

NextSeq 1000 và 2000

Hướng dẫn về hệ thống giải trình tự

Tài liệu này và nội dung trong đó thuộc quyền sở hữu của Illumina, Inc. và các công ty liên kết của Illumina, Inc. ("Illumina") và chỉ dành cho việc sử dụng theo hợp đồng với khách hàng của Illumina liên quan đến việc sử dụng (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này và không dành cho mục đích nào khác. Tài liệu này và nội dung trong đó sẽ không được sử dụng hay phân phối vì bất kỳ mục đích nào khác và/hoặc không được truyền tải, tiết lộ hay sao chép dưới bất kỳ hình thức nào khác mà không có sự cho phép trước bằng văn bản của Illumina. Illumina không chuyển nhượng bất kỳ giấy phép nào theo các bằng sáng chế, nhãn hiệu, bản quyền hoặc các quyền theo thông luật cũng như các quyền tương tự của bất kỳ bên thứ ba nào thông qua tài liệu này.

Các hướng dẫn nêu trong tài liệu này phải được tuân thủ nghiêm ngặt và rõ ràng bởi cá nhân được đào tạo phù hợp và có đủ trình độ nhằm đảm bảo sử dụng an toàn và đúng cách (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này. Phải đọc và hiểu hoàn toàn tất cả nội dung của tài liệu này trước khi sử dụng (các) sản phẩm đó.

VIỆC KHÔNG ĐỌC TOÀN BỘ VÀ TUÂN THỦ RÕ RÀNG TẤT CẢ CÁC HƯỚNG DẪN NÊU TRONG TÀI LIỆU NÀY CÓ THỂ DẪN ĐẾN GÂY HƯ HỎNG (CÁC) SẢN PHẨM, GÂY TỔN THƯƠNG CHO CON NGƯỜI, BAO GỒM NGƯỜI DÙNG HOẶC NHỮNG NGƯỜI KHÁC VÀ GÂY THIẾT HẠI TÀI SẢN KHÁC, VÀ SẼ LÀM MẤT HIỆU LỰC BẢO HÀNH ÁP DỤNG CHO (CÁC) SẢN PHẨM ĐÓ.

ILLUMINA KHÔNG CHỊU BẤT KỲ TRÁCH NHIỆM NÀO PHÁT SINH TỪ VIỆC SỬ DỤNG KHÔNG ĐÚNG CÁCH (CÁC) SẢN PHẨM ĐƯỢC MÔ TẢ TRONG TÀI LIỆU NÀY (BAO GỒM CẢ CÁC BỘ PHẬN CỦA SẢN PHẨM HOẶC PHẦN MỀM).

© 2021 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

Tất cả các nhãn hiệu đều là tài sản của Illumina, Inc. hoặc các chủ sở hữu tương ứng. Để biết thông tin cụ thể về nhãn hiệu, hãy xem trang web www.illumina.com/company/legal.html.

Lịch sử sửa đổi

Số tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
1000000109376 v04	Tháng 4 2021	<p>Đã thêm hướng dẫn về cách nhập các tệp ngưỡng.</p> <p>Đã thêm quy trình công việc DRAGEN DNA Amplicon.</p> <p>Đã thêm các tính năng của Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3.</p> <p>Đã thêm thông tin về việc chọn máy chủ proxy.</p> <p>Đã cập nhật nhiệt độ vận chuyển và bảo quản RSB có Tween 20.</p> <p>Đã cập nhật quy trình công việc DRAGEN RNA để bao gồm biểu hiện gen khác biệt.</p> <p>Đã cập nhật cấu trúc thư mục đầu ra giải trình tự.</p> <p>Đã cập nhật các đề xuất định dạng bảng thông tin mẫu v2.</p>
1000000109376 v03	Tháng 11 2020	<p>Đã sửa số danh mục.</p> <p>Đã thêm thông tin về cách thêm người dùng mới.</p>

Số tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
1000000109376 v02	Tháng 10 2020	<p>Đã thêm Bộ kit thuốc thử NextSeq 1000/2000 P3.</p> <p>Đã thêm quy trình công việc DRAGEN Single Cell RNA.</p> <p>Đã thêm quy trình công việc DRAGEN Enrichment.</p> <p>Đã thêm các tùy chọn nén FASTQ.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn về cách cài đặt các bản cập nhật luồng và giấy phép DRAGEN.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn về cách nhập hệ gen tham chiếu tùy chỉnh.</p> <p>Đã cập nhật thể tích và nồng độ nạp cho các loại thư viện.</p> <p>Đã cập nhật hướng dẫn pha loãng thư viện.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn về cách tự động tháo rửa hộp thuốc thử.</p> <p>Đã cập nhật thông tin về số chu kỳ được hỗ trợ.</p> <p>Đã cập nhật các tùy chọn tùy chỉnh thiết bị.</p> <p>Đã cập nhật hướng dẫn Thiết lập lần chạy trên thiết bị.</p> <p>Đã cập nhật cấu trúc đầu ra giải trình tự DRAGEN.</p> <p>Đã thêm thông tin về báo cáo QC DRAGEN.</p> <p>Đã thêm thông tin về cách xóa hệ gen tham chiếu tùy chỉnh khỏi ổ cứng.</p> <p>Đã thêm thông tin về cách thực hiện kiểm tra hệ thống.</p> <p>Đã cập nhật cài đặt bảng thông tin mẫu v2.</p>

Số tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
1000000109376 v01	Tháng 6 năm 2020	<p>Đã cập nhật thông tin mô tả phần mềm cho Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000.</p> <p>Đã nêu rõ sự khác biệt giữa chế độ Đám mây, Lai, Cục bộ và Độc lập trong toàn bộ hướng dẫn.</p> <p>Đã cập nhật hướng dẫn bảo quản và rã đông hộp.</p> <p>Đã cập nhật thông tin về số chu kỳ được hỗ trợ.</p> <p>Đã cập nhật hướng dẫn về cách thiết lập quá trình phân tích phụ.</p> <p>Đã cập nhật số danh mục của bộ kit thuốc thử.</p> <p>Đã cập nhật sơ đồ quy trình giải trình tự.</p> <p>Đã cập nhật hướng dẫn về cách chỉ định ổ đĩa mạng làm thư mục đầu ra mặc định.</p> <p>Đã cập nhật bảng các loại thư viện được hỗ trợ.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn về cách nhập hệ gen tham chiếu tùy chỉnh.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn về cách thiết lập lần chạy bằng bộ kit chỉ thị tùy chỉnh và bộ kit chuẩn bị thư viện tùy chỉnh.</p> <p>Đã cập nhật yêu cầu về tài khoản người dùng và mật khẩu.</p> <p>Đã thêm chi tiết về cấu trúc thư mục đầu ra DRAGEN.</p> <p>Đã nêu rõ hướng dẫn về cách tháo xả thuốc thử đã sử dụng ra khỏi hộp.</p> <p>Đã thêm thông tin cơ bản trên bảng chất lượng.</p> <p>Đã cập nhật hướng dẫn về cách cài đặt bản cập nhật phần mềm điều khiển.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn về cách thực hiện lại lần chạy.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn về cách cập nhật luồng và giấy phép DRAGEN.</p> <p>Đã thêm hướng dẫn tùy chỉnh thiết bị.</p> <p>Đã cập nhật hình ảnh minh họa để phản ánh cách ghi nhãn mới.</p> <p>Đã thay đổi cửa thành vành chắn trong toàn bộ hướng dẫn.</p> <p>Đã thêm mô tả về hai cổng Ethernet.</p>

Số tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
1000000109376 v00	Tháng 3 năm 2020	Phát hành lần đầu.

Mục lục

Tổng quan về hệ thống	1
Tài nguyên khác	1
Phần cứng thiết bị	2
Phần mềm tích hợp	5
Quản lý quy trình	6
Sơ đồ quy trình giải trình tự	7
Cách thức hoạt động của quá trình giải trình tự	7
Cấu hình hệ thống	10
Các yêu cầu về tài khoản người dùng	10
Định cấu hình BaseSpace Sequence Hub và Hỗ trợ từ Proactive	12
Chỉ định vị trí thư mục đầu ra mặc định	14
Nhập hệ gen tham chiếu tùy chỉnh	17
Nhập tệp ngưỡng nhiễu	17
Định cấu hình chế độ chạy	19
Tùy chỉnh thiết bị	20
Vật tư tiêu hao và thiết bị	22
Vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự	22
Vật tư tiêu hao phụ trợ	25
Thiết bị phụ trợ	27
Quy trình	29
Những điều cần lưu ý khi giải trình tự	29
Lập kế hoạch một lần chạy giải trình tự trong BaseSpace Sequence Hub	30
Rã đông hộp bao kín và tế bào dòng chảy	38
Pha loãng thư viện	40
Nạp vật tư tiêu hao vào hộp	42
Khởi tạo một lần chạy giải trình tự	44
Đầu ra giải trình tự	52
Tổng quan về Real-Time Analysis	52
Quy trình công việc của Real-Time Analysis	54
Tệp đầu ra giải trình tự	58
Tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN	59
Cấu trúc thư mục tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN	68
Bảo dưỡng	71
Dọn dẹp dung lượng ổ cứng	71
Cập nhật phần mềm	71
Cập nhật quy trình công việc và giấy phép DRAGEN	73

Thay bộ lọc không khí	75
Khắc phục sự cố	77
Xử lý thông báo lỗi	77
Bảo quản lại vật tư tiêu hao	78
Hủy lần chạy	78
Thực hiện lại lần chạy	79
Đóng – mở nguồn điện thiết bị	79
Thực hiện kiểm tra hệ thống	80
Khôi phục về cài đặt gốc	81
Chụp hình ảnh đã cài đặt	81
Khôi phục hình ảnh đã chụp	81
Tài nguyên và tham chiếu	83
Cài đặt bảng thông tin mẫu v2	83
Giải trình tự theo chu kỳ tối	96
Chỉ mục	98
Hỗ trợ kỹ thuật	101

Tổng quan về hệ thống

Hệ thống giải trình tự Illumina® NextSeq™ 1000 và Hệ thống giải trình tự Illumina® NextSeq™ 2000 mang đến phương pháp tiếp cận có mục tiêu về NGS¹ (công nghệ giải trình tự thế hệ mới). Hệ thống tập trung vào ứng dụng này tích hợp công nghệ giải trình tự của Illumina vào một thiết bị để bàn hiệu quả mà không tốn nhiều chi phí có các tính năng sau đây:

- **Khả năng tiếp cận và độ tin cậy** — NextSeq 1000/2000 có khả năng phân tích DRAGEN cục bộ cùng chức năng biến tính và pha loãng trên thiết bị. Mô-đun tạo ảnh được tích hợp vào hệ thống và các thành phần chất lỏng được tích hợp sẵn trong vật tư tiêu hao, giúp đơn giản hóa việc bảo dưỡng thiết bị.
- **Nạp vật tư tiêu hao trong một bước** — Hộp dùng một lần nạp sẵn tất cả thuốc thử cần thiết cho một lần chạy. Thụ viện và tế bào dòng chảy được nạp trực tiếp vào hộp, sau đó hộp được nạp vào thiết bị. Khả năng nhận dạng tích hợp cho phép theo dõi chính xác.
- **Phần mềm NextSeq 1000/2000** — Một bộ phần mềm tích hợp kiểm soát các hoạt động của thiết bị, xử lý hình ảnh và tạo phát hiện base.
 - **Chế độ Đám mây** — Lập kế hoạch lần chạy với Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trên BaseSpace Sequence Hub. Quy trình công việc phân tích đã chọn được khởi tạo tự động trong đám mây. Dữ liệu và kết quả phân tích lần chạy cũng được cung cấp trên đám mây.
 - **Chế độ Lai** — Lập kế hoạch lần chạy với Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trên BaseSpace Sequence Hub. Quy trình công việc phân tích đã chọn sau đó được khởi tạo thông qua DRAGEN trên thiết bị.
 - **Chế độ Cục bộ** — Lập kế hoạch lần chạy mang tính chất cục bộ với định dạng tệp bảng thông tin mẫu v2. Quy trình công việc phân tích đã chọn được khởi tạo tự động thông qua DRAGEN trên thiết bị.
 - **Chế độ Độc lập** — Lập kế hoạch chạy mà không có bảng thông tin mẫu.

Mục này giới thiệu tổng quan về hệ thống, bao gồm cả thông tin về phần cứng, phần mềm và phân tích dữ liệu. Mục này cũng tập hợp các khái niệm và thuật ngữ chính được sử dụng trong toàn bộ tài liệu. Để biết thông số kỹ thuật chi tiết, bảng dữ liệu, ứng dụng và các sản phẩm liên quan, xem [trang giới thiệu sản phẩm Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000](#) trên trang web của Illumina.

Tài nguyên khác

[Các trang hỗ trợ về Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000](#) trên trang web của Illumina cung cấp thêm nhiều tài nguyên khác về hệ thống. Những tài nguyên này bao gồm các sản phẩm phần mềm, đào tạo, các sản phẩm tương thích và tài liệu hướng dẫn dưới đây. Luôn kiểm tra các trang hỗ trợ

¹giải trình tự thế hệ mới

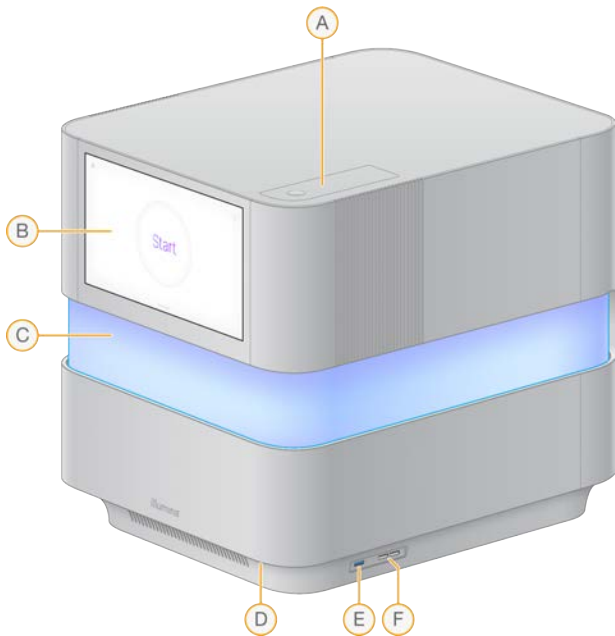
để cập nhật phiên bản mới nhất.

Tài nguyên	Mô tả
Trình chọn giao thức tùy chỉnh	Công cụ giúp tạo hướng dẫn từ đầu đến cuối phù hợp với phương pháp chuẩn bị thư viện, các tham số chạy và phương pháp phân tích của bạn, với các tùy chọn để tinh chỉnh mức độ chi tiết.
Hướng dẫn về an toàn và tuân thủ quy định của Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000 (tài liệu số 1000000111928)	Cung cấp thông tin liên quan đến các lưu ý về an toàn khi vận hành, các tuyên bố tuân thủ và cách ghi nhãn thiết bị.
Hướng dẫn về tuân thủ quy định của Mô-đun bộ đọc RFID (tài liệu số 1000000002699)	Cung cấp thông tin về bộ đọc RFID trong thiết bị này, các chứng nhận tuân thủ quy định và các lưu ý về an toàn.
Hướng dẫn về cách biến tính và pha loãng thư viện của NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139235)	Cung cấp hướng dẫn về cách biến tính và pha loãng thư viện đã chuẩn bị theo cách thủ công cho một lần chạy giải trình tự và chuẩn bị chất kiểm chuẩn PhiX tùy chọn.
Hướng dẫn về các môi tùy chỉnh cho NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139569)	Cung cấp thông tin về cách thay thế các môi giải trình tự Illumina bằng các môi giải trình tự tùy chỉnh.
Hướng dẫn chuẩn bị khu vực làm việc của Hệ thống giải trình tự NextSeq 2000 (tài liệu số 1000000109378)	Cung cấp thông số kỹ thuật về không gian phòng thí nghiệm, yêu cầu về điện và các lưu ý về môi trường và mạng.
Trợ giúp về BaseSpace (help.basespace.illumina.com)	Cung cấp thông tin về cách sử dụng BaseSpace™ Sequence Hub và các tùy chọn phân tích hiện có.
Hướng dẫn tổng hợp adapter chỉ thị (tài liệu số 1000000041074)	Cung cấp hướng dẫn tổng hợp và các chiến lược lập chỉ thị kép.
Trình tự adapter Illumina (tài liệu số 1000000002694)	Cung cấp danh sách trình tự adapter cho các bộ chuẩn bị thư viện Illumina.

Phần cứng thiết bị

Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000 bao gồm nút nguồn, màn hình, thanh trạng thái, khoang chứa vật tư tiêu hao và cổng USB.

Hình 1 Thành phần hệ thống bên ngoài



- A. **Khoang chứa bộ lọc không khí** — Giúp tiếp cận bộ lọc không khí có thể thay thế.
- B. **Màn hình cảm ứng** — Cho phép định cấu hình và thiết lập trên thiết bị thông qua giao diện phần mềm điều khiển.
- C. **Thanh trạng thái** — Màu sắc đèn biến chuyển khi hệ thống trải qua các bước trong quy trình công việc. Đèn màu xanh lam và màu tím chỉ báo hoạt động tương tác (ví dụ: kiểm tra trước lần chạy), còn đèn nhiều màu chỉ báo các thời điểm và dữ liệu đáng chú ý (ví dụ: hoàn tất giải trình tự). Đèn màu đỏ chỉ báo các lỗi nghiêm trọng.
- D. **Nút nguồn** — Điều khiển nguồn điện thiết bị và chỉ báo hệ thống đang bật (phát sáng), tắt (tối) hay tắt nhưng có nguồn AC (nhấp nháy).
- E. **Cổng USB 3.0** — Cổng kết nối ổ đĩa di động ngoài để truyền dữ liệu.
- F. **Cổng USB 2.0** — Cổng kết nối chuột và bàn phím.

