridir.
n_content	
read_length	Her bir okuma için sekans uzunluğudur.
positional_base_content.read_1	Okuma 1'de belirli konumlardaki her bir belirli nükleotidin baz sayısıdır.
read_quality	Her bir sekanslama okuması için Phred ölçeğinde ortalama kalite skorudur.

KK Çizimi	Açıklama
positional_base_content.read_2	Okuma 2'de belirli konumlardaki her bir belirli nükleotidin baz sayısıdır.

DRAGEN İkincil Analiz Çıktı Klasörü Yapısı

DRAGEN, varsayılan olarak Settings (Ayarlar) sekmesinde belirlenen çıktı klasöründe çıktı dosyaları oluşturur. DRAGEN her bir iş akışı için `report.html` dosyasında bir özet rapor oluşturur.

📁 Data

📄 report.html

📄 report_files

📁 AggregateFastQCPlots

📄 *.png

📄 *stderr_.txt

📄 *stdout_.txt

📄 dragen_prev_48_hrs.log

📄 dlm_prev_48_hrs.log

📄 Samplesheet.csv

📄 Çalıştırma girdi dosyaları (ör. BED, GTF dosyaları)

📁 numune_adi

📁 enrich_caller , germline_seq, dna_amplicon_seq, rna_seq veya scrna_seq

📁 numune_adi

📄 *.png

📄 dragen_*.log

📄 numune_adi.*.metrics.csv

📄 [DNA] numune_adi.*.vcf.gz

📄 [DNA] numune_adi.*.gvcf.gz—DRAGEN Bio-IT Platformu Amplikon (somatik) ardışık düzeni için kullanılamaz.

📄 numune_adi.*.bam veya numune_adi.*.cram

📄 Logs

📄 [RNA] numune_adi.fusion_candidates.filter_info

📄 [RNA] numune_adi.fusion_candidates.final

- 📄 [RNA] numune_adi.quant.genes.sf
- 📄 [RNA] numune_adi.quant.sf
- 📄 numune_adi.metrics.json
- 📄 [scRNA] sample_dragen-scRNA-report.*.html
- 📄 [scRNA] numune_adi.scRNA.barcodeSummary.tsv
- 📄 [Germ hattı] numune_adi.roh_metrics.csv
- 📄 [Germ hattı] numune_adi.roh.bed
- 📄 [Germ hattı] numune_adi.cyp2d6.tsv
- 📄 numune_adi.fastqc_metrics.csv
- 📄 numune_adi.trimmer_metrics.csv

📁 [RNA] DifferentialExpression

📁 Comparison1

- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.differential_expression_metrics.csv
- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.genes.counts.csv
- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.genes.disp.pdf
- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.genes.heatmap.pdf
- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.genes.ma.pdf
- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.genes.pca.pdf
- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.genes.res.csv
- 📄 Kontrol_ve_Karşılaştırma.genes.rlog.csv

📁 ComparisonN

📁 logs

- 📄 *.txt
- 📄 *.csv

📁 **fastq**—Yalnızca KeepFastq "true" olarak ayarlandığında kullanılabilir.

- 📄 *.fastq.gz

📁 **ora_fastq**—Yalnızca FastqCompressionFormat "dragen" olarak ayarlandığında kullanılabilir.

- 📄 *.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—Yalnızca çift sonlu okumalar içindir.

0001

dataset.json

0002

dataset.json

Adapter_Metrics.csv

Demultiplex_Stats.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Read1Metrics—Yalnızca çift sonlu okumalar içindir.

Adapter_Metrics.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Bakım

Bu bölümde, sistemin sağlıklı bir şekilde korunabilmesi için gerekli prosedürler açıklanmaktadır. Yazılım güncellemelerini yüklemeyi, hava filtresini değiştirmeyi ve diğer periyodik bakım prosedürlerini gerçekleştirmeyi öğrenin. Denetim yazılımının güncelliğinin sağlanması, sisteminizin optimum performans için en son hata düzeltmelerini ve özelliklerini içermesini sağlar.

Sabit Disk Alanını Temizleme

Sekanslama çalıştırması yaklaşık 200 GB yerel sabit disk alanı gerektirir. Alan azaldığında bir uyarı bildirimini görüntülenir. Tamamlanan çalıştırmaları ve yüklü referans genomları bir geçici çalışma klasöründen silerek alanı temizlemek için aşağıdaki adımları uygulayın.

! | Çalıştırmaları, işletim sistemi aracılığıyla manuel olarak silmek yerine yalnızca NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımını kullanarak silin. Çalıştırmaların manuel olarak silinmesi denetim yazılımını olumsuz etkileyebilir.

1. Denetim yazılımı menüsünden, **Disk Management** (Disk Yönetimi) seçeneğini belirleyin. Disk Management (Disk Yönetimi) ekranında, yerel sabit diske kaydedilen çalıştırmaların ve referans genomların bir listesi görüntülenir.
2. Silmek istediğiniz çalışma için, **Delete Run** (Çalıştırmayı Sil) seçeneğini belirleyin. Çalıştırma silindiğinde yerel çalışma klasörü silinir. Çalıştırma klasörünün bir kopyası olan çıktı klasörü korunur.
3. İletişim kutusunda, çalıştırmayı silme işlemi onaylamak için **Yes, Delete Run** (Evet, Çalıştırmayı Sil) seçeneğini belirleyin.
4. Silmek istediğiniz her bir çalışma için, 2 ve 3. adımı tekrarlayın.
5. Silmek istediğiniz genom için **Delete Genome** (Genomu Sil) seçeneğini belirleyin.
6. İletişim kutusunda **Yes, Delete Genome** (Evet, Genomu Sil) seçeneğini belirleyin.
7. Silmek istediğiniz her bir genom için, 5 ve 6. adımı tekrarlayın.
8. İşlemi tamamladığınızda Ana ekrana geri dönmek üzere Disk Management'ı (Disk Yönetimi) kapatın.

Yazılım Güncellemeleri

Yazılım güncellenmesi, sisteminizin en son özellikleri ve düzeltmeleri içermesini sağlar. Yazılım güncellemeleri, aşağıdaki yazılımı içeren bir sistem ürün seti ile birlikte gelir:

- NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı
- NextSeq 1000/2000 reçeteleri
- Evrensel Kopya Hizmeti

- Gerçek Zamanlı Analiz

i | DRAGEN modülleri sistem ürün setine dahil değildir. Bunları gerekli olduğunda ayrıca yükleyin. DRAGEN modülü yazılımına destek sayfalarından erişin.

Sistem, yazılım güncellemelerini otomatik veya manuel olarak indirmek üzere yapılandırılmıştır:

- **Otomatik güncellemeler**—Güncellemeler, yüklemeniz için BaseSpace Sekans Merkezinden otomatik olarak indirilir. Bu seçenek internet bağlantısı gerektirir ancak BaseSpace Sekans Merkezi hesabı gerektirmez.
- **Manuel güncellemeler**—Güncellemeler manuel olarak webden indirilir, yerel olarak ya da taşınabilir bir sürücüye kaydedilir ve kaydedilen konumdan yüklenir. Bu seçenek cihazın internet bağlantısının olmasını gerektirmez.

Otomatik Yazılım Güncellemesi Yükleme

1. Devam eden hiçbir sekanslama çalışması ya da cihaz üzerinde ikincil analiz olmadığından emin olun.
2. ilmnadmin hesabında oturum açın.
3. Denetim yazılımı menüsünden **Software Update** (Yazılım Güncellemesi) seçeneğini belirleyin. Otomatik güncellemeler için yapılandırılan sistemler, bir yazılım güncellemesi kullanılabilir olduğunda uyarı verir.
4. Güncelleme olup olmadığını kontrol etmek için **Check Online for Software Update** (Yazılım Güncellemelerini Çevrimiçi Kontrol Et) seçeneğini belirleyin.
5. Yeni yazılım versiyonunu indirmek için **Update Now** (Şimdi Güncelle) seçeneğini belirleyin. İndirme işlemi tamamlandığında, denetim yazılımı kapatılır ve yükleme sihirbazı görüntülenir. Denetim yazılımı otomatik olarak yeniden başlatılır. Tüm donanım yazılımı güncellemeleri, yeniden başlatma işleminin ardından otomatik olarak gerçekleştirilir.

i | Yükleme işlemi başladıktan sonra güncelleme iptal edilemez. Bir güncellemeyi yalnızca indirme sırasında iptal edebilirsiniz.

Manuel Yazılım Güncellemesi Yükleme

1. ilmnadmin hesabında oturum açın.
2. Devam eden hiçbir sekanslama çalışması ya da cihaz üzerinde ikincil analiz olmadığından emin olun.
3. Yazılım güncellemesi sunulduğunda, yükleyiciyi (*.tar.gz) [NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri destek sayfası](#) bölümünden indirin. Yükleyiciyi yerel veya taşınabilir sürücüye kaydedin.
4. Yükleyiciyi taşınabilir sürücüye kaydettiyseniz sürücüyü cihazın her iki tarafında ve arkasında yer alan bir USB 3.0 portuna takın.

- Denetim yazılımında, denetim yazılımı menüsünden **Software Update** (Yazılım Güncellemesi) seçeneğini belirleyin.
- Yükleyiciye gitmek için **Choose...** (Seç...) seçeneğini belirleyin.
- Yükleme işlemini başlatmak için **Update Now** (Şimdi Güncelle) seçeneğini belirleyin. Denetim yazılımı, yükleme işlemi sırasında meşgul göstergesi görüntüler. Denetim yazılımı otomatik olarak yeniden başlatılır. Tüm donanım yazılımı güncellemeleri, yeniden başlatma işleminin ardından otomatik olarak gerçekleştirilir.



Yükleme işlemi başladıktan sonra güncelleme iptal edilemez. Bir güncellemeyi yalnızca indirme sırasında iptal edebilirsiniz.

DRAGEN İş Akışı ve Lisans Güncellemeleri

Yalnızca sistem yöneticileri DRAGEN iş akışlarını yükleyebilir ve DRAGEN lisansını yenileyebilir.

DRAGEN Lisansını Çevrimiçi Yenileme

NextSeq 1000/2000 sisteminin internet bağlantısı varsa DRAGEN Bio-IT Platformu lisansınızı aşağıdaki biçimde güncelleyin.

- Yeni bir lisans anahtarı almak için Illumina Teknik Destek bölümü ile iletişime geçin.
- Lisansı otomatik olarak güncellemek için 24 saat bekleyin veya aşağıdaki şekilde lisansı hemen güncelleyin.
 - Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **DRAGEN** ögesini seçin.
 - Yeni bir DRAGEN lisans anahtarı olup olmadığını kontrol etmek için **Check Online** (Çevrimiçi Kontrol) seçeneğini belirleyin.
 - Varsa **Update** (Güncelle) seçeneğini belirleyin.

DRAGEN Lisansını Çevrimdışı Yenileme

NextSeq 1000/2000 sisteminin internet bağlantısı yoksa DRAGEN Bio-IT Platformu lisansınızı aşağıdaki biçimde güncelleyin.

- Yeni bir lisans anahtarı almak için Illumina Teknik Destek bölümü ile iletişime geçin. `license.zip` dosyasını yerel veya taşınabilir sürücüye kaydedin.
- *.zip dosyasını taşınabilir sürücüye kaydettiyseniz sürücüyü cihazın yanında ve arkasında yer alan bir USB 3.0 portuna takın. Cihazın arkasına erişmek için cihazı gerektiği şekilde nazikçe taşıyın.
- Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **DRAGEN** ögesini seçin.
- Choose** (Seç) ögesini seçerek *.zip dosyasına gidin ve **Open** (Aç) seçeneğini belirleyin.

DRAGEN İş Akışlarını Çevrimiçi Yükleme

NextSeq 1000/2000 sisteminin internet bağlantısı varsa DRAGEN iş akışlarını doğrudan NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımına yükleyebilirsiniz. DRAGEN iş akışlarını çevrimiçi yükleme seçeneği yalnızca NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3'te sunulmaktadır.

1. Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **Process Management** (İşlem Yönetimi) ögesini seçin.
2. Devam eden hiçbir sekanslama çalışması ya da cihaz üzerinde ikincil analiz olmadığından emin olun.
3. Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **DRAGEN** ögesini seçin.
Version (Versiyon) kısmında, Available Workflows (Kullanılabilir İş Akışları) bölümünde sistemde yüklü olan iş akışları listelenir.
4. DRAGEN iş akışlarını NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımına yüklemek için **Check Online** (Çevrimiçi Kontrol) seçeneğini belirleyin.
Her DRAGEN versiyonu ve iş akışı çevrimiçi yükleme ile uyumlu değildir. Ek iş akışları için çevrimdışı yükleme seçeneğini kullanın.
5. Yükleme istediğiniz iş akışlarının onay kutusunu seçin. Yüklü değilse önce BCL Dönüştürmenin son versiyonunu yüklediğinizden emin olun.
İş akışlarının son versiyonları ile ilgili bilgileri sürüm notlarında bulabilirsiniz.
6. Yükleme işlemi başlatmak için **Install** (Yükle) seçeneğini belirleyin.
7. Sistem parolası için ilmnadmin ifadesini girin ve **Authenticate** (Kimliği Doğrula) seçeneğini belirleyin.

DRAGEN İş Akışlarını Çevrimdışı Yükleme

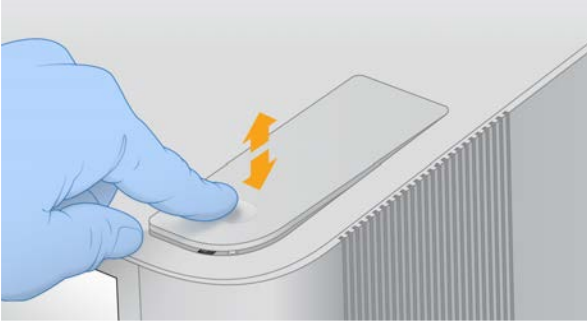
1. Bir DRAGEN iş akışı güncellemesi kullanılabilir olduğunda [DRAGEN destek sayfasından](#) yükleyiciyi (*.tar.gz) indirin. Yükleyiciyi yerel veya taşınabilir sürücüye kaydedin.
2. Yükleyiciyi taşınabilir sürücüye kaydettiyseniz sürücüyü cihazın her iki tarafında ve arkasında yer alan bir USB 3.0 portuna takın. Cihazın arkasına erişmek için cihazı gerektiği şekilde nazikçe taşıyın.
3. Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **Process Management** (İşlem Yönetimi) ögesini seçin.
4. Devam eden hiçbir sekanslama çalışması ya da cihaz üzerinde ikincil analiz olmadığından emin olun.
5. Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **DRAGEN** ögesini seçin.
6. Versiyon başlığında **Browse for New Version** (Yeni Versiyona Göz At) seçeneğini belirleyerek yükleyiciye gidin.
7. Yükleme işlemi başlatmak için **Install** (Yükle) seçeneğini belirleyin.
8. Sistem parolası için ilmnadmin ifadesini girin ve **Authenticate** (Kimliği Doğrula) seçeneğini belirleyin.

Hava Filtresini Değiştirme

Son kullanma tarihi dolmuş bir hava filtresini 6 ayda bir değiştirmek için aşağıdaki talimatları uygulayın.

Hava filtresi, cihazın sağ tarafındaki fanı kapatan tek kullanımlık dikdörtgen bir kartuştur. Uygun soğutma yapılmasını sağlar ve sisteme kir girmesini önler. Cihaz, bir adet takılı ve bir adet yedek hava filtresi ile gönderilir. Ek yedek öğeler geçerli bir cihaz servis sözleşmesiyle birlikte sağlanır ya da Illumina'dan ayrıca satın alınabilir.

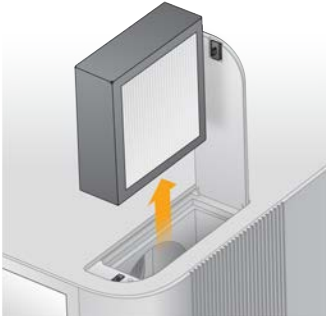
1. Aşağıdaki resimde gösterildiği şekilde hava filtresini çıkarmak için cihazın üst kısmında üst panelin sağ tarafına bastırın.