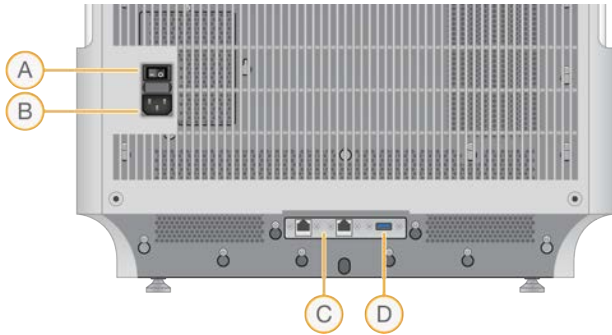
Kết nối nguồn điện và phần phụ trợ

Bạn có thể nhẹ nhàng di chuyển thiết bị để tiếp cận công tắc nguồn, cổng USB và các kết nối phần phụ trợ khác ở mặt sau của thiết bị.

Mặt sau của thiết bị có công tắc và đầu vào điều khiển nguồn điện cho thiết bị và hai cổng Ethernet dành cho kết nối Ethernet tùy chọn. Qua cổng USB 3.0, bạn có thể kết nối ổ đĩa di động ngoài để truyền dữ liệu (exFAT không được hỗ trợ trên nền tảng dựa trên Linux này).

Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000 được trang bị hai cổng Ethernet để mở rộng khả năng và tính linh hoạt của hệ thống. Ví dụ: một cổng Ethernet có thể dành riêng cho giao tiếp với ổ đĩa mạng nội bộ và cổng còn lại dành riêng cho giao tiếp bên ngoài như BaseSpace Sequence Hub hoặc Hỗ trợ từ Proactive.

Hình 2 Các thành phần trên bảng điều khiển mặt sau

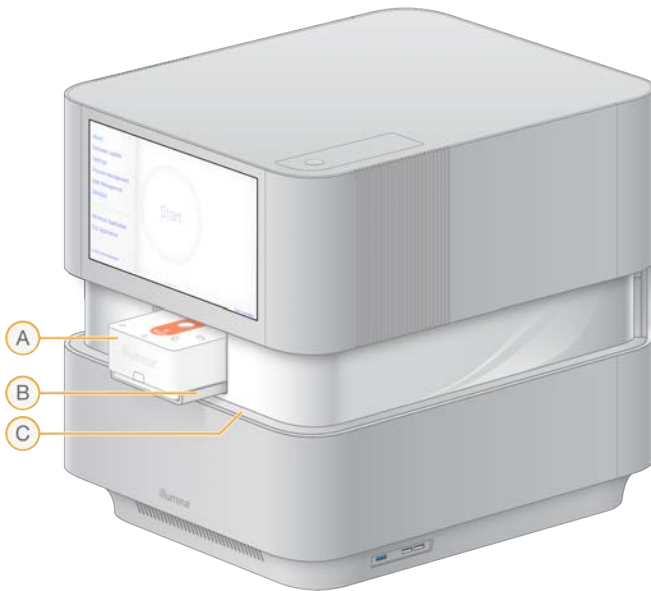


- A. **Công tắc bật/tắt** — Bật và tắt nguồn thiết bị.
- B. **Đầu vào nguồn điện** — Kết nối dây nguồn.
- C. **Cổng Ethernet (2)** — Kết nối cáp Ethernet tùy chọn.
- D. **Cổng USB 3.0** — Cổng kết nối ổ cứng bên ngoài để truyền dữ liệu.

Khoang chứa vật tư tiêu hao

Khoang chứa vật tư tiêu hao chứa hộp, bao gồm tế bào dòng chảy và thư viện đã pha loãng, cho một lần chạy giải trình tự.

Hình 3 Khoang chứa vật tư tiêu hao đã nạp



- A. **Hộp** — Chứa tế bào dòng chảy, thư viện, thuốc thử và thu thập thuốc thử đã dùng trong quá trình chạy.
- B. **Khay** — Giữ hộp trong suốt quá trình giải trình tự.
- C. **Vành chặn** — Bạn có thể mở ra để tiếp cận khoang chứa vật tư tiêu hao.

Phần mềm tích hợp

Bộ phần mềm hệ thống bao gồm các ứng dụng được tích hợp có nhiệm vụ thực hiện các lần chạy giải trình tự và phân tích.

- **Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000** — Điều khiển hoạt động của thiết bị và cung cấp giao diện để định cấu hình hệ thống, thiết lập lần chạy giải trình tự và theo dõi các số liệu thống kê về lần chạy khi quá trình giải trình tự diễn ra.
- **Real-Time Analysis (RTA3)** — Thực hiện phân tích hình ảnh và phát hiện base trong lần chạy. Để biết thêm thông tin, xem mục [Đầu ra giải trình tự trên trang 52](#).
- **Universal Copy Service** — Sao chép các tệp đầu ra giải trình tự từ thư mục lần chạy vào BaseSpace Sequence Hub (nếu có) và thư mục đầu ra, nơi bạn có thể truy cập vào các tệp đó.

Phần mềm điều khiển có tính tương tác và chạy các quy trình trong nền tự động. Real-Time Analysis và Universal Copy Service chỉ chạy các quy trình trong nền.

Thông tin hệ thống

Chọn menu phần mềm điều khiển ở góc trên bên trái để mở mục About (Giới thiệu). Mục About (Giới thiệu) có thông tin liên hệ của Illumina và thông tin hệ thống sau:

- Số seri thiết bị
- Tên máy tính
- Phiên bản bộ phần mềm hệ thống
- Phiên bản hệ điều hành hình ảnh
- Tổng số lần chạy

Thông báo và cảnh báo

Biểu tượng thông báo nằm ở góc trên cùng bên phải. Khi có cảnh báo hoặc có lỗi xảy ra, bảng điều khiển bên phải sẽ trượt ra để hiển thị thông báo. Bạn có thể chọn biểu tượng này bất cứ lúc nào để xem danh sách các thông báo Current (Hiện tại) hoặc Historic (Cũ) về các cảnh báo và lỗi.

- Cảnh báo yêu cầu sự chú ý nhưng không dừng quá trình chạy hoặc yêu cầu hành động nào khác ngoài việc xác nhận.
- Lỗi yêu cầu hành động trước khi bắt đầu hoặc trong khi tiến hành chạy.

Thu nhỏ phần mềm điều khiển

Thu nhỏ phần mềm điều khiển để truy cập các ứng dụng khác. Ví dụ: để duyệt thư mục đầu ra trong File Explorer hoặc tìm bảng thông tin mẫu.

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Minimize Application** (Thu nhỏ ứng dụng). Phần mềm điều khiển được thu nhỏ.

- Để mở rộng phần mềm điều khiển, Chọn **NextSeq 1000/2000 Control Software** (Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000) từ thanh công cụ.

Quản lý quy trình

Màn hình Process Management (Quản lý quy trình) hiển thị các lần chạy tạm thời được lưu trữ tại `/usr/local/illumina/runs`. Mỗi lần chạy được xác định theo ngày chạy, tên và ID. Các thông tin như trạng thái của Lần chạy, Quá trình phân tích phụ, Thư mục đầu ra và Đám mây cũng được hiển thị cho mỗi lần chạy. Chọn lần chạy để xem thông tin bổ sung, bao gồm Quy trình công việc, % trung bình đạt điểm chất lượng Q30, Tổng số đoạn đọc bộ lọc đi qua (PF) và Tổng năng suất. Để xóa lần chạy và dọn dẹp dung lượng, xem mục [Dọn dẹp dung lượng ổ cứng trên trang 71](#). Để thực hiện lại quá trình phân tích trên thiết bị, xem mục [Thực hiện lại lần chạy trên trang 79](#).

Status of Run (Trạng thái của lần chạy)

Mục này hiển thị trạng thái của lần chạy giải trình tự:

- **In Progress** (Đang xử lý) — Đang chạy giải trình tự.
- **Complete** (Hoàn tất) — Đã hoàn tất chạy giải trình tự.
- **Stopped** (Đã dừng) — Đã dừng chạy giải trình tự.
- **Errored** (Bị lỗi) — Đã xảy ra lỗi khi chạy giải trình tự.

Status of Secondary Analysis (Trạng thái của quá trình phân tích phụ)

Mục này hiển thị trạng thái của quá trình phân tích phụ DRAGEN trên thiết bị. Trạng thái này sẽ hiển thị là N/A (Không áp dụng) nếu quá trình phân tích đang diễn ra trong BaseSpace Sequence Hub.

- **Not Started** (Chưa bắt đầu) — Quá trình phân tích DRAGEN chưa bắt đầu.
- **In Progress** (Đang xử lý) — Quá trình phân tích DRAGEN đang diễn ra.
- **Stopped** (Đã dừng) — Quá trình phân tích DRAGEN đã dừng.
- **Errored** (Bị lỗi) — Quá trình phân tích DRAGEN có lỗi.
- **Complete** (Hoàn tất) — Quá trình phân tích DRAGEN đã hoàn tất.

Status of Output Folder (Trạng thái của thư mục đầu ra)

Mục này hiển thị trạng thái của các tệp đang được sao chép vào thư mục đầu ra:

- **In Progress** (Đang xử lý) — Đang sao chép các tệp vào thư mục đầu ra.
- **Complete** (Hoàn tất) — Đã sao chép thành công các tệp vào thư mục đầu ra.

Status of Cloud (Trạng thái của đám mây) (BaseSpace Sequence Hub)

Mục này hiển thị trạng thái của các tệp đang được tải lên BaseSpace Sequence Hub thông qua đám mây:

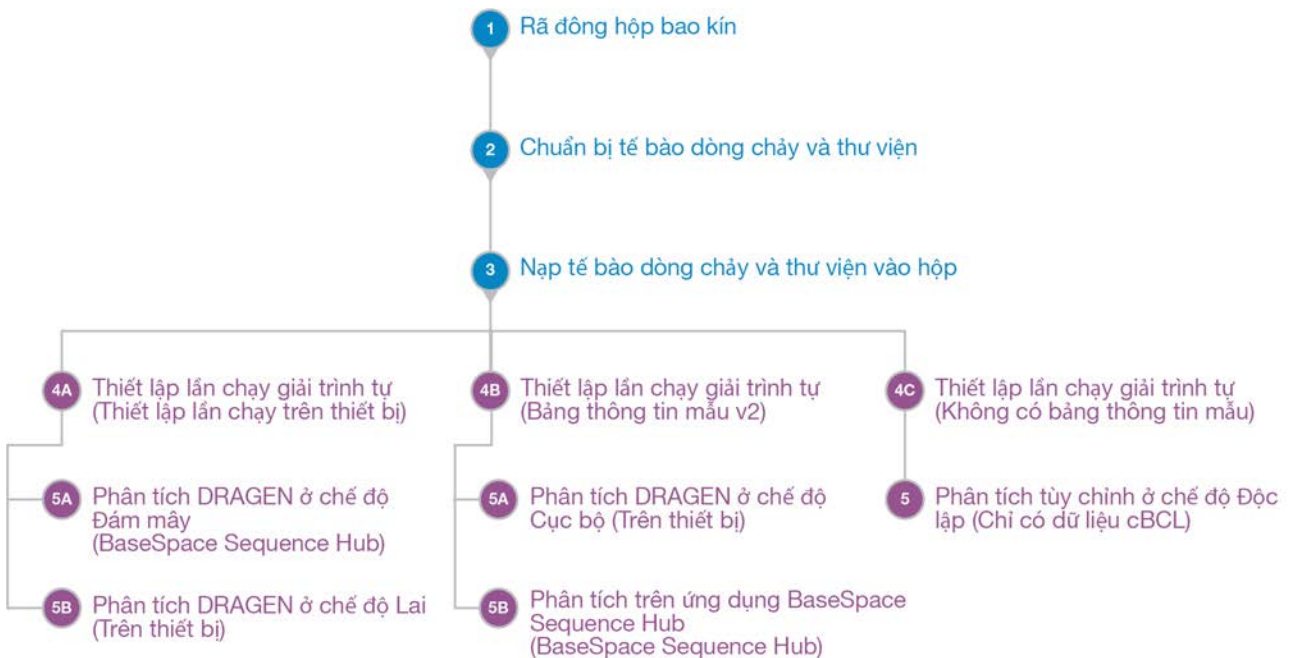
- **In Progress** (Đang xử lý) — Phần mềm điều khiển đang tải các tệp lên BaseSpace Sequence Hub.
- **Complete** (Hoàn tất) — Đã tải thành công các tệp lên BaseSpace Sequence Hub.

Khắc phục sự cố về trạng thái

- Nếu quá trình chạy đang diễn ra, đóng màn hình Process Management (Quản lý quy trình), đợi khoảng năm phút rồi mở lại.
- Nếu quá trình chạy hiện không diễn ra, đóng – mở nguồn điện thiết bị, rồi mở lại màn hình Process Management (Quản lý quy trình). Xem mục [Đóng – mở nguồn điện thiết bị trên trang 79](#).

Sơ đồ quy trình giải trình tự

Sơ đồ sau minh họa quy trình giải trình tự bằng NextSeq 1000/2000.



Cách thức hoạt động của quá trình giải trình tự

Các bước tạo cụm, giải trình tự và phân tích tạo thành quá trình giải trình tự trên Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000. Mỗi bước diễn ra tự động trong lần chạy giải trình tự. Tùy thuộc vào cấu hình hệ thống, việc phân tích thêm được thực hiện ngoài thiết bị sau khi lần chạy hoàn tất.

Tạo cụm

Thư viện¹ được tự động biến tính thành các sợi đơn và tiếp tục pha loãng trên thiết bị. Trong quá trình tạo cụm, các phân tử DNA đơn lẻ gắn với bề mặt của tế bào dòng chảy và được khuếch đại để hình thành các cụm². Quá trình tạo cụm mất khoảng 4 giờ.

Giải trình tự

Các cụm được tạo ảnh bằng phương pháp hóa học hai kênh, một kênh xanh lục và một kênh xanh lam, để mã hóa dữ liệu cho bốn nucleotide. Sau khi một ô trên tế bào dòng chảy được tạo ảnh, ô tiếp theo sẽ được tạo ảnh. Quá trình này được lặp lại cho mỗi chu kỳ giải trình tự (khoảng 5 phút mỗi chu kỳ). Sau khi phân tích hình ảnh, phần mềm Real-Time Analysis (Phân tích theo thời gian thực) tiến hành phát hiện base³, lọc và chấm điểm chất lượng.⁴

Quá trình phân tích chính

Khi lần chạy diễn ra, phần mềm điều khiển tự động chuyển các tệp phát hiện base⁵ (*.cbcl) vào thư mục đầu ra được chỉ định để phân tích dữ liệu. Trong quá trình chạy giải trình tự, phần mềm real time analysis (phân tích theo thời gian thực, RTA3) tiến hành phân tích hình ảnh, phát hiện base và tách đoạn⁶. Khi quá trình giải trình tự hoàn tất, quá trình phân tích phụ bắt đầu. Phương pháp phân tích dữ liệu phụ tùy thuộc vào ứng dụng và cấu hình hệ thống.

Quá trình phân tích phụ

BaseSpace Sequence Hub là môi trường điện toán đám mây của Illumina, phục vụ việc giám sát lần chạy, phân tích dữ liệu, lưu trữ và cộng tác. Nền tảng này lưu trữ các ứng dụng DRAGEN và BaseSpace Sequence Hub chuyên hỗ trợ các phương pháp phân tích phổ biến để giải trình tự.

Sau khi quá trình phân tích giải trình tự ban đầu hoàn tất, DRAGEN tiến hành quá trình phân tích phụ bằng một trong các luồng phân tích có sẵn.

Nếu sử dụng chế độ Đám mây hoặc Lai, DRAGEN truy xuất bảng thông tin mẫu, hệ gen tham chiếu và các tệp đầu vào của lần chạy từ mục Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trong BaseSpace Sequence Hub. Ở chế độ Đám mây, dữ liệu cBCL được tự động tải lên BaseSpace Sequence

¹Một mẫu DNA hoặc RNA được gắn adapter để giải trình tự. Phương pháp chuẩn bị sẽ khác nhau.

²Một nhóm sợi DNA vô tính trên một tế bào dòng chảy, tạo ra một đoạn đọc giải trình tự. Mỗi sợi DNA trên một tế bào dòng chảy khởi đầu một mẫu được khuếch đại cho đến khi cụm bao gồm hàng trăm hoặc hàng nghìn bản sao. Ví dụ: tế bào dòng chảy có 10.000 cụm sẽ cho 10.000 đoạn đọc đơn hoặc 20.000 đoạn đọc kết đôi.

³Xác định một base (A, C, G hoặc T) cho mỗi cụm trong một ô ở một chu kỳ cụ thể.

⁴Tính toán một tập hợp các yếu tố dự đoán chất lượng cho mỗi phát hiện base, sau đó sử dụng giá trị dự đoán để tra cứu điểm chất lượng.

⁵Chứa phát hiện base và điểm chất lượng có liên quan cho mỗi cụm của mỗi chu kỳ giải trình tự.

⁶Một quá trình phân tích giúp phân biệt các đoạn đọc cho mỗi thư viện trong một nhóm gộp.

Hub và BaseSpace Sequence Hub bắt đầu quá trình phân tích phụ DRAGEN. Ở chế độ Lai, quá trình phân tích phụ DRAGEN được thực hiện trên thiết bị và các tệp đầu ra có thể được lưu trữ trong thư mục đã chọn hoặc trên đám mây.

Nếu sử dụng chế độ Cục bộ, DRAGEN truy xuất bảng thông tin mẫu được cung cấp, hệ gen tham chiếu và các tệp đầu vào của lần chạy từ Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000. Quá trình phân tích phụ DRAGEN được thực hiện trên thiết bị và các tệp đầu ra được lưu trữ trong thư mục đầu ra đã chọn. Nếu Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy) được chọn, quá trình phân tích cũng có thể được bắt đầu thông qua các ứng dụng BaseSpace Sequence Hub sau khi hoàn tất giải trình tự.