2. Paneli açın.



3. Hava filtresi kartuşuna bastırarak kartuşu serbest bırakın, panelin ortasından çıkarın ve atın.



4. Yuvaya yeni bir hava filtresi takın ve bastırarak sabitleyin.

5. Üst paneli kapatın ve bastırarak yerine oturtun.



6. Cihazı yeniden asıl pozisyonuna yerleştirin.

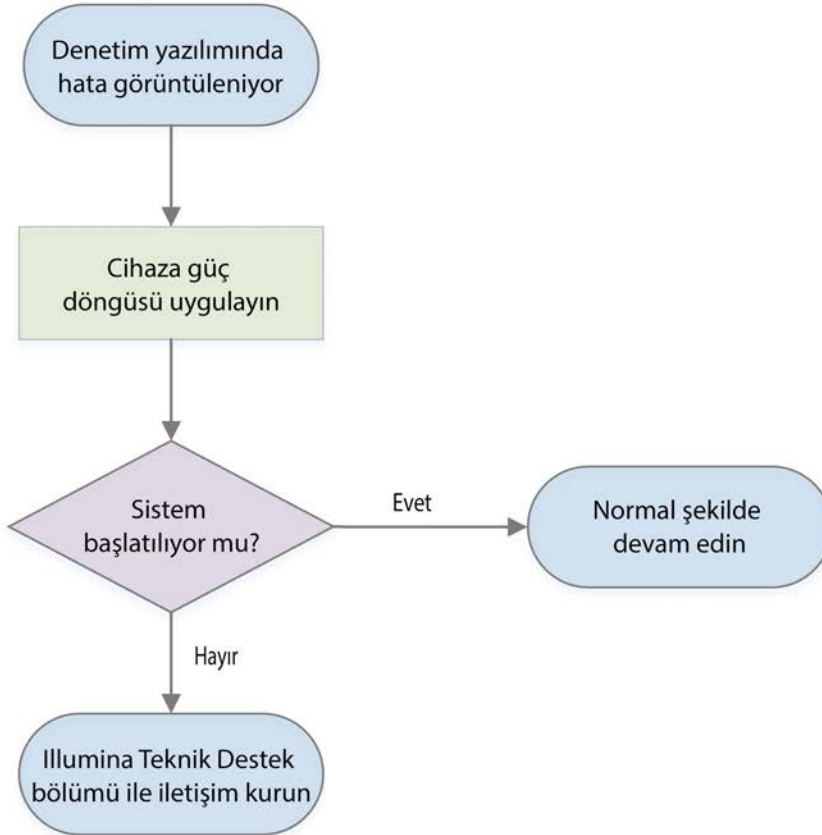
Sorun Giderme

Bu bölümde bir çalıştırmaı iptal etme, cihaza güç döngüsü uygulama ve diğer sorun giderme prosedürleri için adım adım talimatlar sunulmaktadır.

Hata Mesajının Çözümü

Bu ek, çeşitli sorun giderme adımlarına ilişkin ayrıntılı talimatlar sunar. Aşağıdaki akış şemasında başlatma, çalıştırma kurulumu veya sekanslama sırasında meydana gelen ve yeniden deneme ile çözümlenemeyen hata mesajlarına ilişkin sorun gidermeye genel bir bakış gösterilmektedir.

Pek çok hata, güç döngüsü ile çözümlenebilir: cihazı kapatma ve yeniden başlatma. Güç döngüsü uygulama hakkında daha fazla bilgi için bkz. [Cihaza Güç Döngüsü Uygulama, sayfa 79](#).



Sarf Malzemelerini Depoya Geri Döndürme

Fluidik denetiminden önce çalıştırma öncesi cihaz denetimi sırasında cihaz hatası meydana gelirse buzu çözdürülmüş bir kartuşu ve akış hücrelerini depolamak için aşağıdaki talimatları uygulayın.

1. Akış hücrelerini kartuştan ayırın.
2. Seyreltilen kitaplığı haznededen çıkarın ve atın (en fazla ~18 µl).
- !** Haznedeki artık kitaplıkla numunenin çapraz kontaminasyonunu önlemek için sonraki çalıştırma için aynı kitaplığın yeni bir seyreltisini hazırlayın.
3. Kartuşu, etiketi yukarı dönük olacak ve her tarafında hava dolaşımı olacak şekilde 2 °C ila 8 °C depoya yerleştirin.
72 saati aşmayın. Gece boyunca 12 saat süreyle soğutucuda kartuşun buzu çözdürülmüşse 60 saati aşmayın.
4. Akış hücrelerini, nem giderici içeren orijinal gümüş folyo ambalaja geri döndürün.
5. Folyo ambalajı bantlayarak kapatın ve 2 °C ila 8 °C depoya yerleştirin.
72 saati aşmayın.

Çalıştırmayı İptal Etme

1. **End Run** (Çalıştırmayı Sonlandır) seçeneğini belirleyin.
2. Reaktif kartuşunu otomatik olarak tahliye etmek için **Purge Reagent Cartridge** (Reaktif Kartuşunu Tahliye Et) onay kutusunu seçin.
Varsayılan seçim, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı ayarlarında yapılandırılır.
3. **Yes, end the sequencing run** (Evet, sekanslama çalıştırmasını sonlandır) seçeneğini belirleyin.
Çalıştırmanın iptal edilmesi nihai bir işlemdir. Yazılım, çalıştırmayı devam ettiremez ve cihaz, çalıştırma öncesi denetimlerin bir kısmını gerçekleştirdikten sonra sarf malzemeleri yeniden kullanılamaz.
4. **Eject Cartridge** (Kartuşu Çıkar) seçeneğini belirleyerek vizörü açın ve tavayı çıkarın.
5. Kartuşu tavadan kaldırın.
6. İptal işleminin gerçekleştirildiği zamana bağlı olarak kartuşu depolayın veya imha edin:

Koşul	Örnek
Çalıştırma öncesi cihaz denetimi öncesinde veya sırasında iptal ettiniz ve sarf malzemelerini yeniden kullanmak istiyorsunuz.	Bkz. Sarf Malzemelerini Depoya Geri Döndürme, sayfa 78 .
Diğer tüm koşullar.	Bkz. Sarf Malzemelerini Boşaltma, sayfa 50

7. **Close Door** (Kapağı Kapat) seçeneğini belirleyerek tavayı yeniden yükleyin ve Ana ekrana geri dönün.
Sensörler, kartuşun çıkarıldığını doğrular.

Çalıştırmayı Yeniden Kuyruğa Alma

Process Management (İşlem Yönetimi) bölümünde Status of Secondary Analysis (İkincil Analiz Durumu) için hata görüntüleniyorsa oluşturulan cBCL dosyalarında yeniden cihaz üzerinde DRAGEN analizi gerçekleştirmek üzere çalıştırmayı yeniden kuyruğa alabilirsiniz. Yeniden kuyruğa alma işlevi için orijinal çalışma klasörü cihazda mevcut olmalıdır. Bu yeniden kuyruğa alma işlevinin kullanılması çalıştırmaların BaseSpace Sekans Merkezinde yeniden kuyruğa alınmasını sağlamaz. BaseSpace Sekans Merkezinde yeniden kuyruğa almak için BaseSpace Sekans Merkezi Yardım Merkezinde Numune Sayfasını Düzeltme bölümüne bakın.

1. Numune sayfası v2 ögenizi güncelleyin ve ardından numune sayfasını bir taşınabilir ya da takılı ağ sürücüsüne kaydedin.
2. Numune sayfasını taşınabilir sürücüye kaydettiyseniz sürücüyü cihazın yanında ve arkasında yer alan bir USB 3.0 portuna takın. Cihazın arkasına erişmek için cihazı gerektiği şekilde nazikçe taşıyın.
3. Denetim yazılımı menüsünü ve ardından **Process Management** (İşlem Yönetimi) ögesini seçin.
4. Devam eden hiçbir sekanslama çalışması ya da cihaz üzerinde ikincil analizler olmadığından emin olun.
5. Yeniden kuyruğa almak için tamamlanan çalıştırmanın yanındaki **Requeue** (Yeniden Kuyruğa Al) seçeneğini belirleyin.
6. **Choose** (Seç) ögesini seçerek güncellenen numune sayfasına gidin ve **Open** (Aç) seçeneğini belirleyin.
7. **Start Requeue** (Yeniden Kuyruğa Almayı Başlat) seçeneğini belirleyin.

Cihaza Güç Döngüsü Uygulama

Cihaza güç döngüsü uygulandığında sistem, bağlantı kaybını gidermek, bir spesifikasyonu hizalamak veya başlatma arızasını çözmek üzere güvenli olarak kapatılır ve yeniden başlatılır. Bir hata ya da uyarıyı çözmek üzere ne zaman güç döngüsünün uygulanması gerektiği yazılım mesajları ile belirtilir.

1. Denetim yazılımı menüsünde, **Shut Down Instrument** (Cihazı Kapat) seçeneğini belirleyin.
2. Sistem kapanmazsa ışıkları sönene dek cihazın sağ tarafındaki güç düğmesini basılı tutun.
3. Güç düğmesinin ışığı yanıp söndüğünde, arka paneldeki devirmeli anahtarın güç kapatma (**O**) tarafına basın.
Güç düğmesinin ışığı, güç kapatıldıktan sonra yanıp sönmeye devam edebilir.

Şekil 8 Devirmeli Anahtarın Konumu



4. 30 saniye bekleyin.
5. Devirmeli anahtarın güç açma (I) tarafına basın.
6. Güç düğmesinin ışığı yanıp söndüğünde, 30 saniye bekledikten sonra düğmeye basın.

Şekil 9 Güç Düğmesinin Konumu



7. İşletim sisteminin yüklenmesi için yaklaşık 5 dakika bekleyin. İşletim sistemi yüklendiğinde sistemde oturum açın.
Denetim yazılımı başlatılır ve sistemi başlatır. Sistemin başlatılması için yaklaşık 5 dakika bekleyin. Başlatma tamamlandığında Ana ekran görüntülenir.

Sistem Denetimi Gerçekleştirme

Normal çalışma ya da cihaz bakımı için sistem denetimi gerekmez. Ancak bir Illumina Teknik Destek temsilcisi sorun giderme amaçlarıyla sistem denetimi gerçekleştirmenizi isteyebilir.

Dört alt sistem denetiminin çalıştırma öncesi denetim hatalarını ve diğer sorunları gidermesi yaklaşık 58 dakika sürer. Testler, bileşenlerin uygun şekilde hizalanıp hizalanmadığını ve işlevsel olup olmadığını onaylar.

Test sonuçları `/usr/local/illumina/system-check` konumunda bulunan `system-check` klasörüne çıkarılır.

Sistem denetimlerini çalıştırmadan önce kartuşu boşalttığınızdan emin olun.

Sistem Denetimini Yürütme

1. Denetim yazılımı menüsünden, **System Checks** (Sistem Denetimleri) seçeneğini belirleyin.
2. Aşağıda sıralanan sistem denetimlerinden gerçekleştirmek istediklerinizin onay kutusunu seçin.
 - **Network Connectivity** (Ağ Bağlantısı)—Ağ bağlantınızın durumunu ve performansını denetler.
 - **Enclosure** (Muhafaza)—Termal sistemin ve vizör kaldırma mekanizmasının performansını denetler.
 - **Motion** (Hareket)—Z aşamasının ve XY aşamasının hareket sınırlarını ve performansını denetler.
 - **Optics** (Optik)—Görüntüleme modülünün performansını denetler.
3. **Start** (Başlat) seçeneğini belirleyin.

Fabrika Ayarlarını Geri Yükleme

Yazılımın sürümünü düşürmek veya istenmeyen bir yapılandırmadan kurtarmak için sistemin fabrika varsayılanlarını geri yükleyin. Bu özellik yalnızca bir Illumina temsilcisi tarafından kullanılmalıdır.

Yüklenen İmajı Alma

Başarıyla işlev gösteren bir yazılım yüklemesini yedeklemek için bir sistem imajı alın. Bu sistem imajı, daha sonraki bir noktada geri yüklenebilir. Sistem imajını, ilk yükleme tamamlandıktan ve bir Illumina temsilcisi ile parolanızı değiştirdikten hemen sonra almanız önerilir.

1. Linux'u yeniden başlatın.
2. Bir işletim sistemi seçmeniz istendiğinde **Capture Installed Image** (Yüklenen İmajı Al) seçeneğini belirleyin.

İşletim sistemi seçenekleri, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımına otomatik olarak ilerlemeden önce kısa süreli olarak görüntülenir.



Bellekte yalnızca bir imaj tutulduğundan, bu işlem gerçekleştirildiğinde daha önce alınan imajın üzerine yazdırılacaktır.

3. Sistemin geçerli olarak yüklü imajı alması için yaklaşık 30 dakika bekleyin. İmaj alma işlemi birkaç kez yeniden başlatma yapılabilir. İşlem tamamlandığında sistem, bellekte depolanan geçerli olarak yüklü imajla yeniden başlatılır.

Alınan İmajı Geri Yükleme

İstenmeyen bir yapılandırma nedeniyle kurtarma işlemi gerçekleştirmek için sisteme daha önce alınan bir imajı geri yükleyin.

1. Linux'u yeniden başlatın.

2. Bir işletim sistemi seçmeniz istendiğinde **Restore Installed Image** (Yüklenen İmajı Geri Yükle) seçeneğini belirleyin.

İşletim sistemi seçenekleri, NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımına otomatik olarak ilerlemeden önce kısa süreli olarak görüntülenir.

- i** | Parolalar, sistem imajı ile bağlantılıdır. Geri yükleme işleminin ardından sistemde oturum açmak için geri yüklenen imajın parolasını kullanın.

3. Geri yükleme işleminin tamamlanması için yaklaşık 30 dakika bekleyin.

Geri yükleme işleminde birkaç kez yeniden başlatma yapılabilir. İşlem tamamlandığında sistem, geri yüklenen imajla yeniden başlatılır.

Kaynaklar ve Referanslar

Numune Sayfası v2 Ayarları

Yerel mod kullanılıyorsa alıştırma ayarlarınızı yapılandırmak için numune sayfası v2 dosya biçimini kullanabilirsiniz. Cihaz alıştırma Kurulumunda ya da *NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri Numune Sayfası v2 Şablonunu* düzenleyerek numune sayfasını oluşturun. Numune sayfasını düzenlerken aşağıdaki bölüm ve alanların listelendiğı sırada dahil edildiğinden ve gereklilikleri karşıladığından emin olun. Düzenleme işleminin ardından taşınabilir ya da takılı bir ağı sürücüsü kullanarak numune sayfasını NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemlerine aktarın. Denetim yazılımında numune sayfasına gittiğinizde taşınabilir sürücünün çıkarılabilmesi için cihazda alıştırma öncesi klasörüne kopyalandığını göreceksiniz.

Numune sayfası v2 ayarlarınızın aşağıdaki gereklilikleri karşıladığından emin olun:

- BCLConvert_Data numune sayfası bölümünde belirtilen izin sekansları, NextSeq 1000/2000 sisteminde seçilen izin kiti ile eşleşmelidir.
- NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.2 kullanılıyorsa numune sayfasında belirtilen DRAGEN versiyonu sistemde yüklü ve etkin olmalıdır. Kurulum bilgileri için bkz. [Yazılım Güncellemeleri, sayfa 71](#) (Yazılım Güncellemeleri).
- NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3 kullanılıyorsa numune sayfasında belirtilen DRAGEN versiyonu sistemde yüklü olmalıdır. Denetim yazılımı otomatik olarak numune sayfasından DRAGEN versiyonunu saptar ve gerekiyorsa etkin versiyonları değiştirmenizi belirtir. Kurulum bilgileri için bkz. [Yazılım Güncellemeleri, sayfa 71](#) (Yazılım Güncellemeleri).

DRAGEN kullanıyorsanız ek ayarlar yapılandırmanız gerekecektir. Daha fazla bilgi için bkz. [DRAGEN Numune Sayfası Ayarları, sayfa 87](#)

Numune sayfası v2 şablonunu NextSeq 1000 ve NextSeq 2000 Sekanslama Sistemleri destek sayfasında Product Files (Ürün Dosyaları) bölümünden indirin. Cihaz alıştırma Kurulumunu kullanarak bir numune sayfası oluşturduysanız ilk indirmeden sonra numune sayfasının değiştirilmesi analizizin başarısız olmasına neden olabilir.