Nếu sử dụng chế độ Độc lập, hãy thiết lập lần chạy mà không có bảng thông tin mẫu. Quy trình công việc này được khuyến nghị cho các quy trình công việc phân tích tùy chỉnh bắt đầu từ dữ liệu cBCL.

- Để biết thêm thông tin về BaseSpace Sequence Hub, hãy truy cập [Trợ giúp trực tuyến về BaseSpace Sequence Hub](#).
- Để biết thêm thông tin về DRAGEN, hãy truy cập [trang hỗ trợ Nền tảng DRAGEN Bio-IT](#).
- Để biết thông tin tổng quan về tất cả các ứng dụng, xem [Các ứng dụng BaseSpace](#).

Cấu hình hệ thống

Mục này hướng dẫn cách thiết lập hệ thống, bao gồm cả thông tin mô tả về các tùy chọn cài đặt phần mềm.

Các hướng dẫn này chủ yếu mô tả phần mềm điều khiển, cùng một số thông tin về cách định cấu hình mạng và hệ điều hành.

i | Bạn sẽ được nhắc mở khóa đăng nhập khi sử dụng Google Chrome trên thiết bị. Bạn có thể bỏ qua và hủy lời nhắc một cách an toàn.

Các yêu cầu về tài khoản người dùng

Hệ điều hành Linux có ba loại tài khoản:

- root (quản trị viên cấp cao)
- ilmnadmin (quản trị viên)
- ilmnuser (người dùng)

Tài khoản quản trị viên chỉ phục vụ cho việc áp dụng các bản cập nhật hệ thống, như cập nhật Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 hoặc dành cho nhân viên CNTT sử dụng để gắn kết ổ đĩa mạng ổn định.

Thực hiện tất cả các chức năng khác, bao gồm cả giải trình tự, từ tài khoản người dùng.

Yêu cầu về mật khẩu

Kỹ sư bảo dưỡng tại hiện trường bắt đầu thay đổi mật khẩu cho cả ba loại tài khoản sau khi hoàn tất việc lắp đặt thiết bị. Hãy cập nhật mỗi mật khẩu 180 ngày một lần, khi được nhắc.

Bảng 1 Các chính sách mật khẩu mặc định

Chính sách	Cài đặt
Áp dụng lịch sử mật khẩu	Năm mật khẩu được nhớ
Ngưỡng khóa	Mười lần đăng nhập không hợp lệ
Độ dài mật khẩu tối thiểu	Mười ký tự
Số loại ký tự tối thiểu	Ba trong số các loại sau: số, chữ hoa, chữ thường và ký hiệu
Số ký tự lặp lại tối đa	Ba ký tự

Chính sách	Cài đặt
Mật khẩu phải đáp ứng các yêu cầu về độ phức tạp	Bị vô hiệu hóa
Lưu trữ mật khẩu sử dụng mã hóa đảo ngược	Bị vô hiệu hóa

Thêm người dùng mới

1. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.
2. Chọn nút nguồn, sau đó mở menu thả xuống ilmnadmin.
3. Chọn **Account Settings** (Cài đặt tài khoản).
4. Chọn **Unlock** (Mở khóa), rồi nhập mật khẩu của tài khoản ilmnadmin.
5. Chọn **Add User** (Thêm người dùng).
6. Chọn loại tài khoản Standard (Tiêu chuẩn), sau đó nhập tên người dùng mới.
7. Chọn **Set password now** (Đặt mật khẩu ngay), sau đó nhập mật khẩu.
8. Chọn **Add** (Thêm).
Người dùng mới được thêm vào danh sách Người dùng.
9. Hãy cấp cho người dùng quyền truy cập vào Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 như sau.
 - a. Mở thiết bị đầu cuối.
 - b. Nhập nội dung sau:

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <tên người dùng mới>
```
 - c. Nếu được nhắc, hãy nhập mật khẩu cho tài khoản ilmnadmin.
10. Để xác nhận đã thiết lập thành công quyền người dùng, hãy làm như sau.
 - a. Đăng nhập vào tài khoản người dùng mới.
 - b. Chuyển đến NextSeq 1000/2000 Control Software (Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000).
 - c. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
 - d. Trong Default Output Folder (Thư mục đầu ra mặc định), hãy đảm bảo bạn có thể chọn và lưu đường dẫn thư mục đầu ra.
Nếu bạn có thể chọn và lưu đường dẫn thư mục đầu ra mà không gặp lỗi thì các quyền đã được thiết lập thành công.

Đặt lại mật khẩu

Phần này hướng dẫn chi tiết cách đặt lại mật khẩu cho tài khoản ilmnuser, ilmnadmin hoặc root. Bạn không thể khôi phục mật khẩu. Khi đặt lại mật khẩu không thể tránh né cơ chế khóa tài khoản sau quá nhiều lần nhập sai mật khẩu. Bạn phải đợi 10 phút rồi mới có thể đặt lại mật khẩu hoặc đăng nhập.

Đặt lại mật khẩu cho tài khoản ilmuser

Bạn có thể đặt lại mật khẩu cho tài khoản ilmuser nếu biết mật khẩu của tài khoản ilmnadmin hoặc root.

1. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.
2. Mở thiết bị đầu cuối.
3. Nhập `sudo passwd ilmuser`.
4. Nhập mật khẩu của tài khoản ilmnadmin khi được nhắc.
5. Nhập mật khẩu mới cho tài khoản ilmuser khi được nhắc.
6. Nhập lại mật khẩu mới cho tài khoản ilmuser khi được nhắc để xác nhận mật khẩu mới.

Đặt lại mật khẩu cho tài khoản ilmnadmin

Bạn có thể đặt lại mật khẩu cho tài khoản ilmnadmin nếu biết mật khẩu của tài khoản root.

1. Đăng nhập vào tài khoản root.
2. Mở thiết bị đầu cuối.
3. Nhập `passwd ilmnadmin` để thay đổi mật khẩu của tài khoản ilmadmin hoặc nhập `passwd ilmuser` để thay đổi mật khẩu của tài khoản ilmuser.
4. Nhập mật khẩu mới khi được nhắc.
5. Nhập lại mật khẩu mới khi được nhắc để xác nhận mật khẩu mới.

Đặt lại mật khẩu cho tài khoản root

Để đặt lại mật khẩu cho tài khoản root, hãy sử dụng một trong các tùy chọn sau:

- Nếu bạn biết mật khẩu từ lần chụp ảnh hệ điều hành gần nhất, hãy khôi phục về ảnh đã lưu đó.
- Nếu bạn không nhớ mật khẩu, hãy liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.

Định cấu hình BaseSpace Sequence Hub và Hỗ trợ từ Proactive

Thực hiện theo các hướng dẫn sau để định cấu hình BaseSpace Sequence Hub và Hỗ trợ từ Proactive trên hệ thống của bạn. Để thiết lập tài khoản BaseSpace Sequence Hub, hãy truy cập [Trợ giúp trực tuyến về BaseSpace Sequence Hub](#).

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).

2. Đối với phần BaseSpace Sequence Hub and Proactive Support Settings (Cài đặt BaseSpace Sequence Hub và Hỗ trợ từ Proactive), chọn một trong các tùy chọn sau:

Tùy chọn	Thông tin mô tả và yêu cầu
Proactive Support Only* (Chỉ Hỗ trợ từ Proactive)	Gửi dữ liệu về hiệu suất của thiết bị tới Illumina để khắc phục sự cố nhanh hơn. Yêu cầu kết nối Internet.
Proactive and Run Monitoring (Proactive và giám sát lần chạy)	Gửi tệp InterOp và tệp nhật ký đến BaseSpace Sequence Hub để giám sát lần chạy từ xa. Đây là tùy chọn mặc định. Yêu cầu phải có tài khoản BaseSpace Sequence Hub và kết nối Internet.
Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy)	Gửi tệp InterOp, tệp nhật ký và dữ liệu về lần chạy đến BaseSpace Sequence Hub để theo dõi và phân tích từ xa. Yêu cầu phải có tài khoản BaseSpace Sequence Hub, kết nối Internet và bảng thông tin mẫu.
None (Không)	Ngắt kết nối lần chạy khỏi các tài khoản BaseSpace Sequence Hub và không gửi dữ liệu về hiệu suất của thiết bị cho Hỗ trợ từ Illumina Proactive.

* Tùy thuộc vào phiên bản phần mềm điều khiển, tên của tùy chọn cài đặt này trên giao diện phần mềm có thể khác với tên trong hướng dẫn này.

Khi bạn chọn bất kỳ tùy chọn nào ngoại trừ None (Không), Hỗ trợ từ Proactive sẽ bật. Đây là dịch vụ miễn phí cho phép bạn xem dữ liệu hiệu suất trên Trang tổng quan dành cho khách hàng MyIllumina, đồng thời hỗ trợ nhóm dịch vụ của Illumina khắc phục sự cố nhanh hơn.

i | Tùy chọn Proactive and Run Monitoring (Proactive và giám sát lần chạy) ở chế độ bật theo mặc định. Để chọn không tham gia dịch vụ này, chọn **None** (Không).

- Nếu bạn đã chọn None (Không) ở bước 2, hãy chọn **Save** (Lưu) để hoàn tất. Nếu không, tiếp tục cho đến hết bước 6.
- Từ danh sách Hosting Location (Vị trí lưu trữ), chọn vị trí của máy chủ BaseSpace Sequence Hub nơi dữ liệu được tải lên.
Bạn cần sử dụng Vị trí lưu trữ trong hoặc gần khu vực của bạn nhất.
- Nếu bạn có gói đăng ký dành cho Doanh nghiệp, hãy nhập tên miền (URL) dùng cho tài khoản BaseSpace Sequence Hub của bạn.
Ví dụ: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
- Chọn **Save** (Lưu).

Chỉ định vị trí thư mục đầu ra mặc định

Làm theo hướng dẫn trong mục này để chọn vị trí thư mục đầu ra mặc định. Bạn có thể thay đổi thư mục đầu ra cho mỗi lần chạy trong quá trình thiết lập lần chạy. Phần mềm lưu các tệp cBCL¹ và các dữ liệu khác của lần chạy vào thư mục đầu ra.

Thư mục đầu ra là yêu cầu bắt buộc trừ khi BaseSpace Sequence Hub được định cấu hình cho tùy chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy). Chỉ sử dụng ổ đĩa ngoài hoặc ổ đĩa mạng làm thư mục đầu ra mặc định. Việc sử dụng thư mục đầu ra trên thiết bị sẽ tác động tiêu cực đến lần chạy giải trình tự của bạn.

Chỉ định thư mục đầu ra trên ổ đĩa ngoài

Làm theo các hướng dẫn sau để chọn ổ đĩa di động ngoài làm thư mục đầu ra mặc định. Bạn nên sử dụng ổ tự cấp nguồn được định dạng sang NTFS hoặc GPT/EXTRA.

1. Cắm ổ đĩa di động ngoài vào cổng USB 3.0 ở mặt bên hoặc mặt sau của thiết bị.
Đảm bảo ổ đĩa di động ngoài cấp quyền ghi. Nếu ổ được đặt ở chế độ Read Only (Chỉ đọc), phần mềm điều khiển sẽ không thể lưu dữ liệu vào ổ.
2. Tạo một thư mục mới trên ổ đĩa di động ngoài. Thư mục này sẽ trở thành vị trí thư mục đầu ra mặc định.
Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 yêu cầu ít nhất hai cấp độ thư mục lồng nhau để nhận dạng vị trí là ổ đĩa di động ngoài.
3. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
4. Trong mục Default Output Folder (Thư mục đầu ra mặc định), chọn đường dẫn thư mục hiện có và chuyển đến thư mục mới trên ổ đĩa di động ngoài.
5. **[Không bắt buộc]** Nếu bạn đã chọn **Online Run Setup** (Thiết lập lần chạy trực tuyến) trong Run Mode (Chế độ chạy), hãy chọn một tùy chọn từ menu thả xuống Hosting Location (Vị trí lưu trữ).
6. Chọn **Save** (Lưu).

Chỉ định thư mục đầu ra mặc định trên ổ đĩa mạng

Làm theo các hướng dẫn sau để gắn kết ổ đĩa mạng ổn định và chỉ định vị trí thư mục đầu ra mặc định. Khối thông điệp máy chủ (SMB)/Hệ thống tệp Internet phổ cập (CIF) và Hệ thống tệp mạng (NFS) là các phương pháp duy nhất được hỗ trợ để gắn kết ổn định ổ đĩa mạng trên NextSeq 1000/2000.

Hướng dẫn gắn kết SMB/CIFS

1. Nếu Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 đang mở, chọn **Minimize Application** (Thu nhỏ ứng dụng).
2. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.

¹Chứa phát hiện base và điểm chất lượng có liên quan cho mỗi cụm của mỗi chu kỳ giải trình tự.

3. Chọn **Applications** (Ứng dụng).
4. Trong Favorites (Mục yêu thích), chọn **Terminal** (Thiết bị đầu cuối).
5. Nhập `sudo touch /root/.smbcreds` rồi chọn **Enter** (Nhập).
6. Nhập mật khẩu cho tài khoản `ilmnadmin` khi được nhắc.
Bạn bắt buộc phải nhập mật khẩu cho tài khoản `ilmnadmin` mỗi khi sử dụng lệnh `sudo`.
7. Nhập `sudo gedit /root/.smbcreds` rồi chọn **Enter** (Nhập) để mở tệp văn bản có tên `smbcreds`.
8. Khi tệp văn bản `.smbcreds` mở ra, hãy nhập thông tin đăng nhập mạng của bạn theo định dạng sau.

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

Bạn không bắt buộc phải nhập dấu ngoặc cho tên người dùng, mật khẩu và thông tin đăng nhập miền. Bạn chỉ cần nhập thông tin đăng nhập miền nếu tài khoản từ xa là một phần của miền.
9. Chọn **Save** (Luu) và thoát khỏi tệp.
10. Xác định tên máy chủ và tên chia sẻ cho máy chủ SMB/CIF.
Tên máy chủ và tên chia sẻ không được có khoảng trắng, ví dụ:
Tên máy chủ: `192.168.500.100` hoặc `Myserver-myinstitute-03`
Tên chia sẻ: `/share1`
11. Trên thiết bị đầu cuối, nhập `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` rồi chọn **Enter** (Nhập) để cấp quyền đọc đối với tệp văn bản `.smbcreds`.
12. Nhập `sudo mkdir /mnt/<local name>`.
`<local name>` là tên của thư mục mới trong ổ đĩa mạng và có thể chứa khoảng trắng. Đây là thư mục sẽ xuất hiện trên thiết bị.
13. Chọn **Enter** (Nhập).
14. Nhập `sudo gedit /etc/fstab` rồi chọn **Enter** (Nhập).
15. Khi tệp `fstab` mở ra, hãy nhập thông tin sau vào cuối tệp, rồi chọn **Enter** (Nhập).