Dosya adlarında özel karakterler bulunamaz.

[Header] Gereklilikleri

[Header] bölümü, çalıştırmanıza ilişkin genel bilgileri içerir. Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [Header] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
FileFormatVersion	Evet	Numune sayfası versiyonudur. Değere 2 girin.
RunName	Hayır	Tercih ettiğiniz benzersiz çalışma adıdır. RunName alfanumerik karakterleri, alt çizgileri, kesik çizgileri ve noktaları içerebilir. RunName boşluk ya da özel karakter içeriyorsa analiz başarısız olur.
RunDescription	Hayır	Çalıştırma açıklamasıdır.
InstrumentPlatform	Hayır	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	Hayır	NextSeq 1000/2000

[Reads] Gereklilikleri

[Reads] bölümünde, genom ve dizin okuması 1 ve 2 için kullanılan sekanslama döngülerinin sayısı açıklanır. Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [Reads] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Read1Cycles	Evet	Birinci okumadaki döngü sayısıdır. Değer, sıfırdan büyük bir tam sayı olmalıdır.
Read2Cycles	Hayır	İkinci okumadaki döngü sayısıdır.
Index1Cycles	Hayır	Birinci dizin okumasındaki döngü sayısıdır. Birden fazla numunenin sekanslandığı durumlarda gereklidir. Maksimum değer 10 döngüdür.
Index2Cycles	Hayır	İkinci dizin okumasındaki döngü sayısıdır. Maksimum değer 10 döngüdür.

[Sequencing_Settings] Gereklilikleri

Kullandığınız kitaplık hazırlama kitini belirtmek için [Sequencing_Settings] bölümünü kullanın.

Alan	Gerekli	Açıklama
LibraryPrepKits	Hayır	<p>Kitaplık hazırlama kitiniz. Yalnızca bir kitaplık hazırlama kitine izin verilir.</p> <p>NextSeq 1000/2000 Denetim Yazılımı v1.3'te, Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kiti ya da Illumina Stranded mRNA Prep kiti kitaplık hazırlama kiti olarak belirtilmişse özel reçete seçeneği otomatik olarak seçilir.</p> <p>Şu değerlerden birini girin:</p> <ul style="list-style-type: none"> Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kiti— ILMNStrandedTotalRNA Illumina Stranded mRNA Prep kiti—ILMNStrandedmRNA

BCL Dönüştürme Gereklilikleri

BCL dönüştürme bölümünde verilerinizi BCL yerine FASTQ biçimine dönüştürme hakkında bilgi verilmektedir. BCL dönüştürme seçenekleri iki ayrı bölümü içerir: [BCLConvert_Settings] ve [BCLConvert_Data]. BCL dönüştürme bölümleri, dizin adaptörü sekansları hakkında bilgi gerektirir. Her bir okuma ve dizin için uyumlu adaptör sekansını tanımlamak için bkz. *Illumina Adaptör Sekansları* (belge no 1000000002694).

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [BCLConvert_Settings] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
SoftwareVersion	Evet	Sistemde yüklü olan DRAGEN yazılımının versiyonudur. Versiyon adında yer alan üç tam sayının hepsini kullanın. Örneğin, 3.5.7.
BarcodeMismatchesIndex1	Hayır	Birinci dizin okuma ve dizin sekansı arasında izin verilen uyumsuzlukların sayısıdır. Değerler 0,1 veya 2 olabilir. Varsayılan değer 1'dir.
BarcodeMismatchesIndex2	Hayır	İkinci dizin okuma ve dizin sekansı arasında izin verilen uyumsuzlukların sayısıdır. Değerler 0,1 veya 2 olabilir. Varsayılan değer 1'dir.

Alan	Gerekli	Açıklama
FastqCompressionFormat	Hayır	FASTQ dosyalarını *.gz dosyası olarak almak için <code>gzip</code> ifadesini girin. FASTQ dosyalarını *.ora dosyası olarak kaydetmek ve DRAGEN Sıkıştırma ile kullanmak için <code>dragen</code> ifadesini girin.
AdapterRead1	Hayır	Okuma 1'in ucundan kesilecek ya da maskelenecek sekanstır. A, C, G veya T içeren Okuma 1 adaptör sekansı. AdapterRead1 döngüleri varsayılan olarak keser.
AdapterRead2	Hayır	Okuma 2'nin ucundan kesilecek ya da maskelenecek sekanstır. A, C, G veya T içeren Okuma 2 adaptör sekansı. AdapterRead2 döngüleri varsayılan olarak keser.
OverrideCycles	Hayır	UMI döngülerini belirtmek ve bir okumanın döngülerini maskelemek için kullanılan dizedir. Aşağıdaki değerlere izin verilir: <ul style="list-style-type: none"> N—Yok sayılacak döngüleri belirtir. Y—Sekanslama döngülerini belirtir. I—Dizin döngülerini belirtir. U—Kesilecek UMI döngülerini belirtir. Her bir öge noktalı virgülle ayrılır. Aşağıda OverrideCycles girdisi örnekleri belirtilmektedir. U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [BCLConvert_Data] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Sample_ID	Evet	Numune numarasıdır. Numune numarası en fazla 20 alfanumerik karakter, tire işareti ve alt çizgi içerebilir. Numara büyük/küçük harf duyarlıdır. Her bir tanıttıcıyı, kesik çizgi ya da alt çizgi ile ayırın. Örneğin, Sample1-DQB1-022515.

Alan	Gerekli	Açıklama
Dizin	Hayır	Numune ile ilişkili dizin sekansıdır. Yalnızca A, C, T, G'ye izin verilir. Birden fazla numunenin sekanslandığı durumlarda gereklidir.
Index2	Hayır	Numune ile ilişkili ikinci dizin sekansıdır. Yalnızca A, C, T, G'ye izin verilir. İkinci dizin (i5) adaptör sekanslarının forward yönlendirmesinde olduğundan emin olun. DRAGEN ikincil analiz sırasında i5 dizinlerini otomatik olarak reverse için tamamlar.
Lane	Hayır	Akış hücresinin şerididir. Şeritler bir tam sayı değeriyle ifade edilir.

DRAGEN Numune Sayfası Ayarları

Bu bölümde, her bir DRAGEN ardışık düzenine ilişkin numune sayfası gereklilikleri açıklanmaktadır. Numune sayfanızın son bölümüne DRAGEN ardışık düzeninizin ayarlarını ekleyin. Yalnızca bir adet DRAGEN ardışık düzeni kullanabilirsiniz.

Her bir DRAGEN ardışık düzeni ayarlar ve veriler için ayrı bölümler içerir.

DRAGEN Germ Hattı Ardışık Düzeni Gereklilikleri

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenGermline_Settings] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
SoftwareVersion	Evet	Sistemde yüklü olan DRAGEN yazılımının versiyonudur. Versiyon adında yer alan üç tam sayının hepsini kullanın. Örneğin, 3.5.7. Yazılım versiyonu BCLConvert_Settings bölümünde belirtilen versiyonla eşleşmelidir.
ReferenceGenomeDir	Evet	Referans genomun adıdır. Örneğin, hg19_alt_aware. /usr/local/illumina/genomes konumunda bulunan referans genomun adını kullanın. Özel bir referans genom kullanmak için bkz. <i>Illumina Cihazları için Referans Oluşturucu v1.0.0 Uygulaması Çevrimiçi Yardım</i> .

Alan	Gerekli	Açıklama
MapAlignOutFormat	Hayır	Çıktı dosyasının biçimidir. bam veya cram değerlerine izin verilir. Hiçbir değer belirtilmezse varsayılan olarak "hiçbiri" kullanılır.
KeepFastq	Hayır	FASTQ çıktı dosyalarını kaydetmek için <code>true</code> ifadesini girin. FASTQ çıktı dosyalarını kaldırmak için <code>false</code> ifadesini girin.

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DrogenGermline_Data] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Sample_ID	Evet	Numune numarasıdır. Numune numarası en fazla 20 alfanumerik karakter içerebilir. Numara büyük/küçük harf duyarlıdır. Her bir tanıtıcıyı, kesik çizgi ile ayırın. Örneğin, Sample1-DQB1-022515. Numune numaraları, BCLConvert_Data bölümünde belirtilen numaralarla eşleşmelidir.