```
//<Server name>/<Share name> /mnt/<local name> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
```
16. Chọn **Save** (Luu) và thoát khỏi tệp.
17. Trên thiết bị đầu cuối, nhập `sudo mount -a -vvv` rồi chọn **Enter** (Nhập).
Lúc này, ổ đĩa mạng đã được gắn kết dưới tên `/mnt/<local name>`.
18. Để xác nhận xem việc gắn kết có thành công hay không, hãy nhập `<df | grep <local name>>` rồi chọn **Enter** (Nhập).
Tên của fileshare sẽ xuất hiện.
19. Nhập `sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>` để tạo thư mục con trong thư mục cục bộ. `<output directory>` đại diện cho vị trí thư mục đầu ra mặc định.

Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 yêu cầu ít nhất hai cấp độ thư mục lồng nhau để nhận dạng vị trí là ổ đĩa mạng được gắn kết.

20. Đóng – mở nguồn điện thiết bị. Xem mục [Đóng – mở nguồn điện thiết bị trên trang 79](#).
21. Đặt ổ đĩa mạng được gắn kết ổn định làm thư mục đầu ra mặc định. Xem mục [Chỉ định ổ đĩa mạng ổn định làm thư mục đầu ra mặc định trên trang 16](#).

Hướng dẫn lắp NFS

1. Nếu Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 đang mở, chọn **Minimize Application** (Thu nhỏ ứng dụng).
2. Đăng nhập vào tài khoản ilmadmin.
3. Xác định tên máy chủ cho máy chủ NFS.
Tên máy chủ không được có khoảng trắng, ví dụ:
Tên máy chủ: 192.168.500.100 hoặc Myserver-myinstitute-03
4. Chọn **Applications** (Ứng dụng).
5. Trong Favorites (Mục yêu thích), chọn **Terminal** (Thiết bị đầu cuối).
6. Nhập `sudo mkdir /mnt/<local name>` rồi chọn **Enter** (Nhập).
<local name> là tên của thư mục mới trong ổ đĩa mạng.
7. Nhập `sudo gedit /etc/fstab` rồi chọn **Enter** (Nhập).
8. Khi tệp fstab mở ra, hãy nhập thông tin sau, rồi chọn **Enter** (Nhập).
`Server name:/share //mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0`
9. Chọn **Save** (Luu) và thoát khỏi tệp.
10. Trên thiết bị đầu cuối, nhập `sudo mount -a -vvv` rồi chọn **Enter** (Nhập).
Lúc này, ổ đĩa mạng đã được gắn kết trong /mnt/directory trong thư mục <local name>.
11. Tạo <sub folder> mới trong thư mục <local name>. Thư mục con đại diện cho vị trí thư mục đầu ra mặc định.
Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 yêu cầu ít nhất hai cấp độ thư mục lồng nhau để nhận dạng vị trí là ổ đĩa mạng được gắn kết.
12. Đóng – mở nguồn điện thiết bị. Xem mục [Đóng – mở nguồn điện thiết bị trên trang 79](#).
13. Đặt ổ đĩa mạng được gắn kết ổn định làm thư mục đầu ra mặc định. Xem mục [Chỉ định ổ đĩa mạng ổn định làm thư mục đầu ra mặc định trên trang 16](#).

Chỉ định ổ đĩa mạng ổn định làm thư mục đầu ra mặc định

1. Đăng nhập vào tài khoản ilmuser.
2. Từ menu Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000, chọn **Settings** (Cài đặt).
3. Ở mục Default Output Folder (Thư mục đầu ra mặc định), chọn gắn kết ổ đĩa mạng ổn định nằm tại /mnt/<local name>/<output directory>.

4. **[Không bắt buộc]** Nếu bạn đã chọn **Online Run Setup** (Thiết lập lần chạy trực tuyến) trong Run Mode (Chế độ chạy), hãy chọn một tùy chọn từ menu thả xuống Hosting Location (Vị trí lưu trữ).
5. Chọn **Save** (Lưu).

Nhập hệ gen tham chiếu tùy chỉnh

Bạn chỉ có thể nhập hệ gen tham chiếu tùy chỉnh mới bằng tài khoản quản trị viên. Để xem danh sách tất cả các hệ gen tham chiếu tương thích, hãy truy cập trang Khả năng tương thích của sản phẩm NextSeq 1000/2000.

1. Tạo hệ gen tham chiếu bằng cách sử dụng ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments của BaseSpace Sequence Hub. Để biết thêm thông tin, hãy xem *Trợ giúp trực tuyến về ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0*.
2. Chọn menu phần mềm điều khiển, rồi chọn **Process Management** (Quản lý quy trình).
3. Bạn cần kiểm tra để chắc chắn rằng quá trình chạy giải trình tự hoặc phân tích phụ trên thiết bị hiện không diễn ra.
4. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Minimize Application** (Thu nhỏ ứng dụng).
5. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.
6. Chọn menu phần mềm điều khiển, sau đó chọn **DRAGEN**.
7. Trong phần Genome (hệ gen), chọn **View Installed Genomes** (Xem các hệ gen đã cài đặt) để xem danh sách tất cả các hệ gen Illumina và hệ gen tùy chỉnh hiện đã cài đặt.
8. Đóng giao thức.
9. Chọn **Choose** (Chọn) trong Import New Reference Genomes (Nhập hệ gen tham chiếu mới), chuyển đến tệp hệ gen tham chiếu (*.tar.gz) trên ổ đĩa mạng di động hoặc được gắn kết, sau đó chọn **Open** (Mở).
10. Chọn **Import** (Nhập).

Nhập tệp ngưỡng nhiều

Nếu sử dụng quy trình công việc DRAGEN Enrichment ở chế độ sinh dưỡng, bạn có thể sử dụng tệp ngưỡng nhiều để lọc bỏ nhiều giải trình tự hoặc nhiều hệ thống. Bạn có thể tải xuống các tệp ngưỡng tùy chỉnh tiêu chuẩn từ [Trang web hỗ trợ của Illumina](#) hoặc tạo tệp ngưỡng nhiều tùy chỉnh.

Tạo tệp ngưỡng nhiều tùy chỉnh

Nếu sử dụng chế độ sinh dưỡng, bạn có thể tạo tệp ngưỡng nhiều tùy chỉnh. Tệp ngưỡng nhiều được tạo dựng bằng các mẫu bình thường không khớp với đối tượng nguồn của mẫu. Số lượng mẫu bình thường được khuyến nghị là 50.

Để tạo tệp ngưỡng nhiều tùy chỉnh, hãy sử dụng một trong các phương pháp sau:

- Sử dụng máy chủ Nền tảng DRAGEN Bio-IT. Xem *Trợ giúp trực tuyến* về Nền tảng DRAGEN Bio-IT để biết hướng dẫn.
- Sử dụng Ứng dụng DRAGEN Baseline Builder trên BaseSpace Sequence Hub. Sử dụng luồng BCL Convert trong Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trên BaseSpace Sequence Hub để tạo các tệp FASTQ. Sau khi lần chạy giải trình tự hoàn tất và có sẵn 50 mẫu, hãy nhập tệp FASTQ vào Ứng dụng DRAGEN Baseline Builder.

Nhập tệp ngưỡng thông qua giao diện người dùng

Sau khi nhập tệp ngưỡng, bạn có thể thiết lập lần chạy giải trình tự bằng quy trình công việc DRAGEN Enrichment ở chế độ sinh dưỡng.

1. Tải xuống tệp ngưỡng tiêu chuẩn từ [Trang web hỗ trợ của Illumina](#) hoặc tải xuống tệp ngưỡng tùy chỉnh từ máy chủ DRAGEN hoặc Ứng dụng DRAGEN Baseline Builder.
2. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Minimize Application** (Thu nhỏ ứng dụng).
3. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.
4. Chọn **Applications** (Ứng dụng), sau đó chọn **Favorites** (Mục ưa thích).
5. Chọn **+Other Locations** (+Vị trí khác), sau đó chọn **Computer** (Máy tính).
6. Nhấp đúp vào **usr**, sau đó nhấp vào **local** (cục bộ).
7. Nhấp đúp vào **illumina**, sau đó nhấp vào **aux_files**.
8. Kéo tệp ngưỡng nhiều vào aux_files.

Nhập tệp ngưỡng bằng thiết bị đầu cuối

Sau khi nhập tệp ngưỡng, bạn có thể thiết lập lần chạy giải trình tự bằng quy trình công việc DRAGEN Enrichment ở chế độ sinh dưỡng.

1. Tải xuống tệp ngưỡng tiêu chuẩn từ [Trang web hỗ trợ của Illumina](#) hoặc tải xuống tệp ngưỡng tùy chỉnh từ máy chủ DRAGEN hoặc Ứng dụng DRAGEN Baseline Builder.
2. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Minimize Application** (Thu nhỏ ứng dụng).
3. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.
4. Chọn **Applications** (Ứng dụng).
5. Trong Favorites (Mục yêu thích), chọn **Terminal** (Thiết bị đầu cuối).
6. Nhập lệnh sau.

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

Định cấu hình chế độ chạy

Chế độ chạy áp dụng cho tất cả các lần chạy và xác định vị trí cần nhập các thông số lần chạy và cách phân tích dữ liệu.

Chế độ Đám mây hoặc Lai

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Chọn **Online Run Setup** (Thiết lập lần chạy trực tuyến) trong phần BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support (Dịch vụ BaseSpace Sequence Hub và Hỗ trợ từ Proactive).
3. Định cấu hình các cài đặt bổ sung một cách thích hợp bằng cách chọn các mục sau:
 - a. **Proactive and Run Monitoring** (Proactive và giám sát lần chạy) hoặc **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy).
 - b. Menu thả xuống cho **Hosting Location** (Vị trí lưu trữ).
 - c. **[Không bắt buộc]** Nhập **Private Domain Name** (Tên miền riêng).
4. Chọn **Save** (Lưu).

Chế độ Cục bộ hoặc Độc lập

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Chọn **Local Run Setup** (Thiết lập lần chạy cục bộ) trong phần BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support (Dịch vụ BaseSpace Sequence Hub và Hỗ trợ từ Proactive).
3. Định cấu hình các cài đặt bổ sung một cách thích hợp bằng cách chọn các mục sau:
 - a. **Proactive Support Only** (Chỉ Hỗ trợ từ Proactive), **Proactive and Run Monitoring** (Proactive và giám sát lần chạy), **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy) hoặc **None** (Không có).



BaseSpace Sequence Hub sẽ chỉ cho phép sử dụng chức năng thực hiện lại nếu bạn chọn **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy). Trong trường hợp bảng thông tin mẫu không hợp lệ, tùy chọn này sẽ cho phép bạn sửa bảng thông tin mẫu và thực hiện lại quá trình phân tích tách đoạn. Để biết về chức năng thực hiện lại trên thiết bị, xem mục [Thực hiện lại lần chạy trên trang 79](#).

- b. Menu thả xuống cho **Hosting Location** (Vị trí lưu trữ).
 - c. **[Không bắt buộc]** Nhập **Private Domain Name** (Tên miền riêng).
4. Chọn **Save** (Lưu).

Những điều cần lưu ý về bảng thông tin mẫu cho chế độ Cục bộ hoặc Độc lập

Bạn phải sử dụng định dạng tệp bảng thông tin mẫu v2 để phân tích bằng DRAGEN. Định dạng tệp bảng thông tin mẫu v2 cũng tương thích với các ứng dụng BaseSpace Sequence Hub không được kích hoạt DRAGEN. Để biết thông tin về cách tạo bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2, xem mục [Cài đặt bảng thông tin mẫu v2 trên trang 83](#).

Tùy chỉnh thiết bị

Phần này bao gồm thông tin về cách định cấu hình các cài đặt tùy chỉnh có sẵn. Để đặt thư mục đầu ra mặc định, hãy xem mục [Chỉ định vị trí thư mục đầu ra mặc định trên trang 14](#).

Đặt tên cho thiết bị

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Chọn Instrument Nickname (Biệt danh thiết bị) rồi nhập tên bạn muốn cho thiết bị.
Tên sẽ hiển thị dọc theo đầu mỗi màn hình.
3. Chọn **Save** (Lưu).

Đặt tùy chọn biến tính và pha loãng

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Chọn xem có tự động biến tính và pha loãng thư viện trên thiết bị hay không. Tùy chọn bạn đã chọn cho lần chạy trước đó sẽ được chọn theo mặc định.
 - Để tự động biến tính và pha loãng thư viện trên thiết bị, hãy chọn hộp kiểm **Denature and Dilute On Board** (Biến tính và pha loãng trên thiết bị).
 - Để biến tính và pha loãng thư viện theo cách thủ công, hãy bỏ chọn hộp kiểm **Denature and Dilute On Board** (Biến tính và pha loãng trên thiết bị).

Xem [Hướng dẫn về cách biến tính và pha loãng thư viện của NextSeq 1000 và 2000 \(tài liệu số 1000000139235\)](#) để biết cách biến tính và pha loãng thư viện theo cách thủ công.

Đặt tùy chọn tháo rửa thuốc thử tự động

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Chọn xem hệ thống có tự động tháo rửa thuốc thử chưa sử dụng sang ngăn chứa thuốc thử đã sử dụng sau mỗi lần chạy để hợp lý hóa việc xử lý chất thải thuốc thử sau khi hoàn tất lần chạy hay không:
 - Để tự động tháo rửa, hãy chọn hộp kiểm **Purge Reagent Cartridge** (Tháo rửa hộp thuốc thử).
 - Để bỏ qua quá trình tháo rửa tự động, hãy bỏ chọn hộp kiểm **Purge Reagent Cartridge** (Tháo rửa hộp thuốc thử) (đây là cài đặt mặc định).

Việc tháo rửa thuốc thử chưa sử dụng sẽ khiến quy trình công việc kéo dài thêm tối đa 2 giờ.

3. Chọn **Save** (Lưu).

Định cấu hình cập nhật phần mềm

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Chọn xem hệ thống có tự động kiểm tra các bản cập nhật phần mềm hay không:
 - Để kiểm tra tự động, chọn hộp kiểm **Autocheck for software updates** (Tự động kiểm tra bản cập nhật phần mềm).
 - Để kiểm tra thủ công, bỏ chọn hộp kiểm **Autocheck for software updates** (Tự động kiểm tra bản cập nhật phần mềm).

Cần có kết nối Internet để có thể tự động kiểm tra bản cập nhật phần mềm. Để biết thêm thông tin về cách cài đặt các bản cập nhật phần mềm, xem mục [Cập nhật phần mềm trên trang 71](#).

3. Chọn **Save** (Lưu).

Thay đổi độ sáng màn hình LCD

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Di chuyển thanh trượt LCD Brightness (Độ sáng màn hình LCD) đến tỷ lệ phần trăm mong muốn.
3. Chọn **Save** (Lưu).

Đặt máy chủ proxy

Máy chủ proxy chỉ được hỗ trợ trên Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3.

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Settings** (Cài đặt).
2. Chọn cài đặt proxy hiện tại để mở màn hình Proxy Settings (Cài đặt proxy).
3. Chọn hộp kiểm **Enable Proxy** (Bật Proxy), sau đó nhập địa chỉ cổng IP của máy chủ.
4. **[Không bắt buộc]** Nếu máy chủ proxy yêu cầu xác thực, hãy chọn hộp kiểm **Requires Username and Password** (Yêu cầu tên người dùng và mật khẩu), sau đó nhập tên người dùng và mật khẩu.
5. Chọn **Save** (Lưu) để lưu và xác thực thông tin proxy.
6. Chọn một trong các tùy chọn sau:
 - Chọn **Yes, I'm Finished** (Có, tôi đã hoàn tất) để khởi động lại hệ thống và áp dụng cài đặt proxy mới.
 - Chọn **No, Take Me Back** (Không, đưa tôi quay lại) để quay lại màn hình Settings (Cài đặt). Cài đặt proxy mới được lưu nhưng không được áp dụng cho đến khi bạn khởi động lại hệ thống.

Vật tư tiêu hao và thiết bị

Mục này liệt kê mọi thành phần có trong bộ kit thuốc thử cùng với các điều kiện bảo quản. Bạn cũng có thể xem những vật tư tiêu hao và thiết bị phụ trợ cần mua để hoàn thành quy trình cũng như thực hiện các quy trình bảo dưỡng và khắc phục sự cố.

Vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

Quá trình giải trình tự trên NextSeq 1000/2000 yêu cầu phải có một bộ kit thuốc thử Illumina NextSeq 1000/2000 P2 dùng một lần hoặc một bộ kit thuốc thử Illumina NextSeq 1000/2000 P3 dùng một lần. Bộ kit thuốc thử NextSeq 1000/2000 P2 có sẵn ở ba kích cỡ (100 chu kỳ, 200 chu kỳ, 300 chu kỳ) còn bộ kit thuốc thử NextSeq 1000/2000 P3 có sẵn ở bốn kích cỡ (50 chu kỳ, 100 chu kỳ, 200 chu kỳ, 300 chu kỳ).

Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 chỉ tương thích với bộ kit thuốc thử Illumina NextSeq 1000/2000 P2. Bộ kit thuốc thử cung cấp hộp và tế bào dòng chảy để giải trình tự. Khi bạn nhận được bộ kit thuốc thử NextSeq 1000/2000 P2 hoặc bộ kit thuốc thử Illumina NextSeq 1000/2000 P3:

- Bảo quản ngay các thành phần ở nhiệt độ được chỉ định để đảm bảo hiệu suất hoạt động phù hợp.
- Không mở bất kỳ túi nhôm màu bạc nào cho đến khi được hướng dẫn làm như vậy.
- Bảo quản hộp trong hộp đựng để tránh làm rách hoặc thủng túi nhôm.
- Bảo quản hộp theo hướng mũi tên hướng lên.

! Nếu nhãn hộp không hướng lên trên thì dữ liệu giải trình tự sẽ chịu tác động tiêu cực.

Bảng 2 Các thành phần của bộ kit

Vật tư tiêu hao	Số lượng	Nhiệt độ bảo quản	Kích thước
Hộp	1	-25°C đến -15°C	29,2 cm × 17,8 cm × 12,7 cm (11,5 inch × 7 inch × 5 inch)
Tế bào dòng chảy	1	2°C đến 8°C*	21,6 cm × 12,7 cm × 1,9 cm (8,5 inch × 5 inch × 0,75 inch)
RSB có Tween 20	1	-25°C đến -15°C	4 cm x 6,6 cm x 5 cm) (1,6 inch x 2,6 inch x 2 inch)

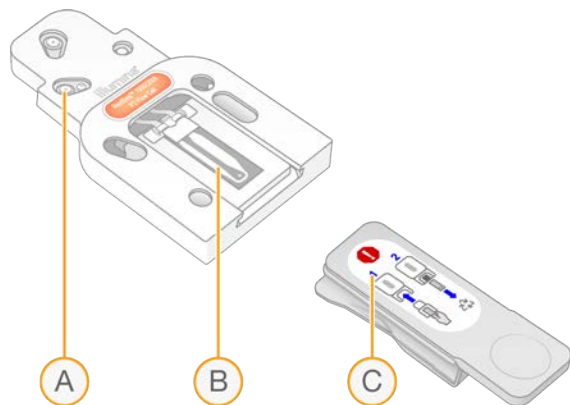
*Được vận chuyển ở nhiệt độ phòng.

Hai loại vật tư tiêu hao này đều có số nhận dạng để theo dõi và đảm bảo tính tương thích. Hộp và tế bào dòng chảy sử dụng RFID¹.

¹công nghệ nhận dạng qua tần số vô tuyến

Tế bào dòng chảy

Tế bào dòng chảy là một tế bào dòng chảy có cấu trúc, một chiều. Một hộp bằng nhựa bao bọc tế bào dòng chảy dựa trên thủy tinh. Mấu cầm màu xám che phủ và nhô ra khỏi tế bào dòng chảy để đảm bảo việc xử lý an toàn.

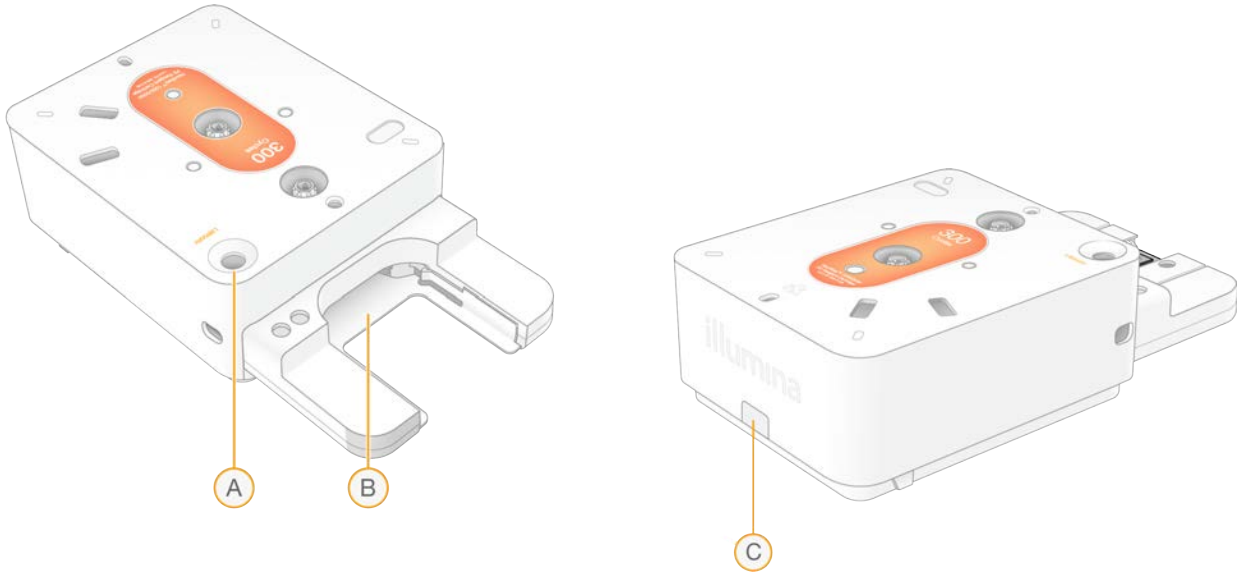


- A. Hộp nhựa
- B. Tế bào dòng chảy
- C. Mấu cầm màu xám

Hàng triệu giếng nano bao phủ bề mặt bên trong của tế bào dòng chảy. Các cụm được tạo ra trong các giếng nano rồi từ đó, phản ứng giải trình tự được thực hiện. Cách bố trí có cấu trúc của các giếng nano giúp tăng số lượng đoạn đọc và dữ liệu đầu ra.

Hộp

Hộp thuốc thử giải trình tự được nạp sẵn thuốc thử phân cụm, giải trình tự, kết đôi và chỉ thị. Một ngăn chứa làm kín bằng màng nhôm được dành riêng cho các thư viện và một khe ở phía trước được dành riêng cho tế bào dòng chảy.



- A. Ngăn chứa thư viện
- B. Khe chứa tế bào dòng chảy
- C. Nút xả

Hộp có chứa tất cả vật tư tiêu hao cho một lần chạy: thuốc thử, thư viện và tế bào dòng chảy. Thư viện và tế bào dòng chảy được nạp vào hộp đã rã đông, sau đó được nạp vào thiết bị. Sau khi bắt đầu chạy, các thuốc thử và thư viện được tự động chuyển từ hộp sang tế bào dòng chảy.

Hộp có chứa bơm, van và tất cả chất lỏng cho hệ thống, bao gồm cả ngăn chứa bên dưới để gom các thuốc thử đã sử dụng. Hộp được thải bỏ sau một lần chạy nên không cần tiến hành rửa thiết bị.

Số chu kỳ được hỗ trợ

Nhãn trên hộp cho biết số lượng chu kỳ được phân tích, không phải số lượng chu kỳ được thực hiện. Tế bào dòng chảy tương thích với bất kỳ số chu kỳ và bất kỳ loại đoạn đọc nào.

Tất cả các hộp 100 chu kỳ và 200 chu kỳ đều kèm thêm 38 chu kỳ. Hộp 300 chu kỳ kèm thêm 27 chu kỳ. Ví dụ: hộp 300 chu kỳ cung cấp đủ thuốc thử cho tối đa 327 chu kỳ giải trình tự. Để biết thông tin về số lượng chu kỳ cần giải trình tự, xem [Số chu kỳ trong một đoạn đọc trên trang 30](#).

Mô tả ký hiệu

Bảng dưới đây mô tả các ký hiệu trên vật tư tiêu hao hoặc bao bì vật tư tiêu hao.

Ký hiệu	Mô tả
	Ngày hết hạn của vật tư tiêu hao. Để đạt kết quả tốt nhất, hãy sử dụng vật tư tiêu hao trước ngày này.
	Cho biết nhà sản xuất (Illumina).
	Mục đích sử dụng là Chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu (Research Use Only, RUO).
	Cho biết mã bộ phận để có thể xác định được vật tư tiêu hao. ¹
	Cho biết mã đợt để xác định đợt hoặc lô sản xuất của vật tư tiêu hao. ¹
	Cho biết có rủi ro về sức khỏe.
	Phạm vi nhiệt độ bảo quản tính theo độ Celsius. Bảo quản vật tư tiêu hao trong phạm vi được chỉ định. ²

Vật tư tiêu hao phụ trợ

Hãy mua các vật tư tiêu hao dùng cho giải trình tự và bảo dưỡng sau đây.

Vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

Bảng 3 Vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp	Mục đích
Găng tay không bột, dùng một lần	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Mục đích thông thường.
Bộ kit thuốc thử NextSeq 1000/2000 P2 (v3)	Illumina: danh mục số 20046811 (100 chu kỳ) danh mục số 20046812 (200 chu kỳ) danh mục số 20046813 (300 chu kỳ)	Cung cấp hộp thuốc thử, tế bào dòng chảy và RSB NextSeq 1000/2000 có Tween 20 cho một lần chạy. Tương thích với NextSeq 1000 và NextSeq 2000.
Bộ kit thuốc thử NextSeq 2000 P3	Illumina: danh mục số 20046810 (50 chu kỳ) danh mục số 20040559 (100 chu kỳ) danh mục số 20040560 (200 chu kỳ) danh mục số 20040561 (300 chu kỳ)	Cung cấp hộp thuốc thử, tế bào dòng chảy và RSB NextSeq 1000/2000 có Tween 20 cho một lần chạy. Chỉ tương thích với NextSeq 2000.
Ống ly tâm nhỏ nắp xoáy, 1,5 ml	Fisher Scientific, danh mục số 14-222-158 hoặc ống ly tâm nhỏ nắp xoáy có chân đứng thấp tương đương	Pha loãng các thư viện đến nồng độ nạp.
Đầu tip pipet, 10 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng thư viện.
Đầu tip pipet, 20 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng và nạp thư viện.
Đầu tip pipet, 200 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng thư viện.
Đầu tip pipet, 1000 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Đảm thủng màng nhôm của ngăn chứa thư viện.
[Không bắt buộc] Chất kiểm chuẩn PhiX v3	Illumina, danh mục số FC-110-3001	Thực hiện lần chạy chỉ dùng PhiX hoặc thêm một chất kiểm chuẩn PhiX.

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp	Mục đích
[Không bắt buộc] Khăn giấy	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Lau khô hộp sau khi nhúng nước.

Vật tư tiêu hao dùng cho bảo dưỡng

Bảng 4 Vật tư tiêu hao dùng cho bảo dưỡng

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp	Mục đích
Găng tay không bột, dùng một lần	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Mục đích thông thường.
Thay bộ lọc không khí NextSeq 1000/2000*	Illumina, danh mục số 20029759	Thay bộ lọc không khí sáu tháng một lần.

* Thiết bị được vận chuyển kèm một vật tư đã lắp đặt và một vật tư dự phòng. Khi không được bảo hành, thành phần thay thế do người dùng cung cấp. Giữ trong bao bì cho đến khi sử dụng.

Thiết bị phụ trợ

Hãy mua các thiết bị hỗ trợ giải trình tự sau đây.

Vật tư	Nguồn	Mục đích
Tủ đông, -25°C đến -15°C	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Bảo quản hộp.
Thùng đá	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Dự trữ thư viện cho đến khi giải trình tự.
Pipet, 10 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng các thư viện đến nồng độ nạp.
Pipet, 20 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng thư viện đến nồng độ nạp và nạp thư viện vào hộp.
Pipet, 200 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Pha loãng các thư viện đến nồng độ nạp.
Tủ lạnh, 2°C đến 8°C	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Bảo quản tế bào dòng chảy hoặc rã đông hộp.

Vật tư	Nguồn	Mục đích
<p>[Không bắt buộc] Một trong các bồn nước được kiểm soát nhiệt độ sau đây hoặc bồn nước tương đương có thể duy trì ở 25°C:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bồn nước lưu thông Thermo Scientific Precision 35L (chứa 5 hộp cùng một lúc) • Bồn nước lưu thông kỹ thuật số SHEL LAB 22L (chứa 3 hộp cùng một lúc) 	<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Fisher Scientific, danh mục số TSCIR 35 • Shel Lab, danh mục số SWBC22 	<p>Rã đông hộp.</p>

Quy trình

Mục này cung cấp hướng dẫn từng bước về cách chuẩn bị vật tư tiêu hao, pha loãng thư viện và thiết lập lần chạy giải trình tự ở một trong bốn chế độ chạy (chế độ Đám mây, Lai và Cục bộ sử dụng DRAGEN hoặc BaseSpace Sequence Hub, trong khi chế độ Độc lập là chế độ chạy độc lập nhằm tạo dữ liệu cBCL chỉ dành cho quy trình công việc phân tích tùy chỉnh).

Khi xử lý thuốc thử và các hóa chất khác, hãy đeo kính bảo hộ, áo choàng phòng thí nghiệm và găng tay không bột.

Bạn cần chuẩn bị sẵn các vật tư tiêu hao và thiết bị cần thiết trước khi bắt đầu thực hiện một quy trình. Xem mục [Vật tư tiêu hao và thiết bị trên trang 22](#).

Làm theo các quy trình theo trình tự hiển thị, sử dụng thể tích, nhiệt độ và thời gian đã chỉ định.

Những điều cần lưu ý khi giải trình tự

Trước khi bắt đầu quy trình, hãy xem lại thông tin sau để chuẩn bị cho việc pha loãng thư viện và thiết lập lần chạy. Đạt được nồng độ nạp tối ưu là yếu tố quan trọng để giải trình tự và phân tích thành công. Việc nhập đúng số chu kỳ trong một đoạn đọc giúp đảm bảo đầu ra dữ liệu tối ưu.

Thể tích và nồng độ nạp

Thể tích nạp là 20 µl. Nồng độ nạp khác nhau tùy theo loại thư viện:

Loại thư viện	Nồng độ nạp (pM)
AmpliSeq™ for Illumina Library PLUS	750
Illumina DNA Prep	750
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750
Illumina Stranded mRNA Prep	750
Illumina DNA PCR-Free	1000
PhiX 100 %	650
TruSeq DNA Nano 350	1200
TruSeq DNA Nano 550	1500
TruSeq Stranded mRNA	1000

Đối với các loại thư viện khác, bạn nên bắt đầu từ nồng độ nạp 650 pM. Hãy tối ưu hóa nồng độ này qua các lần chạy tiếp theo để xác định một nồng độ nạp luôn mang lại dữ liệu đáp ứng thông số kỹ thuật.



Để tối ưu hóa nồng độ nạp, hãy sử dụng số liệu % nồng độ nạp trong tệp đầu ra `PrimaryAnalysisMetrics.csv` được cung cấp sau khi lần chạy hoàn tất. Nếu % nồng độ nạp < 95%, hãy tăng nồng độ nạp theo từng mức 100 pM trong các lần chạy tiếp theo.

Số chu kỳ trong một đoạn đọc

Đối với mỗi đoạn đọc, nhập tối thiểu 26 chu kỳ và tối đa là 151 chu kỳ sẽ giúp đảm bảo chất lượng dữ liệu. Số chu kỳ chính xác tùy thuộc vào xét nghiệm của bạn. Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 yêu cầu phải có ít nhất 1 chu kỳ cho Đoạn đọc 1 nhưng sẽ hiển thị cảnh báo khi số chu kỳ trong Đoạn đọc 1 ít hơn 26.

Tổng số chu kỳ cho Đoạn đọc 1, Chỉ thị 1, Chỉ thị 2 và Đoạn đọc 2 không được lớn hơn số chu kỳ được bộ kit hỗ trợ cộng thêm 38 chu kỳ đối với bộ kit 100 chu kỳ và 200 chu kỳ và 27 chu kỳ đối với bộ kit 300 chu kỳ P3. Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 sẽ hiển thị cảnh báo khi Chỉ thị 1 và Chỉ thị 2 có ít hơn 6 chu kỳ. Phần mềm không hiển thị cảnh báo nếu Chỉ thị 1 hoặc Chỉ thị 2 có 0 chu kỳ.

Số chu kỳ tối thiểu và tối đa bao gồm một chu kỳ tăng cường. Luôn thêm một chu kỳ vào độ dài đoạn đọc mong muốn để hiệu chỉnh các ảnh hưởng của sự định pha và tiền định pha. Độ dài đoạn đọc là số chu kỳ *giải trình tự* trong Đoạn đọc 1 và Đoạn đọc 2, trừ các chu kỳ tăng cường và chu kỳ chỉ thị. Để biết thêm thông tin, xem phần Hiệu chỉnh định pha trong mục [Quy trình công việc của Real-Time Analysis trên trang 54](#).

Ví dụ về cách thiết lập lần chạy:

- Để thu được độ dài đoạn đọc là 35 (đoạn đọc đơn), nhập **36** vào trường Read 1 (Đoạn đọc 1).
- Để thu được độ dài đoạn đọc là 150 ở mỗi đoạn đọc (đoạn đọc kết đôi), nhập **151** vào trường Read 1 (Đoạn đọc 1) và **151** vào trường Read 2 (Đoạn đọc 2).

Lập kế hoạch một lần chạy giải trình tự trong BaseSpace Sequence Hub

Sử dụng Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trong BaseSpace Sequence Hub để tạo và định cấu hình cài đặt lần chạy. Nếu bạn thiết lập lần chạy ở chế độ Đám mây hoặc chế độ Lai, hãy gửi cấu hình lần chạy tới danh sách lần chạy được lập kế hoạch của tài khoản BaseSpace Sequence Hub trong tab Planned Runs (Lần chạy được lập kế hoạch). Các lần chạy sẵn sàng để giải trình tự trên Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000 sẽ hiển thị trong tab Planned Runs (Lần chạy được lập kế hoạch). Nếu bạn thiết lập lần chạy ở chế độ Cục bộ, hãy sử dụng Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) để tạo và xuất bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2. Ngoài ra, hãy xem mục [Cài đặt bảng thông tin mẫu v2 trên trang 83](#) để tạo bảng thông tin mẫu không có BaseSpace Sequence Hub bằng mẫu được cung cấp.

Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trong BaseSpace Sequence Hub không hỗ trợ nhiều hơn 1536 mẫu.

Thiết lập lần chạy

1. Chuyển đến BaseSpace Sequence Hub.
2. Nhập địa chỉ email và mật khẩu BaseSpace Sequence Hub, rồi chọn **Sign In** (Đăng nhập).
3. Chọn tab **Runs** (Lần chạy), sau đó chọn menu thả xuống **New Run** (Lần chạy mới).
4. Chọn **NextSeq 1000/2000**.
5. Ở trường Run Name (Tên lần chạy), nhập một tên riêng theo ý thích để nhận diện lần chạy hiện tại. Tên lần chạy có thể chứa tối đa 225 ký tự chữ và số, dấu cách, dấu gạch ngang và dấu gạch dưới.
6. Chọn một trong các vị trí phân tích sau.
 - **BaseSpace** — Phân tích dữ liệu giải trình tự trong đám mây.
 - **Local (Cục bộ)** — Phân tích dữ liệu giải trình tự trên thiết bị hoặc tạo Bảng thông tin mẫu v2 cho chế độ Cục bộ hoặc Lai.
7. Chọn loại và phiên bản phân tích.

Để biết thêm thông tin về quá trình phân tích phụ, hãy xem [Tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN trên trang 59](#) hoặc tài liệu ứng dụng BaseSpace Sequence Hub. Nếu bạn đã chọn quá trình phân tích DRAGEN Single Cell RNA, hãy xem trang Tệp sản phẩm NextSeq 1000/2000 để biết thông tin về khả năng tương thích với bộ kit chuẩn bị thư viện RNA tế bào đơn của bên thứ ba.

i | Đối với quá trình phân tích trên thiết bị, phiên bản được chọn phải khớp với phiên bản DRAGEN được cài đặt trên thiết bị. Để xác nhận phiên bản DRAGEN được cài đặt trên thiết bị, hãy xem mục [Cập nhật quy trình công việc và giấy phép DRAGEN trên trang 73](#).
8. **[Không bắt buộc]** Bạn có thể thiết lập bộ kit chỉ thị tùy chỉnh như sau.

Nếu bạn sử dụng nhiều thư viện, các thư viện phải có cùng độ dài đoạn đọc chỉ thị.

 - a. Chọn **Add Custom Index Adapter Kit** (Thêm bộ kit adapter chỉ thị tùy chỉnh) trong menu thả xuống Index Adapter Kit (Bộ kit adapter chỉ thị).
 - b. Chọn loại mẫu và nhập tên bộ kit, trình tự adapter, chiến lược chỉ thị và trình tự chỉ thị. Đảm bảo rằng trình tự adapter chỉ thị thứ hai (i5) theo hướng xuôi.
 - c. Chọn **Create New Kit** (Tạo bộ kit mới).