DRAGEN RNA Ardışık Düzeni Gereklilikleri

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DrogenRNA_Settings] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
SoftwareVersion	Evet	Sistemde yüklü olan DRAGEN yazılımının versiyonudur. Versiyon adında yer alan üç tam sayının hepsini kullanın. Örneğin, 3.5.7. Yazılım versiyonu BCLConvert_Settings bölümünde belirtilen versiyonla eşleşmelidir.
ReferenceGenomeDir	Evet	Referans genomun adıdır. Örneğin, hg38_noalt_with_decoy. /usr/local/illumina/genomes konumunda bulunan referans genomun adını kullanın. Özel bir referans genom kullanmak için bkz. <i>Illumina Cihazları için Referans Oluşturucu v1.0.0 Uygulaması Çevrimiçi Yardım</i> .
RnaGeneAnnotationFile	Hayır	RNA gen açıklamalarını içeren dosyadır. Yalnızca alfanumerik karakterlere izin verilir. Sağlanmaması durumunda, belirtilen referans genomda yer alan varsayılan açıklama dosyası kullanılır.

Alan	Gerekli	Açıklama
MapAlignOutFormat	Hayır	Çıktı dosyasının biçimidir. bam veya cram değerlerine izin verilir. Hiçbir değer belirtilmezse varsayılan olarak "hiçbiri" kullanılır.
KeepFastq	Hayır	FASTQ çıktı dosyalarını kaydetmek için <code>true</code> ifadesini girin. FASTQ çıktı dosyalarını kaldırmak için <code>false</code> ifadesini girin.
DifferentialExpressionEnable	Hayır	Diferansiyel gen ifadesini etkinleştirmek için <code>true</code> ifadesini girin. Diferansiyel gen ifadesini analizden hariç tutmak için <code>false</code> ifadesini girin.

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenRna_Data] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Sample_ID	Evet	Numune numarasıdır. Numune numarası en fazla 20 alfanumerik karakter içerebilir. Numara büyük/küçük harf duyarlıdır. Her bir tanıtıcıyı, kesik çizgi ile ayırın. Örneğin, Sample1-DQB1-022515. Numune numaraları, BCLConvert_Data bölümünde belirtilen numaralarla eşleşmelidir.
Comparison<N>	Hayır	Her bir numune için kontrol veya karşılaştırma değeri. Numune için herhangi bir kontrol veya karşılaştırma değeri yoksa numuneye <code>na</code> (geçerli değil) değeri atanır. Kontrol ile işaretlenen tüm numuneler, karşılaştırma ile işaretlenen numunelerle karşılaştırılır. <code>N</code> değeri, numunelerin karşılaştırma grubunu yansıtır.

DRAGEN Zenginleştirme Ardışık Düzeni Gereklilikleri

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenEnrichment_Settings] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
SoftwareVersion	Evet	Sistemde yüklü olan DRAGEN yazılımının versiyonudur. Versiyon adında yer alan üç tam sayının hepsini kullanın. Örneğin, 3.5.7. Yazılım versiyonu BCLConvert_Settings bölümünde belirtilen versiyonla eşleşmelidir.

Alan	Gerekli	Açıklama
ReferenceGenomeDir	Evet	Referans genomun adıdır. Örneğin, hg38_alt_aware. Referans genomlar <code>/usr/local/illumina/genomes</code> konumunda bulunur. Özel bir referans genom kullanmak için bkz. <i>llumina Cihazları için Referans Oluşturucu v1.0.0 Uygulaması Çevrimiçi Yardım</i> .
BedFile	Evet	Hedeflenecek bölgeleri içeren bed dosyasıdır.
GermlineOrSomatic	Evet	Zenginleştirme germ hattı analizi gerçekleştirmek için <code>germline</code> ifadesini girin. Zenginleştirme somatik analizi gerçekleştirmek için <code>somatic</code> ifadesini girin.
KeepFastq	Hayır	FASTQ çıktı dosyalarını kaydetmek için <code>true</code> ifadesini girin. FASTQ çıktı dosyalarını kaldırmak için <code>false</code> ifadesini girin.
MapAlignOutFormat	Hayır	Çıktı dosyasının biçimidir. <code>bam</code> veya <code>cram</code> değerlerine izin verilir. Hiçbir değer belirtilmezse varsayılan olarak "hiçbiri" kullanılır.
AuxNoiseBaselineFile	Hayır	Gürültü baseline dosyasının adı. <code>*.txt</code> veya <code>*.gz</code> dosya biçimini kullanabilirsiniz. Gürültü baseline dosyaları yalnızca somatik mod ile kullanılabilir. Daha fazla bilgi için bkz. Gürültü Baseline Dosyalarını İçer Aktarma, sayfa 17 .

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenEnrichment_Data] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Sample_ID	Evet	Numune numarasıdır. Numune numarası en fazla 20 alfanumerik karakter içerebilir. Numara büyük/küçük harf duyarlıdır. Her bir tanıtıcıyı, kesik çizgi ile ayırın. Örneğin, Sample1-DQB1-022515. Numune numaraları, BCLConvert_Data bölümünde belirtilen numaralarla eşleşmelidir.

DRAGEN DNA Amplikon Ardışık Düzeni Gereklilikleri

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenAmplicon_Settings] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
SoftwareVersion	Evet	Sistemde yüklü olan DRAGEN yazılımının versiyonudur. Versiyon adında yer alan üç tam sayının hepsini kullanın. Örneğin, 3.5.7. Yazılım versiyonu BCLConvert_Settings bölümünde belirtilen versiyonla eşleşmelidir.
ReferenceGenomeDir	Evet	Referans genomun adıdır. Örneğin, hg38_alt_aware. Referans genomlar <code>/usr/local/illumina/genomes</code> konumunda bulunur. Özel bir referans genom kullanmak için bkz. <i>Illumina Cihazları için Referans Oluşturucu v1.0.0 Uygulaması Çevrimiçi Yardım</i> .
DnaBedFile	Evet	Hedeflenecek bölgeleri içeren bed dosyasıdır. Bed dosyası *.txt veya *.gz dosya biçiminde girilebilir.
DnaGermlineOrSomatic	Evet	DNA Amplikon germ hattı analizi gerçekleştirmek için <code>germline</code> ifadesini girin. DNA Amplikon somatik analizi gerçekleştirmek için <code>somatic</code> ifadesini girin.
KeepFastq	Hayır	FASTQ çıktı dosyalarını kaydetmek için <code>true</code> ifadesini girin. FASTQ çıktı dosyalarını kaldırmak için <code>false</code> ifadesini girin.
MapAlignOutFormat	Hayır	Çıktı dosyasının biçimidir. bam veya cram değerlerine izin verilir. Hiçbir değer belirtilmezse varsayılan olarak "hiçbiri" kullanılır.

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenAmplicon_Data] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Sample_ID	Evet	Numune numarasıdır. Numune numarası en fazla 20 alfanumerik karakter içerebilir. Numara büyük/küçük harf duyarlıdır. Her bir tanıtıcıyı, kesik çizgi ile ayırın. Örneğin, Sample1-DQB1-022515. Numune numaraları, BCLConvert_Data bölümünde belirtilen numaralarla eşleşmelidir.
DnaOrRna	Evet	Gerçekleştirilecek Amplikon analizi türü. DRAGEN v3.8 için yalnızca DNA analizi desteklenir. dna ifadesini girin.

DRAGEN Tek Hücreli RNA Ardışık Düzeni Gereklilikleri

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenSingleCellRNA_Settings] alanları ve açıklamalarıdır. Üçüncü taraf kit uyumluluğu hakkında bilgi edinmek için DRAGEN Bio-IT Platformu Ürün Uyumluluğu destek sayfasına bakın.

Tek Hücreli Kitaplık Kiti 1—5

Aşağıdaki numune sayfası ayarları, DRAGEN Tek Hücreli Kitaplık Kiti 1—5 ile aynı genetik yapıya sahip kitaplık hazırlama kitleri için geçerlidir. Kitinizin genetik yapısını onaylamak için DRAGEN Bio-IT Platformu Ürün Uyumluluğu destek sayfasından yararlanın.

Alan	Gerekli	Açıklama
SoftwareVersion	Evet	Sistemde yüklü olan DRAGEN yazılımının versiyonudur. Versiyon adında yer alan üç tam sayının hepsini kullanın. Örneğin, 3.5.7. Yazılım versiyonu BCLConvert_Settings bölümünde belirtilen versiyonla eşleşmelidir.
ReferenceGenomeDir	Evet	Referans genomun adıdır. Örneğin, hg38_alt_aware. Referans genomlar /usr/local/illumina/genomes konumunda bulunur. Özel bir referans genom kullanmak için bkz. <i>Illumina Cihazları için Referans Oluşturucu v1.0.0 Uygulaması Çevrimiçi Yardım</i> .

Alan	Gerekli	Açıklama
RnaLibraryType	Hayır	Şu değerlerden birini girin: <ul style="list-style-type: none"> SF—Zincirli forward. SF varsayılan değerdir. SR—Zincirli reverse. U—Zincirsiz.
RnaGeneAnnotationFile	Hayır	RNA gen açıklamalarını içeren dosyadır. Yalnızca alfanumerik karakterlere izin verilir. Sağlanmaması durumunda, belirtilen referans genomda yer alan varsayılan açıklama dosyası kullanılır.
BarcodeRead	Hayır	Hem barkodu hem UMI'yi içeren barkod okumasının sekanslama çalıştırmasındaki konumdur. Değerler, Read1 veya Read2 değerini içerebilir. Varsayılan değer Read1'dir.
BarcodePosition	Evet	BarcodeRead için girilen değerde yer alan barkoda karşılık gelen bazların konumudur. Baz konumları, sıfır konumundan itibaren dizinlenir. BarcodePosition değerini şu biçimde girin: 0_<barkod bitiş konumu> Örneğin, bir barkod 16 baz içeriyorsa değer 0_15 şeklindedir.
UmiPosition	Evet	BarcodeRead için girilen değerde yer alan UMI'ye karşılık gelen bazların konumudur. UmiPosition değerini şu biçimde girin: <UMI başlangıç konumu>_<UMI bitiş konumu> Örneğin, UMI 10 baz ve barkod 16 baz içeriyorsa değer 16_25 şeklindedir.
BarcodeSequenceWhitelist	Hayır	Dahil edilecek barkod sekanslarını içeren dosyanın adıdır. Dosya adı yalnızca alfanumerik karakterleri, kesik çizgileri, alt çizgileri ve noktaları içerebilir.
KeepFastq	Hayır	FASTQ çıktı dosyalarını kaydetmek için true ifadesini girin. FASTQ çıktı dosyalarını kaldırmak için false ifadesini girin.
MapAlignOutFormat	Hayır	Çıktı dosyasının biçimidir. bam veya cram değerlerine izin verilir. Hiçbir değer belirtilmezse varsayılan olarak "hiçbiri" kullanılır.

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DragenSingleCellRNA_Data] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Sample_ID	Evet	Numune numarasıdır. Numune numarası en fazla 20 alfanumerik karakter içerebilir. Numara büyük/küçük harf duyarlıdır. Her bir tanıtıcıyı, kesik çizgi ile ayırın. Örneğin, Sample1-DQB1-022515. Numune numaraları, BCLConvert_Data bölümünde belirtilen numaralarla eşleşmelidir.

Tek Hücreli Kitaplık Kiti 6

Aşağıdaki numune sayfası ayarları, DRAGEN Tek Hücreli Kitaplık Kitleri 6 ile aynı genetik yapıya sahip kitaplık hazırlama kitleri için geçerlidir. Kitinizin genetik yapısını onaylamak için DRAGEN Bio-IT Platformu Ürün Uyumluluğu destek sayfasından yararlanın.

Alan	Gerekli	Açıklama
SoftwareVersion	Evet	Sistemde yüklü olan DRAGEN yazılımının versiyonudur. Versiyon adında yer alan üç tam sayının hepsini kullanın. Örneğin, 3.5.7. Yazılım versiyonu BCLConvert_Settings bölümünde belirtilen versiyonla eşleşmelidir.
ReferenceGenomeDir	Evet	Referans genomun adıdır. Örneğin, hg38_alt_aware. Referans genomlar /usr/local/illumina/genomes konumunda bulunur. Özel bir referans genom kullanmak için bkz. <i>Illumina Cihazları için Referans Oluşturucu v1.0.0 Uygulaması Çevrimiçi Yardım</i> .
RnaLibraryType	Hayır	Şu değerlerden birini girin: <ul style="list-style-type: none"> SF—Zincirli forward. SR—Zincirli reverse. U—Zincirsiz.
RnaGeneAnnotationFile	Hayır	RNA gen açıklamalarını içeren dosyadır. Yalnızca alfanumerik karakterlere izin verilir. Sağlanmaması durumunda, belirtilen referans genomda yer alan varsayılan açıklama dosyası kullanılır.

Alan	Gerekli	Açıklama
BarcodeRead	Hayır	Hem barkodu hem UMI'yi içeren barkod okumasının sekanslama çalıştırmasındaki konumdur. Değerler, Read1 veya Read2 değerini içerebilir. Varsayılan değer Read1'dir.
BarcodePosition	Evet	BarcodeRead için girilen değerde yer alan barkodlara karşılık gelen bazların konumudur. Baz konumları, sıfır konumundan itibaren dizinlenir. BarcodePosition değerini şu biçimde girin: 0_<birinci barkod bitiş konumu>+<ikinci barkod başlangıç konumu>_<ikinci barkod bitiş konumu>+<üçüncü barkod başlangıç konumu>_<üçüncü barkod bitiş konumu> Örneğin, şu yapı 0_8+21_29+43_51 değerinin elde edilmesini sağlar: <ul style="list-style-type: none"> • Birinci barkodda 9 baz (0_8). • Birinci ve ikinci barkodlar arasında 12 baz. • İkinci barkodda 9 baz (21_29). • İkinci ve üçüncü barkodlar arasında 13 baz. • Üçüncü barkodda 9 baz (43_51).
UmiPosition	Evet	Belirtilen BarcodeRead'de yer alan UMI'ye karşılık gelen bazların konumudur. Dizeyi şu biçimde girin: <UMI başlangıç konumu>_<UMI bitiş konumu> Örneğin, UMI 8 baz içeriyorsa ve UMI'den önceki bazların sayısının toplamı 51 ise değer 52_59 olur.
BarcodeSequenceWhitelist	Hayır	Beyaz listeye alınmak üzere barkod sekansını içeren dosyanın adıdır. Dosya adı yalnızca alfanumerik karakterleri, kesik çizgileri, alt çizgileri ve noktaları içerebilir.
KeepFastq	Hayır	FASTQ çıktı dosyalarını kaydetmek için true ifadesini girin. FASTQ çıktı dosyalarını kaldırmak için false ifadesini girin.

Alan	Gerekli	Açıklama
MapAlignOutFormat	Hayır	Çıktı dosyasının biçimidir. bam veya cram değerlerine izin verilir. Hiçbir değer belirtilmezse varsayılan olarak "hiçbiri" kullanılır.

Aşağıda belirtilenler, kullanılabilir [DrazenSingleCellRNA_Data] alanları ve açıklamalarıdır.

Alan	Gerekli	Açıklama
Sample_ID	Evet	Numune numarasıdır. Numune numarası en fazla 20 alfanumerik karakter içerebilir. Numara büyük/küçük harf duyarlıdır. Her bir tanıtcıyı, kesik çizgi ile ayırın. Örneğin, Sample1-DQB1-022515. Numune numaraları, BCLConvert_Data bölümünde belirtilen numaralarla eşleşmelidir.

Karanlık Döngüsü Sekanslaması

Bu bölümde, reçetede karanlık döngüsü sekanslamasının kullanımı açıklanmaktadır.

Karanlık döngüsü sekanslaması, yalnızca bir sekanslama döngüsünün kimya adımlarını tamamlamak için kullanılır. Karanlık döngüsü sekanslamasının gerekli olup olmadığını görmek için [Illumina Destek Sitesinde](#) kitaplık hazırlama kitinize ilişkin Uyumlu Ürünler sayfasını kontrol edin.

Karanlık döngüsü sekanslaması için aşağıdaki adımları uygulayın.