9. **[Không bắt buộc]** Bạn có thể thiết lập bộ kit chuẩn bị thư viện tùy chỉnh như sau.
 - a. Chọn **Add Custom Library Prep Kit** (Thêm bộ kit chuẩn bị thư viện tùy chỉnh) trong menu thả xuống Library Prep Kit (Bộ kit chuẩn bị thư viện).
 - b. Nhập tên, loại đoạn đọc, chu kỳ đoạn đọc mặc định và bộ kit adapter chỉ thị tương thích cho bộ kit chuẩn bị thư viện tùy chỉnh của bạn.
 - c. Chọn **Create New Kit** (Tạo bộ kit mới).
10. Chọn các cài đặt thiết bị sau. Tùy thuộc vào bộ kit chuẩn bị thư viện, các tùy chọn đề xuất sẽ tự động được chọn. Một số bộ kit chuẩn bị thư viện có số đoạn đọc chỉ thị và loại đoạn đọc được mã hóa cứng và không thay đổi được.
 - Bộ kit chuẩn bị thư viện

- Bộ kit adapter chỉ thị
- Số đoạn đọc chỉ thị
- Loại đoạn đọc
- Số chu kỳ giải trình tự mỗi đoạn đọc

i | Nếu chọn Not Specified (Không chỉ định) cho bộ kit chuẩn bị thư viện, số đoạn đọc chỉ thị sẽ không được cập nhật cho đến khi bạn nhập trình tự chỉ thị vào mục Sample Data (Dữ liệu mẫu).

11. Nhập thông tin mẫu vào bảng Sample Data (Dữ liệu mẫu) bằng một trong các tùy chọn sau. Để nhóm các mẫu nhằm tổng hợp dữ liệu trong quá trình phân tích xuôi, hãy chỉ định tên cho nhóm trong cột Project (Dự án).

- Chọn **Import Data** (Nhập dữ liệu), sau đó chọn bảng thông tin mẫu. Đảm bảo rằng bảng thông tin mẫu đáp ứng các yêu cầu về định dạng. Xem mục [Cài đặt bảng thông tin mẫu v2 trên trang 83](#). Việc thay đổi bảng thông tin mẫu sau khi tải xuống lần đầu có thể dẫn đến phân tích không thành công.
- Dán các ID mẫu và vị trí giếng khay chỉ thị hoặc chỉ thị i7 và i5 trực tiếp từ tệp bên ngoài. Trước khi dán, hãy nhập số hàng mẫu vào trường Rows (Hàng), sau đó chọn +. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số, dấu gạch nối và dấu gạch dưới.

i | Các khay chỉ thị có bố cục cố định yêu cầu nhập thông tin cho vị trí giếng. Các chỉ thị không có bố cục cố định yêu cầu nhập thông tin cho chỉ thị i7 và i5. Chỉ thị i5 phải được nhập theo hướng xuôi.

- Nhập thủ công các ID mẫu và các vị trí giếng hoặc chỉ thị tương ứng. Nếu chọn Not Specified (Không chỉ định) cho bộ kit chuẩn bị thư viện, nhập trình tự Chỉ thị 2 (i5) theo hướng xuôi.

12. Chọn **Next** (Tiếp).

Thiết lập quá trình phân tích phụ

Định cấu hình cài đặt cho loại phân tích đã chọn cho lần chạy. Để biết thêm thông tin về quy trình công việc phân tích DRAGEN, xem mục [Tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN trên trang 59](#)

Illumina DRAGEN BCL Convert

Làm theo các bước sau để định cấu hình cho quá trình phân tích Illumina DRAGEN BCL Convert.

1. Nhập các cài đặt tùy chọn sau.

Cài đặt	Mô tả
AdapterRead1	Trình tự adapter cho đoạn đọc 1. Nếu sử dụng bộ kit chuẩn bị thư viện của Illumina, hãy để trống trường AdapterRead1.

Cài đặt	Mô tả
AdapterRead2	Trình tự adapter cho đoạn đọc 2. Nếu sử dụng bộ kit chuẩn bị thư viện của Illumina, hãy để trống trường AdapterRead2.
BarcodeMismatchesIndex1	Số lần không khớp được phép giữa đoạn đọc chỉ thị đầu tiên và trình tự chỉ thị. Giá trị mặc định là 1. Nếu mã vạch là 6 bp, giá trị được khuyến nghị là 0.
BarcodeMismatchesIndex2	Số lần không khớp được phép giữa đoạn đọc chỉ thị thứ hai và trình tự chỉ thị. Giá trị mặc định là 1. Nếu mã vạch là 6 bp, giá trị được khuyến nghị là 0.
OverrideCycles	<p>Chuỗi được sử dụng để chỉ định các chu kỳ UMI và che giấu các chu kỳ của một đoạn đọc. Các giá trị được phép:</p> <ul style="list-style-type: none"> • N — Chỉ định các chu kỳ cần bỏ qua. • Y — Chỉ định các chu kỳ giải trình tự. • I — Chỉ định các chu kỳ chỉ thị. • U — Chỉ định các chu kỳ UMI cần cắt bớt. <p>Mỗi thành phần được phân tách bằng dấu chấm phẩy. Sau đây là các ví dụ về dữ liệu đầu vào cho cài đặt OverrideCycles.</p> <pre>U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66</pre>

2. Chọn xem có lưu bản sao tệp FASTQ hay không. Tệp FASTQ chỉ được tạo nếu bạn chọn giữ tệp FASTQ.
3. Chọn một trong các tùy chọn định dạng đầu ra cho FASTQ sau:
 - **gzip** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng gzip.
 - **DRAGEN** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng ora.
4. Hoàn tất việc định cấu hình lần chạy.
 - Để gửi cấu hình lần chạy tới tài khoản BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn **Submit Run** (Gửi lần chạy). Các lần chạy được gửi đến BaseSpace Sequence Hub sẽ hiển thị trong danh sách các lần chạy được lập kế hoạch và khả dụng với các hệ thống sử dụng chế độ Đám mây hoặc chế độ Lai.
 - Để lưu cấu hình lần chạy dưới dạng bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2, hãy chọn **Export Sample Sheet** (Xuất bảng thông tin mẫu) từ danh sách thả xuống **Submit Run** (Gửi lần chạy). Cần có bảng thông tin mẫu để khởi tạo lần chạy trên các hệ thống sử dụng chế độ Cục bộ. Bạn chỉ có thể sử dụng tùy chọn này nếu chọn Local (Cục bộ) cho vị trí phân tích.

Illumina DRAGEN Enrichment

Làm theo các bước sau để định cấu hình quá trình phân tích Illumina DRAGEN Enrichment.

1. Chọn hệ gen tham chiếu.
Nếu có thể, hãy sử dụng hệ gen tham chiếu có biết trước gen thay thế.
2. Chọn tệp *.bed chứa các vùng bạn muốn nhắm mục tiêu hoặc tải lên tệp tùy chỉnh mới.
Đảm bảo hệ gen tham chiếu của tệp BED khớp với hệ gen tham chiếu đã chọn ở bước 1. Đối với tệp BED tùy chỉnh mới, hãy sử dụng định dạng đặt tên sau: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
 - **Chế độ Cục bộ** — Chọn **Select Custom File (Local)** (Chọn tệp tùy chỉnh (Cục bộ)) để tải lên cho một lần chạy hoặc **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)) để sử dụng nhiều lần.
 - **Chế độ Đám mây hoặc Lai** — Chọn **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)). Tệp BED tùy chỉnh chỉ có sẵn trong Nhóm làm việc mà tệp đã được tải lên.
3. Chọn trình phát hiện biến thể dòng mầm hoặc sinh dưỡng.
4. **[Không bắt buộc]** Nếu sử dụng trình phát hiện biến thể sinh dưỡng, hãy chọn tệp ngưỡng nhiễu. Xem mục [Nhập tệp ngưỡng nhiễu trên trang 17](#) để biết thêm thông tin.
5. Chọn định dạng đầu ra ánh xạ/so khớp.
6. Chọn xem có lưu bản sao tệp FASTQ hay không. Tệp FASTQ chỉ được tạo nếu bạn chọn giữ tệp FASTQ.
7. Chọn một trong các tùy chọn định dạng đầu ra cho FASTQ sau:
 - **gzip** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng gzip.
 - **DRAGEN** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng ora.
8. Hoàn tất việc định cấu hình lần chạy.
 - Để gửi cấu hình lần chạy tới tài khoản BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn **Submit Run** (Gửi lần chạy). Các lần chạy được gửi đến BaseSpace Sequence Hub sẽ hiển thị trong danh sách các lần chạy được lập kế hoạch và khả dụng với các hệ thống sử dụng chế độ Đám mây hoặc chế độ Lai.
 - Để lưu cấu hình lần chạy dưới dạng bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2, hãy chọn **Export Sample Sheet** (Xuất bảng thông tin mẫu) từ danh sách thả xuống **Submit Run** (Gửi lần chạy). Bảng thông tin mẫu và các tệp hỗ trợ quá trình phân tích phụ được tải xuống trong thư mục *.zip và là yêu cầu bắt buộc để khởi tạo lần chạy trên hệ thống bằng chế độ Cục bộ. Bạn chỉ có thể sử dụng tùy chọn này nếu chọn Local (Cục bộ) cho vị trí phân tích.

Illumina DRAGEN Germline

Làm theo các bước sau để định cấu hình quá trình phân tích Illumina DRAGEN Germline.

1. Chọn hệ gen tham chiếu.

Nếu có thể, hãy sử dụng hệ gen tham chiếu có biết trước gen thay thế.

2. Chọn định dạng đầu ra ánh xạ/so khớp.
3. Chọn xem có lưu bản sao tệp FASTQ hay không. Tệp FASTQ chỉ được tạo nếu bạn chọn giữ tệp FASTQ.
4. Chọn một trong các tùy chọn định dạng đầu ra cho FASTQ sau:
 - **gzip** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng gzip.
 - **DRAGEN** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng ora.
5. Hoàn tất việc định cấu hình lần chạy.
 - Để gửi cấu hình lần chạy tới tài khoản BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn **Submit Run** (Gửi lần chạy). Các lần chạy được gửi đến BaseSpace Sequence Hub sẽ hiển thị trong danh sách các lần chạy được lập kế hoạch và khả dụng với các hệ thống sử dụng chế độ Đám mây hoặc chế độ Lai.
 - Để lưu cấu hình lần chạy dưới dạng bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2, hãy chọn **Export Sample Sheet** (Xuất bảng thông tin mẫu) từ danh sách thả xuống **Submit Run** (Gửi lần chạy). Bảng thông tin mẫu và các tệp hỗ trợ quá trình phân tích phụ được tải xuống trong thư mục *.zip và là yêu cầu bắt buộc để khởi tạo lần chạy trên hệ thống bằng chế độ Cục bộ. Bạn chỉ có thể sử dụng tùy chọn này nếu chọn Local (Cục bộ) cho vị trí phân tích.

Illumina DRAGEN RNA

Làm theo các bước sau để định cấu hình quá trình phân tích Illumina DRAGEN RNA.

1. Chọn hệ gen tham chiếu.

Nếu có thể, hãy sử dụng hệ gen tham chiếu không biết trước gen thay thế.
2. Chọn định dạng đầu ra ánh xạ/so khớp.
3. Chọn xem có lưu bản sao tệp FASTQ hay không. Tệp FASTQ chỉ được tạo nếu bạn chọn giữ tệp FASTQ.
4. Chọn một trong các tùy chọn định dạng đầu ra cho FASTQ sau:
 - **gzip** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng gzip.
 - **DRAGEN** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng ora.
5. **[Không bắt buộc]** Tải lên tệp Chú giải RNA ở Định dạng chuyển gen (GTF).
 - **Chế độ Cục bộ** — Chọn **Select Custom File (Local)** (Chọn tệp tùy chỉnh (Cục bộ)) để tải lên cho một lần chạy hoặc **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)) để sử dụng nhiều lần.
 - **Chế độ Đám mây hoặc Lai** — Chọn **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)). Tệp GTF chỉ có sẵn trong Nhóm làm việc mà tệp đã được tải lên.

Sau khi tệp GTF đã được tải lên Nhóm làm việc BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn tệp Chú giải RNA từ menu thả xuống.

6. Chọn xem có bật biểu hiện gen khác biệt hay không.
7. Nếu bạn đã bật biểu hiện gen khác biệt, hãy chọn giá trị đối chứng hoặc giá trị so sánh cho mỗi mẫu. Trong mỗi nhóm so sánh, bất kỳ mẫu nào được đánh dấu là mẫu chứng sẽ được so sánh với tất cả các mẫu được đánh dấu là mẫu so sánh. Nếu mẫu không chứa giá trị đối chứng hoặc giá trị so sánh, hãy chọn **na** (không áp dụng) làm giá trị.
8. Hoàn tất việc định cấu hình lần chạy.
 - Để gửi cấu hình lần chạy tới tài khoản BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn **Submit Run** (Gửi lần chạy). Các lần chạy được gửi đến BaseSpace Sequence Hub sẽ hiển thị trong danh sách các lần chạy được lập kế hoạch và khả dụng với các hệ thống sử dụng chế độ Đám mây hoặc chế độ Lai.
 - Để lưu cấu hình lần chạy dưới dạng bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2, hãy chọn **Export Sample Sheet** (Xuất bảng thông tin mẫu) từ danh sách thả xuống **Submit Run** (Gửi lần chạy). Bảng thông tin mẫu và các tệp hỗ trợ quá trình phân tích phụ được tải xuống trong thư mục *.zip nếu tệp GTF tùy chọn đã được cung cấp và là yêu cầu bắt buộc để khởi tạo lần chạy trên hệ thống bằng chế độ Cục bộ. Bạn chỉ có thể sử dụng tùy chọn này nếu chọn Local (Cục bộ) cho vị trí phân tích.

Illumina DRAGEN Single Cell RNA

Làm theo các bước sau để định cấu hình quá trình phân tích Illumina DRAGEN Single Cell RNA.

1. Chọn hệ gen tham chiếu.
Nếu có thể, hãy sử dụng hệ gen tham chiếu không biết trước gen thay thế.
2. **[Không bắt buộc]** Tải lên tệp Chú giải RNA ở Định dạng chuyển gen (GTF).
 - **Chế độ Cục bộ** — Chọn **Select Custom File (Local)** (Chọn tệp tùy chỉnh (Cục bộ)) để tải lên cho một lần chạy hoặc **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)) để sử dụng nhiều lần.
 - **Chế độ Đám mây hoặc Lai** — Chọn **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)). Tệp GTF chỉ có sẵn trong Nhóm làm việc mà tệp đã được tải lên.Sau khi tệp GTF đã được tải lên Nhóm làm việc BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn tệp Chú giải RNA từ menu thả xuống.
3. Chọn định dạng đầu ra ánh xạ/so khớp.
4. Chọn xem có lưu bản sao tệp FASTQ hay không. Tệp FASTQ chỉ được tạo nếu bạn chọn giữ tệp FASTQ.
5. Chọn một trong các tùy chọn định dạng đầu ra cho FASTQ sau:
 - **gzip** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng gzip.
 - **DRAGEN** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng ora.
6. Chọn cấu hình giống với loại bộ kit chuẩn bị thư viện của bạn.

Ví dụ: nếu bạn đã chọn Bộ kit Single Cell RNA Library 1 làm bộ kit chuẩn bị thư viện, hãy chọn Type 1 (Loại 1) cho Configuration Type (Loại cấu hình).

7. Chọn đoạn đọc mã vạch.
8. **[Không bắt buộc]** Chỉnh sửa số lượng base trong mã vạch và UMI. Các giá trị được điền tự động dựa trên bộ kit chuẩn bị thư viện và loại cấu hình bạn đã chọn.
9. Chọn hướng sợi.
10. **[Không bắt buộc]** Chọn tệp chứa trình tự mã vạch hoặc tải lên tệp tùy chỉnh mới.
11. Nếu sử dụng loại cấu hình Advanced/Custom (Nâng cao/Tùy chỉnh), hãy nhập các giá trị cho số chu kỳ ghi đề, vị trí mã vạch và vị trí UMI.
12. Hoàn tất việc định cấu hình lần chạy.
 - Để gửi cấu hình lần chạy tới tài khoản BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn **Submit Run** (Gửi lần chạy). Các lần chạy được gửi đến BaseSpace Sequence Hub sẽ hiển thị trong danh sách các lần chạy được lập kế hoạch và khả dụng với các hệ thống sử dụng chế độ Đám mây hoặc chế độ Lai.
 - Để lưu cấu hình lần chạy dưới dạng bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2, hãy chọn **Export Sample Sheet** (Xuất bảng thông tin mẫu) từ danh sách thả xuống **Submit Run** (Gửi lần chạy). Bảng thông tin mẫu và các tệp hỗ trợ quá trình phân tích phụ được tải xuống trong thư mục *.zip nếu tệp GTF tùy chọn đã được cung cấp và là yêu cầu bắt buộc để khởi tạo lần chạy trên hệ thống bằng chế độ Cục bộ. Bạn chỉ có thể sử dụng tùy chọn này nếu chọn Local (Cục bộ) cho vị trí phân tích.

Illumina DRAGEN Amplicon

Làm theo các bước sau để định cấu hình quá trình phân tích Illumina DRAGEN Amplicon.

1. Chọn hệ gen tham chiếu.
2. Chọn tệp *.bed chứa các vùng bạn muốn nhắm mục tiêu hoặc tải lên tệp tùy chỉnh mới.