Reçete Dosyasını Düzenleme

1. [Illumina Destek Sitesinden](#) reçete XML dosyasını indirin.
2. Reçete XML dosyasını düzenleyin.
 - a. Okuma ve dizin sekanslama yapılandırmanıza göre uygun protokol bölümünü belirleyin. Her bir özel reçete için, düzenleyebileceğiniz altı farklı olası protokol bulunur. Örneğin, dizin sekanslama yapılandırması içermeyen tek Okuma 1 için protokol şu şekilde olur:

```
<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >
```
 - b. `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` ve `<ReadRef ReadName="Read 2"/>` değerlerinden önce yeni bir satıra şu karanlık döngüsü adımı girin.

```
<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />
```
 - c. Gereken her karanlık döngüsü için yeni bir satıra karanlık döngüsü adımı girin.
3. Reçete XML dosyasını kaydedin.

Aşağıda, karanlık döngüsü bulunan örnek bir reçete belirtilmektedir:

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

Reçeteyi Çalıştırmaya Ekleme

- 1 Denetim yazılımında Çalıştırma Kurulumunda, Custom Recipe (Özel Reçete) bölümünün altında yer alan **Choose** (Seç) ögesini seçin.
- 2 Güncellenen reçete XML dosyasına gidin.
- 3 **Open** (Aç) seçeneğini belirleyin.
- 4 [Sekanslama Çalıştırması Başlatma, sayfa 44](#) bölümüne geri dönün.

Dizin

%

%PF 56

A

AC gücü
giriş 4
adlandırma
bilgisayar adı 5
cihaz adı 20
ağartıcı mendiller 27
alkollü mendiller 27
amplifikasyon 8
analiz
yöntemler 5, 8

B

bağlantı kaybı 79
barındırma konumu 13
BaseSpace Sekans Merkezi 1
ayarlar 13
belgeler 13
başlatma 80
arıza 79
baz arama 5
baz arama dosyaları 8, 52, 58
BCL dosyaları 6
bcl2fastq2 52
belge 102
Bilgi İşlem Motoru 52
bilgisayar adı 5
bulut tabanlı analiz 1
buzdolabı spesifikasyonları 27

C

CBCL dosyaları 56
CE 52
cihaz performans verileri 13

Ç

çalıştırma boyutu 71
çalıştırma durumu 6
çalıştırma klasörü 71
çalıştırma kurulumu
örnekler 29
çalıştırma parametreleri
düzenleme 47
çalıştırma parametrelerini düzenleme 47
çalıştırma sayımı 5
çalıştırmalar
metrikler 52
çalıştırmaları silme 6, 71
çıktı klasörü 47, 71
çift sonlu 47

D

D sürücüsü 71
damlama tavası
pedler 27
denşirme 8
destek sayfaları 71
devirmeli anahtar 4, 79
disk alanı 6, 71
dizin
döngüler 29
dondurucu spesifikasyonları 27
döngü sayıları 29
durum çubuğu 2

E

ekstra döngüler 29
eşlenen sürücüler 47
Ethernet kablosu 4
Ethernet portu 4
etki alanları 13
Evrensel Kopya Hizmeti 5, 71

F

fabrika varsayılanları 81
fanlar 75
fare 4
FASTQ dönüştürme 52
fazlama ve prefaz 54
filtre dosyaları 52, 58
filtreden geçen (PF) 56

G

garanti 27
görüntü analizi 5
görüntüleme 52-53
görüntüler 52
güç döngüsü 77
güç düğmesi 2, 79
güç kablosu 4
günlük dosyaları 53

H

hata günlükleri 53
hatalar 6, 79
 mesajlar 77
 olasılık 56-57
hava filtreleri
 konum 75
 yedek parçalar 27

I

Illumina Proaktif Desteği 13
InterOp dosyaları 52, 58
IP adresi 5
ışık çubuğu 2
iki kanallı sekanslama 55
ilk kurulum 75, 81
internet bağlantısı 13

İ

İşlem Yönetimi 71

I

işletim sistemi 80

K

kalite tabloları 57
kameralar 53
kapaklar
 kapatma 49
kapatma 79
kartuş
 yükleme yönlendirmesi 49
katalog numaraları 26
kayıt hataları 54
kırmızı kanal 55
kısa adı 20
kitaplıklar
 denşirme 8
kitaplıkları seyreltme 8
kitler 26
 katalog numaraları 27
klavyeler 4
Kurumsal abonelik 13
kutucuk numaralandırma 53
kutucuklar 52
küçük resimler 58
küme konumları 52, 58
küme yoğunlukları 54
kümeleri filtreleme 56

L

Local Run Manager 5

M

manuel yazılım güncellemeleri 71
monitör 2

müşteri desteği 102

N

nanokuyular 54
NextSeq 1000/2000 Reaktifleri 26
no call 54-55
nükleotidler 55

O

okuma döngüleri 29
okuma uzunlukları 29
otomatik güncellemeler 71

Ö

özel etki alanı 13

P

pedler 27
performans verileri 13
PhiX 27
 hizalama 52
PhiX Denetimi v3 26
Phred algoritması 57

Q

Q skorları 56-57

R

reçete fragmanları 5
reçeteler 71
RSB ikamesi 26
RunInfo.xml 58

S

sabit disk 6, 71
safılık filtresi 56

sarf malzemeleri

 takip 1
 tarama 49

sarf malzemeleri bölmesi 2
sarf malzemelerini takip etme 1
Sekanslama Analizi Görüntüleyici 52, 54
seri numarası 5
ses ayarları 20
simgeler 6
sistem denetimleri 77
Sistem Ürün Seti yükleyici 71
son kullanma tarihleri 75
spesifikasyon hizalama 79
sunucu konumu 13

Ş

şablon oluşturma 54
şeritler 53

T

tanıtım belgeleri 57
taşıma 4
tek okuma 47
teknik yardım 102
test kiti 27

U

UNC yolları 47
USB portları 4
uyarılar 6, 71, 79

V

varsayılan çıktı klasörü 47
veri kalitesi 56

W

Windows
 oturum açma 80

Y

- yardım,teknik 102
- yataklar 53
- yazılım
 - güncelleme uyarıları 21
 - sürümü düşürme 81
 - yükleme 71
- yazılım sürümünü düşürme 81
- yazılım ürün seti 1, 5
- yazılımı yükleme 71
- yedek parçalar 75
- Yeniden Askıya Alma Tamponu 26
- yeniden başlatma 81
- yerel analiz 1
- yeşil kanal 55
- yoğunluk değerleri 54
- yüzey numaralandırma 53

Teknik Yardım

Teknik yardım için Illumina Teknik Destek bölümüyle iletişim kurun.

Web sitesi: www.illumina.com
E-posta: techsupport@illumina.com

Illumina Teknik Destek Birimi Telefon Numaraları

Bölge	Ücretsiz	Uluslararası
Almanya	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Amerika Birleşik Devletleri	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Avustralya	+61 1800 775 688	
Avusturya	+43 800 006249	+43 1 9286540
Belçika	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Birleşik Krallık	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Çin		+86 400 066 5835
Danimarka	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Endonezya		0078036510048
Filipinler	+63 180016510798	
Finlandiya	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Fransa	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Güney Kore	+82 80 234 5300	
Hindistan	+91 8006500375	
Hollanda	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Hong Kong, Çin	+852 800 960 230	
İrlanda	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
İspanya	+34 800 300 143	+34 911 899 417
İsveç	+46 2 00883979	+46 8 50619671
İsviçre	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
İtalya	+39 800 985513	+39 236003759
Japonya	+81 0800 111 5011	

Bölge	Ücretsiz	Uluslararası
Kanada	+1 800 809 4566	
Malezya	+60 1800 80 6789	
Norveç	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Singapur	1 800 5792 745	
Tayland	+66 1800 011 304	
Tayvan, Çin	+886 8 06651752	
Vietnam	+84 1206 5263	
Yeni Zelanda	+64 800 451 650	

Güvenlik veri sayfaları (SDS'ler)—Illumina web sitesinde support.illumina.com/sds.html adresinde mevcuttur.

Ürün belgeleri—support.illumina.com adresinden indirilebilir.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 ABD

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (Kuzey Amerika dışından)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Sadece Araştırma Kullanımı İçindir. Tanı prosedürlerinde kullanım için değildir.

© 2021 Illumina, Inc. Tüm hakları saklıdır.

illumina®