Đảm bảo hệ gen tham chiếu của tệp BED khớp với hệ gen tham chiếu đã chọn ở bước 1. Đối với tệp BED tùy chỉnh mới, hãy sử dụng định dạng đặt tên sau: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
 - **Chế độ Đám mây hoặc Lai** — Chọn **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)). Tệp BED tùy chỉnh chỉ có sẵn trong Nhóm làm việc mà tệp đã được tải lên.
 - **Chế độ Cục bộ** — Chọn **Select Custom File (Local)** (Chọn tệp tùy chỉnh (Cục bộ)) để tải lên cho một lần chạy hoặc **Upload Custom File (BaseSpace)** (Tải lên tệp tùy chỉnh (BaseSpace)) để sử dụng nhiều lần.
3. Chọn trình phát hiện biến thể dòng mầm hoặc sinh dưỡng.
4. Chọn định dạng đầu ra ánh xạ/so khớp.
5. **[Cục bộ]** Chọn xem có lưu bản sao tệp FASTQ hay không. Tệp FASTQ chỉ được tạo nếu bạn chọn giữ tệp FASTQ.

6. Chọn xem có lưu bản sao tệp FASTQ hay không. Tệp FASTQ chỉ được tạo nếu bạn chọn giữ tệp FASTQ.
7. Chọn một trong các tùy chọn định dạng đầu ra cho FASTQ sau:
 - **gzip** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng gzip.
 - **DRAGEN** — Lưu tệp FASTQ ở định dạng ora.
8. Hoàn tất việc định cấu hình lần chạy.
 - Để gửi cấu hình lần chạy tới tài khoản BaseSpace Sequence Hub, hãy chọn **Submit Run** (Gửi lần chạy). Các lần chạy được gửi đến BaseSpace Sequence Hub sẽ hiển thị trong danh sách các lần chạy được lập kế hoạch và khả dụng với các hệ thống sử dụng chế độ Đám mây hoặc chế độ Lai.
 - **[Cục bộ]** Để lưu cấu hình lần chạy dưới dạng bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2, hãy chọn **Export Sample Sheet** (Xuất bảng thông tin mẫu) từ danh sách thả xuống **Submit Run** (Gửi lần chạy). Bảng thông tin mẫu và các tệp hỗ trợ quá trình phân tích phụ được tải xuống trong thư mục *.zip và là yêu cầu bắt buộc để khởi tạo lần chạy trên hệ thống bằng chế độ Cục bộ. Bạn chỉ có thể sử dụng tùy chọn này nếu chọn Local (Cục bộ) cho vị trí phân tích.

Rã đông hộp bao kín và tế bào dòng chảy

Bước này rã đông hộp *trong bao bì chưa mở* và chuẩn bị tế bào dòng chảy. Rã đông hộp bao kín bằng một trong ba phương pháp: bồn nước được kiểm soát, tủ lạnh hoặc không khí ở nhiệt độ phòng. Sử dụng hộp ngay sau khi rã đông, không cấp đông lại. Nếu bạn không thể sử dụng hộp ngay sau khi rã đông, xem mục [Bảo quản lại vật tư tiêu hao trên trang 78](#).

Hình 4 Hộp bao kín



Rã đông hộp trong bồn nước được kiểm soát

1. Đeo một đôi găng tay không bột mới và lấy hộp ra khỏi nơi bảo quản.
2. Lấy hộp khỏi hộp đựng nhưng **không mở túi nhôm màu bạc**.

! Nếu rã đông túi bị rách hoặc thủng trong bồn nước thì quá trình giải trình tự có thể sẽ không thành công. Thay vào đó, hãy rã đông ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh.

3. Rã đông hộp bao kín trong bồn nước 25°C được kiểm soát trong 6 giờ:

- Duy trì độ sâu của nước ở mức ít nhất 9,5 – 10 cm bất kể số lượng hộp rã đông.
- Đặt bồn nước được kiểm soát nhiệt độ ở 25°C.
- Quay nhãn túi hướng lên trên và đặt trong bồn nước sao cho không chìm xuống nước.

! Không cố nhấn hộp chìm xuống nước. Nếu nhãn túi không hướng lên trên hoặc hộp bị lộn ngược trong quá trình rã đông thì dữ liệu giải trình tự sẽ chịu tác động tiêu cực.

- Không rã đông quá 8 giờ trong bồn nước.
- Không rã đông đồng thời số lượng hộp nhiều hơn công suất của bồn nước. Để biết các bồn nước tương thích, xem mục [Thiết bị phụ trợ trên trang 27](#).
- Không xếp chồng các hộp lên nhau.

4. Lấy hộp ra khỏi bồn nước và lau khô bằng khăn giấy.

Rã đông hộp trong tủ lạnh

1. Đeo đôi găng tay không bột mới.
2. Một ngày trước lần chạy dự kiến, lấy hộp ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ -25°C đến -15°C.
3. Lấy hộp khỏi hộp đựng nhưng **không mở túi nhôm màu bạc**.
4. Đặt hộp ở nhiệt độ phòng sao cho nhãn hướng lên trên và không khí có thể lưu thông ở các bên và phía trên cùng.

! Nếu nhãn túi không hướng lên trên thì dữ liệu giải trình tự sẽ chịu tác động tiêu cực.

5. Rã đông ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ.
6. Đặt hộp trong tủ lạnh có mức nhiệt từ 2°C tới 8°C sao cho nhãn hướng lên trên và không khí có thể lưu thông ở các bên.

! Nếu nhãn túi không hướng lên trên thì dữ liệu giải trình tự sẽ chịu tác động tiêu cực.

7. Rã đông trong tủ lạnh trong 12 giờ. Không được rã đông quá 72 giờ.

Rã đông hộp ở nhiệt độ phòng

1. Đeo đôi găng tay không bột mới.

2. Lấy hộp ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ -25°C đến -15°C.
3. Lấy hộp khỏi hộp đựng nhưng **không mở túi nhôm màu bạc**.
4. Đặt hộp sao cho nhãn hướng lên trên và không khí có thể lưu thông ở các bên và phía trên cùng.

! Nếu nhãn túi không hướng lên trên thì dữ liệu giải trình tự sẽ chịu tác động tiêu cực.

5. Rã đông ở nhiệt độ phòng trong 9 giờ. Không được rã đông quá 16 giờ.

Chuẩn bị tế bào dòng chảy và hộp

1. Chuẩn bị tế bào dòng chảy như sau.
 - a. Lấy tế bào dòng chảy mới ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ 2°C đến 8°C.
 - b. Đặt gói chưa mở ở nhiệt độ phòng trong 10-15 phút để tránh sự ngưng tụ khi lấy tế bào dòng chảy khỏi túi. Việc chuẩn bị tế bào dòng chảy vào lúc này sẽ đảm bảo rằng tế bào đạt đến nhiệt độ phòng đúng lúc.
2. Nếu sử dụng phương pháp rã đông trong tủ lạnh:
 - a. Lấy hộp đã rã đông ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ 2°C đến 8°C.
 - b. Đặt hộp chưa mở ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 15 phút trước khi giải trình tự. Không được để quá 1 giờ.

Pha loãng thư viện

Nếu sử dụng chức năng biến tính và pha loãng trên thiết bị, bước này sẽ pha loãng thư viện tới nồng độ nạp áp dụng. Việc thêm chuẩn PhiX¹ 2% (không bắt buộc) sẽ mang lại các số liệu bổ sung, tính đa dạng về base hoặc chúng dương. Bạn nên tăng phần trăm thêm chuẩn PhiX đối với các thư viện có tính đa dạng về base thấp hơn.

Nếu bạn biến tính và pha loãng thư viện theo cách thủ công, hãy tham khảo *Hướng dẫn về cách biến tính và pha loãng thư viện của NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139235)*. Bước này chỉ áp dụng cho việc biến tính và pha loãng trên thiết bị.

Pha loãng thư viện tới nồng độ 2 nM

1. [Không bắt buộc] Lấy 10 nM PhiX dự trữ khỏi nơi bảo quản ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C. PhiX chỉ cần thiết cho mẫu thêm chuẩn tùy chọn hoặc cho lần chạy chỉ dùng PhiX.
2. [Không bắt buộc] Rã đông PhiX ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, sau đó định lượng bằng phương pháp dựa trên huỳnh quang, chẳng hạn như Qubit, để xác nhận nồng độ PhiX. Nếu không định lượng được thì tiến hành với nồng độ 10 nM.
3. Trộn xoáy nhanh thư viện hoặc PhiX, sau đó ly tâm ở tốc độ 280 x g trong 1 phút.

¹PhiX là một thư viện nhỏ sẵn dùng của Illumina có mức độ đại diện nucleotide được cân bằng.

- Sử dụng RSB có Tween 20 làm chất pha loãng, chuẩn bị ít nhất 24 µl thư viện 2 nM trong ống ly tâm nhỏ nắp xoáy có chân đứng thấp.
Để biết hướng dẫn về cách thêm chuẩn PhiX, xem mục [Thêm chất kiểm chuẩn PhiX \(Không bắt buộc\) trên trang 42](#).
- Trộn xoáy nhanh, sau đó ly tâm ở tốc độ 280 x g trong 1 phút.

Pha loãng thư viện 2 nM tới nồng độ nạp

- Trộn các thể tích sau đây vào một ống ly tâm nhỏ nắp xoáy có chân đứng thấp để chuẩn bị 24 µl thư viện pha loãng đến nồng độ nạp thích hợp:

Loại thư viện*	Nồng độ nạp (pM)	Thể tích thư viện 2 nM (µl)	Thể tích RSB có Tween 20 (µl)
Ampliseq for Illumina Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000	12	12
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15
Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-Free	1000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1200	14,4	9,6
TruSeq DNA Nano 550	1500	18	6
TruSeq Stranded mRNA	1000	12	12
PhiX 100 %	650	7,8	16,2

* Đối với loại thư viện không có trong danh sách, hãy bắt đầu từ nồng độ nạp 650 pM và tối ưu hóa qua các lần chạy sau đó.

Bảng này đưa ra ví dụ về các nồng độ nạp. NextSeq 1000/2000 tương thích với tất cả các bộ kit chuẩn bị thư viện của Illumina nhưng nồng độ nạp tối ưu có thể khác nhau.

- Trộn xoáy nhanh, sau đó ly tâm ở tốc độ 280 x g trong 1 phút.
- Đặt thư viện đã pha loãng lên đá lạnh cho tới khi sẵn sàng cho việc giải trình tự.
Giải trình tự thư viện đã pha loãng tới nồng độ nạp vào cùng ngày pha loãng.
- Quy trình thực hiện như sau.
 - Nếu thêm PhiX, xem mục [Thêm chất kiểm chuẩn PhiX \(Không bắt buộc\) trên trang 42](#).
 - Nếu không thêm PhiX hoặc đang thực hiện lần chạy chỉ dùng PhiX, xem mục [Nạp vật tư tiêu hao vào hộp trên trang 42](#).

Thêm chất kiểm chuẩn PhiX (Không bắt buộc)

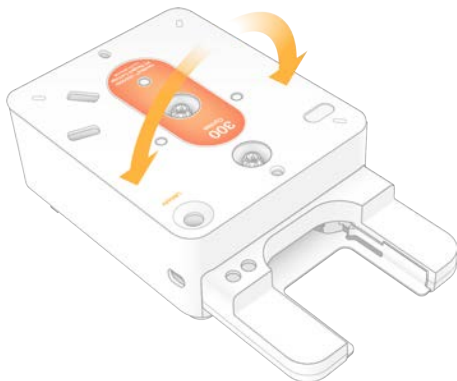
1. Trộn các thể tích sau đây vào một ống ly tâm nhỏ nắp xoáy có chân đứng thấp để chuẩn bị 20 µl PhiX 1 nM:
 - PhiX 10 nM (2 µl)
 - RSB có Tween 20 (18 µl)
2. Trộn xoáy nhanh, sau đó ly tâm ở tốc độ 280 x g trong 1 phút.
3. Thêm 1 µl PhiX 1 nM vào 24 µl thư viện đã pha loãng tới nồng độ nạp cuối cùng. Những thể tích này dẫn đến thêm chuẩn PhiX ~2%. Tỷ lệ phần trăm thực tế khác nhau tùy thuộc vào chất lượng và số lượng thư viện.
4. Đặt thư viện có thêm chuẩn PhiX lên đá lạnh cho tới khi sẵn sàng cho việc giải trình tự. Giải trình tự thư viện có thêm chuẩn PhiX vào cùng ngày pha loãng.

Nạp vật tư tiêu hao vào hộp

Bước này giúp chuẩn bị hộp để giải trình tự bằng việc trộn các thuốc thử đã được nạp sẵn và nạp thư viện đã pha loãng và tế bào dòng chảy.

Chuẩn bị hộp

1. Xé hoặc dùng kéo cắt từ khe trên cùng ở một trong hai bên để mở túi đựng hộp.
2. Lấy hộp ra khỏi túi. Thải bỏ túi và chất hút ẩm.
3. Úp ngửa hộp 10 lần để trộn đều các thuốc thử.
Các thành phần bên trong có thể kêu lách cách khi bạn úp ngửa, điều này là bình thường.



Nạp tế bào dòng chảy

1. Xé hoặc dùng kéo cắt từ rãnh trên cùng ở một trong hai bên để mở túi nhôm màu bạc. Nếu bạn không thể sử dụng tế bào dòng chảy ngay, hãy xem mục [Bảo quản lại vật tư tiêu hao trên trang 78](#).

2. Lấy tế bào dòng chảy ra khỏi bao bì.

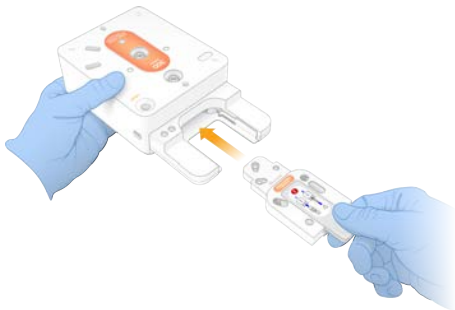
Để riêng túi nhôm và chất hút ẩm phòng trường hợp bạn cần bảo quản lại tế bào dòng chảy. Chất hút ẩm được đựng trong một bao nhỏ ở dưới cùng của túi nhôm. Thải bỏ chất hút ẩm và túi nhôm khi bắt đầu giải trình tự.



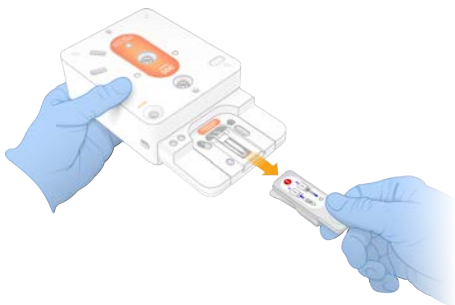
3. Giữ tế bào dòng chảy bằng mẫu cầm màu xám sao cho mặt nhãn trên mẫu cầm quay lên.

4. Đẩy để lắp tế bào dòng chảy vào khe ở mặt trước của hộp.

Tiếng ăn khớp cho biết rằng tế bào dòng chảy đã được đặt đúng chỗ. Khi được nạp đúng cách, mẫu cầm màu xám sẽ nhô ra khỏi hộp.



5. Kéo trở lại và tháo mẫu cầm màu xám để tế bào dòng chảy lộ ra. Tái chế mẫu cầm.



Nạp thư viện

1. Sử dụng một đầu pipet P1000 mới, đâm thủng ngăn chứa Thư viện và đẩy màng nhôm ra các cạnh để làm rộng lỗ.
2. Thải bỏ đầu pipet để tránh nhiễm bẩn.

3. Thêm 20 µl thư viện đã pha loãng vào **đáy** ngăn chứa bằng cách từ từ hạ đầu pipet xuống đáy ngăn chứa trước khi nhả. Tránh chạm vào màng nhôm.



Khởi tạo một lần chạy giải trình tự

Bước này khởi tạo một lần chạy giải trình tự ở một trong bốn chế độ:

- **Chế độ Đám mây** — Lần chạy được chọn từ danh sách các lần chạy được lập kế hoạch trong Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000. Trong quá trình giải trình tự, dữ liệu cBCL được tải lên BaseSpace Sequence Hub. Sau khi giải trình tự, DRAGEN trong BaseSpace Sequence Hub sẽ tự động bắt đầu.
- **Chế độ Lai** — Lần chạy được chọn từ danh sách các lần chạy được lập kế hoạch trong Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000. Sau khi giải trình tự, quá trình phân tích trên thiết bị sẽ tự động bắt đầu. Dữ liệu cBCL và các tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN được lưu trữ trong thư mục đầu ra đã chọn.
- **Chế độ Cục bộ** — Bảng thông tin mẫu ở định dạng tệp v2 được nhập thủ công vào Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000. Sau khi giải trình tự, quá trình phân tích trên thiết bị sẽ tự động bắt đầu. Dữ liệu cBCL và các tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN được lưu trữ trong thư mục đầu ra đã chọn. Nếu Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy) được chọn, quá trình phân tích cũng có thể được bắt đầu thông qua các ứng dụng BaseSpace Sequence Hub sau khi hoàn tất giải trình tự.
- **Chế độ Độc lập** — Thiết lập lần chạy theo hướng dẫn trong Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 để tạo dữ liệu cBCL.

⚠ | Việc mở vành chắn trong thời gian kiểm tra trước khi chạy hoặc trong khi chạy có thể gây ra sự cố.

⚠ | Không đưa tay vào thiết bị trong quá trình đóng và mở vành chắn để tránh bị thương.

Khởi tạo lần chạy ở chế độ Đám mây hoặc Lai

1. Định cấu hình chế độ chạy, theo thông tin mô tả trong [Định cấu hình chế độ chạy trên trang 19](#).
 2. Chọn **Start** (Bắt đầu).
 3. Nhập thông tin đăng nhập BaseSpace Sequence Hub, sau đó chọn **Sign In** (Đăng nhập).
 4. Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy), hãy chọn Nhóm làm việc chứa lần chạy đã tạo trong Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trong BaseSpace Sequence Hub.
- !** | Bạn phải chọn nhóm làm việc để tránh lỗi. Bạn phải chọn nhóm làm việc trước khi tiếp tục.
5. Chọn **Next** (Tiếp).
 6. Chọn lần chạy.
 7. Xác nhận phiên bản Analysis (Phân tích), Run Length (Thời lượng lần chạy), và Secondary Analysis (Phân tích phụ) khớp với đúng lần chạy.
Analysis (Phân tích) hiển thị Cloud_ để chỉ báo rằng quá trình phân tích xảy ra trong BaseSpace Sequence Hub.
 8. Chọn **Review** (Xem lại).
 9. **[Không bắt buộc]** Nhập vị trí mỗi đoạn đọc tùy chỉnh và vị trí mỗi chỉ thị tùy chỉnh.
Để biết thông tin về cách chuẩn bị và thêm mỗi tùy chỉnh, hãy xem *Hướng dẫn về các môi tùy chỉnh cho NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139569)*. Bạn nhớ truy cập trang Sản phẩm tương thích dành cho bộ kit chuẩn bị thư viện của bạn để kiểm tra xem có cần mỗi tùy chỉnh của Illumina hay không.
 10. **[Không bắt buộc]** Chọn công thức tùy chỉnh. Để biết thêm thông tin, xem mục [Giải trình tự theo chu kỳ tối trên trang 96](#).
Nếu sử dụng Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3 và bộ kit Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus hoặc bộ kit Illumina Stranded mRNA Prep, công thức tùy chỉnh sẽ tự động được chọn.
 11. **[Không bắt buộc]** Để biến tính và pha loãng thư viện theo cách thủ công, hãy bỏ chọn hộp kiểm **Denature and Dilute On Board** (Biến tính và pha loãng trên thiết bị). Xem *Hướng dẫn về cách biến tính và pha loãng thư viện của NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139235)*.
Lựa chọn mặc định được định cấu hình trong phần cài đặt của Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000.
 12. **[Không bắt buộc]** Để thay đổi thư mục đầu ra, hãy chọn trường Output Folder (Thư mục đầu ra) và nhập vị trí mới.
Trường Output Folder (Thư mục đầu ra) được tự động điền từ các tùy chọn cài đặt mặc định của bạn và là yêu cầu bắt buộc trừ khi bạn chọn **Proactive, Run Monitoring and Storage** (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy).


Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy), Save to BaseSpace Sequence Hub (Lưu vào BaseSpace Sequence Hub) sẽ hiển thị là Enabled (Đã bật).

Nếu bạn đã chọn Proactive and Run Monitoring (Proactive và giám sát lần chạy), Save to BaseSpace Sequence Hub (Lưu vào BaseSpace Sequence Hub) sẽ hiển thị là Disabled (Đã tắt).

13. Xem lại thông tin lần chạy, sau đó chọn **Prep** (Chuẩn bị).


Khởi tạo một lần chạy cục bộ

1. Định cấu hình chế độ chạy, theo thông tin mô tả trong [Định cấu hình chế độ chạy trên trang 19](#).
2. Chọn **Start** (Bắt đầu).
3. Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy) hoặc Proactive and Run Monitoring (Proactive và giám sát lần chạy), hãy nhập thông tin đăng nhập BaseSpace Sequence Hub, sau đó chọn **Sign In** (Đăng nhập).
4. Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy), hãy chọn Nhóm làm việc BaseSpace Sequence Hub để lưu lần chạy, sau đó chọn **Next** (Tiếp).

 | Bạn phải chọn nhóm làm việc để tránh lỗi. Bạn phải chọn nhóm làm việc trước khi tiếp tục.

5. Chọn **Choose...** (Chọn...) trong Start With Sample Sheet (Bắt đầu với bảng thông tin mẫu) và chuyển đến bảng thông tin mẫu ở định dạng v2 trên thiết bị NextSeq 1000/2000, ổ đĩa di động hoặc ổ đĩa mạng được gắn kết. Tên tệp bảng thông tin mẫu không được chứa các ký tự đặc biệt. Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3 tự động phát hiện phiên bản DRAGEN từ bảng thông tin mẫu và nhắc bạn chuyển đổi phiên bản nếu cần. Bạn phải cài đặt phiên bản DRAGEN trên hệ thống. Để biết thông tin về cách cài đặt, hãy xem mục [Cập nhật phần mềm trên trang 71](#).

- **Đã sử dụng Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị)** — Chọn thư mục .zip chứa bảng thông tin mẫu v2 và các tệp hỗ trợ nếu có. Nếu không, hãy chọn bảng thông tin mẫu v2.
- **Không sử dụng Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị)** — Đảm bảo rằng tệp hỗ trợ phân tích phụ nằm trong cùng thư mục với bảng thông tin mẫu v2.

 | Bảng thông tin mẫu đã chọn phải ở định dạng v2. Để tạo bảng thông tin mẫu v2, hãy tải xuống bảng thông tin mẫu đã tạo từ Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trong BaseSpace Sequence Hub hoặc chỉnh sửa mẫu bảng thông tin mẫu v2 được cung cấp trên trang hỗ trợ về NextSeq 1000/2000. Xem mục [Cài đặt bảng thông tin mẫu v2 trên trang 83](#) để biết thêm thông tin về định dạng và yêu cầu của bảng thông tin mẫu v2. Bất kỳ tệp nào được tham chiếu trong bảng thông tin mẫu đều phải nằm trong cùng một thư mục với bảng thông tin mẫu.

6. Chọn **Review** (Xem lại).
7. **[Không bắt buộc]** Nhập vị trí mỗi đoạn đọc tùy chỉnh và vị trí mỗi chỉ thị tùy chỉnh.

Để biết thông tin về cách chuẩn bị và thêm môi tùy chỉnh, hãy xem *Hướng dẫn về các môi tùy chỉnh cho NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139569)*. Bạn nhớ truy cập trang Sản phẩm tương thích dành cho bộ kit chuẩn bị thư viện của bạn để kiểm tra xem có cần môi tùy chỉnh của Illumina hay không.

8. **[Không bắt buộc]** Chọn công thức tùy chỉnh. Để biết thêm thông tin, xem mục [Giải trình tự theo chu kỳ tối trên trang 96](#).
Nếu sử dụng Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3 và bộ kit Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus hoặc bộ kit Illumina Stranded mRNA Prep, công thức tùy chỉnh sẽ tự động được chọn.
9. **[Không bắt buộc]** Để biến tính và pha loãng thư viện theo cách thủ công, hãy bỏ chọn hộp kiểm **Denature and Dilute On Board** (Biến tính và pha loãng trên thiết bị). Xem *Hướng dẫn về cách biến tính và pha loãng thư viện của NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139235)*.
Lựa chọn mặc định được định cấu hình trong phần cài đặt của Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000.
10. **[Không bắt buộc]** Để thay đổi thư mục đầu ra, hãy chọn trường Output Folder (Thư mục đầu ra) và nhập vị trí mới.
Trường Output Folder (Thư mục đầu ra) được tự động điền từ các tùy chọn cài đặt mặc định của bạn và là yêu cầu bắt buộc trừ khi bạn chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy).
Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy), Save to BaseSpace Sequence Hub (Lưu vào BaseSpace Sequence Hub) sẽ hiển thị là Enabled (Đã bật).
Nếu bạn đã chọn Proactive and Run Monitoring (Proactive và giám sát lần chạy), Save to BaseSpace Sequence Hub (Lưu vào BaseSpace Sequence Hub) sẽ hiển thị là Disabled (Đã tắt).
11. Xem lại thông tin lần chạy, sau đó chọn **Prep** (Chuẩn bị).

Khởi tạo lần chạy độc lập

1. Định cấu hình chế độ chạy, theo thông tin mô tả trong [Định cấu hình chế độ chạy trên trang 19](#).
2. Chọn **Start** (Bắt đầu).
3. Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy) hoặc Proactive and Run Monitoring (Proactive và giám sát lần chạy), hãy nhập thông tin đăng nhập BaseSpace Sequence Hub, sau đó chọn **Sign In** (Đăng nhập).
4. Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy), hãy chọn Nhóm làm việc BaseSpace Sequence Hub để lưu lần chạy, sau đó chọn **Next** (Tiếp).
5. Chọn **Set Up New Run** (Thiết lập lần chạy mới).
6. Ở trường Run Name (Tên lần chạy), nhập một tên riêng theo ý thích để nhận diện lần chạy hiện tại. Tên lần chạy có thể chứa các ký tự chữ và số, dấu gạch ngang, dấu gạch nối và dấu gạch dưới.

7. Đối với Read Type (Loại đoạn đọc), chọn số lượng đoạn đọc giải trình tự cần thực hiện:
 - **Single Read** (Đoạn đọc đơn) — Thực hiện một đoạn đọc, đây là tùy chọn nhanh hơn, đơn giản hơn.
 - **Paired End** (Kết đôi) — Thực hiện hai đoạn đọc, sự liên ứng của tùy chọn này tạo ra dữ liệu chất lượng cao hơn và cung cấp khả năng so khớp chính xác hơn.
8. Nhập số chu kỳ được thực hiện trong mỗi đoạn đọc:
Không có số chu kỳ chỉ thị tối đa nhưng tổng số chu kỳ đoạn đọc và chu kỳ chỉ thị phải nhỏ hơn số chu kỳ ghi trên nhãn hộp cộng với 27.

Đoạn đọc 1 — Nhập từ **1–151** chu kỳ.

Chỉ thị 1 — Nhập số chu kỳ cho mỗi Chỉ thị 1 (i7). Đối với lần chạy chỉ dùng PhiX, nhập **0** vào cả hai trường chỉ thị.

Chỉ thị 2 — Nhập số chu kỳ cho mỗi Chỉ thị 2 (i5).

Đoạn đọc 2 — Nhập tối đa **151** chu kỳ. Giá trị này thường giống với giá trị Đoạn đọc 1.

9. Nếu bạn đã chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy), hãy chọn **Choose...** (Chọn...) để nhập bảng thông tin mẫu.
Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3 tự động phát hiện phiên bản DRAGEN từ bảng thông tin mẫu và nhắc bạn chuyển đổi phiên bản nếu cần. Bạn phải cài đặt phiên bản DRAGEN trên hệ thống. Để biết thông tin về cách cài đặt, hãy xem mục [Cập nhật phần mềm trên trang 71](#).

i | Bảng thông tin mẫu đã chọn phải ở định dạng v2. Để tạo bảng thông tin mẫu v2, hãy tải xuống bảng thông tin mẫu đã tạo từ Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trong BaseSpace Sequence Hub hoặc chỉnh sửa mẫu bảng thông tin mẫu v2 được cung cấp trên trang hỗ trợ về NextSeq 1000/2000. Xem mục [Cài đặt bảng thông tin mẫu v2 trên trang 83](#) để biết thêm thông tin về định dạng và yêu cầu của bảng thông tin mẫu v2. Bất kỳ tệp nào được tham chiếu trong bảng thông tin mẫu đều phải nằm trong cùng một thư mục với bảng thông tin mẫu.

10. **[Không bắt buộc]** Nhập vị trí mỗi đoạn đọc tùy chỉnh và vị trí mỗi chỉ thị tùy chỉnh.
Để biết thông tin về cách chuẩn bị và thêm mỗi tùy chỉnh, hãy xem *Hướng dẫn về các tùy chỉnh cho NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139569)*. Bạn nhớ truy cập trang Sản phẩm tương thích dành cho bộ kit chuẩn bị thư viện của bạn để kiểm tra xem có cần mỗi tùy chỉnh của Illumina hay không.
11. **[Không bắt buộc]** Chọn công thức tùy chỉnh. Để biết thêm thông tin, xem mục [Giải trình tự theo chu kỳ tối trên trang 96](#)
12. **[Không bắt buộc]** Để biến tính và pha loãng thư viện theo cách thủ công, hãy bỏ chọn hộp kiểm **Denature and Dilute On Board** (Biến tính và pha loãng trên thiết bị). Xem *Hướng dẫn về cách biến tính và pha loãng thư viện của NextSeq 1000 và 2000 (tài liệu số 1000000139235)*.
Lựa chọn mặc định được định cấu hình trong phần cài đặt của Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000.

13. **[Không bắt buộc]** Để thay đổi thư mục đầu ra, hãy chọn trường Output Folder (Thư mục đầu ra) và nhập vị trí mới.
Trường Output Folder (Thư mục đầu ra) được tự động điền từ các tùy chọn cài đặt mặc định của bạn và là yêu cầu bắt buộc trừ khi bạn chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy).
14. Chọn **Prep** (Chuẩn bị).

Nạp vật tư tiêu hao vào thiết bị

1. Đảm bảo rằng trước đó, bạn đã rửa đồng và úp ngửa hộp 10 lần để trộn đều trước khi nạp tế bào dòng chảy (đã tháo mẫu cầm màu xám) và thư viện đã pha loãng.
2. Chọn **Load** (Nạp).
Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 mở vành chắn và đẩy khay ra.
3. Đặt hộp vào khay sao cho nhãn hướng lên và tế bào dòng chảy nằm bên trong thiết bị. Đẩy hộp cho đến khi khớp vào vị trí.



4. Chọn **Close** (Đóng) để rút hộp vào và đóng vành chắn.
Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 hiển thị thông tin từ vật tư tiêu hao được quét sau ~3 phút.
5. **[Không bắt buộc]** Chọn **Eject Cartridge** (Tháo hộp) để tháo hộp.
Vành chắn mở ra sau 1 phút và đẩy hộp ra.
6. Chọn **Sequence** (Giải trình tự).

Kiểm tra trước khi chạy

Quá trình kiểm tra trước khi chạy bao gồm bước kiểm tra thiết bị, sau đó là kiểm tra chất lỏng. Bước kiểm tra chất lỏng tiến hành chọc thủng màng làm kín hộp, tạo nên 3 - 4 tiếng lộp bộp phát ra từ thiết bị. Điều này nằm trong dự kiến. Lúc này, thuốc thử được đưa qua tế bào dòng chảy.

! | Bạn không thể sử dụng lại vật tư tiêu hao sau khi bước kiểm tra chất lỏng bắt đầu.

1. Chờ khoảng 15 phút để quá trình kiểm tra trước khi chạy hoàn tất.
Lần chạy tự động bắt đầu sau khi quá trình này hoàn tất thành công.
2. Nếu có lỗi xảy ra trong quá trình kiểm tra thiết bị, chọn **Retry** (Thử lại) để kiểm tra lại.
Khi quá trình kiểm tra diễn ra, vòng tròn biểu trưng cho quá trình kiểm tra đó sẽ có hiệu ứng động.
3. Để khắc phục sự cố tái diễn, xem mục [Xử lý thông báo lỗi trên trang 77](#).

Giám sát tiến trình chạy

1. Giám sát tiến trình và số liệu của lần chạy khi các nội dung này xuất hiện trên màn hình Sequencing (Giải trình tự).
 - **Estimated run completion** (Thời gian hoàn tất lần chạy dự kiến) — Ngày giờ hoàn tất gần đúng của lần chạy. Số liệu về thời gian hoàn tất lần chạy dự kiến yêu cầu 10 lần chạy trước đó để tính toán thời gian hoàn tất lần chạy chính xác.
 - **Average %Q30** (% trung bình Q30) — Tỷ lệ phần trăm phát hiện base trung bình có điểm chất lượng ≥ 30 .
 - **Projected Yield** (Năng suất dự kiến) — Số lượng base dự kiến được phát hiện trong lần chạy.
 - **Total Reads PF** (Tổng số đoạn đọc PF) — Số lượng các cụm kết đôi (nếu có) đi qua quá trình lọc (tính bằng hàng triệu).
 - **Real Time Demux** (Tách đoạn theo thời gian thực) — Trạng thái tách đoạn khi bắt đầu ở đầu Đoạn đọc 2 sau khi hoàn tất các chu kỳ Đoạn đọc 1, Chỉ thị 1 và Chỉ thị 2. Trạng thái hiển thị sẽ là Complete (Hoàn tất) ngay cả khi các chu kỳ chỉ thị không được thực hiện. Các lần chạy ở chế độ Đám mây không có trạng thái này.
 - **Real Time Alignment** (So khớp theo thời gian thực) — Trạng thái so khớp Đoạn đọc 1 khi bắt đầu ở đầu Đoạn đọc 2 sau khi hoàn tất các chu kỳ Đoạn đọc 1, Chỉ thị 1 và Chỉ thị 2. Các lần chạy ở chế độ Đám mây không có trạng thái này.

Số liệu về năng suất và Q30 hiển thị sau chu kỳ 26 (~6 giờ sau khi bắt đầu lần chạy).

2. Để giám sát các quá trình chạy, chọn menu phần mềm điều khiển, rồi chọn **Process Management** (Quản lý quy trình).
3. Để hủy lần chạy, hãy chọn **End Run** (Kết thúc lần chạy). Xem mục [Hủy lần chạy trên trang 78](#) để biết thêm thông tin về cách hủy lần chạy.
4. Tháo vật tư tiêu hao ra khỏi thiết bị. Tháo hộp ra khỏi thiết bị trong vòng 3 ngày.

Tháo vật tư tiêu hao

1. Khi việc giải trình tự hoàn tất, chọn **Eject Cartridge** (Tháo hộp).
Phần mềm sẽ tháo hộp đã dùng khỏi thiết bị.
2. Tháo hộp ra khỏi khay.
3. Lấy tế bào dòng chảy ra khỏi hộp.

4. Thải bỏ tế bào dòng chảy có các thành phần điện tử, theo các tiêu chuẩn áp dụng cho khu vực của bạn.
5. [Không bắt buộc] Tháo nút xả phía dưới logo Illumina ở mặt bên của hộp trên một khu vực thích hợp (ví dụ: bồn rửa hoặc thùng chứa chất thải lỏng nguy hại) sao cho nút xả ở hướng nằm ngang hoặc hướng xuống dưới, cách xa mặt bạn. Tháo xả thuốc thử đã sử dụng theo tiêu chuẩn áp dụng cho khu vực của bạn. Thời gian tháo xả phụ thuộc vào kích thước hộp nếu tính năng tự động tháo rửa thuốc thử không bật.

! Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem SDS tại support.illumina.com/sds.html.

6. Thải bỏ hộp thuốc thử.
Không cần rửa sau khi chạy vì chất lỏng đã được loại bỏ cùng với hộp.
7. Chọn **Close Door** (Đóng cửa) để nạp lại khay và trở về màn hình Home (Chính).
Phần mềm tự động nạp lại khay và các cảm biến xác nhận việc tháo hộp.

Làm sạch khay đựng hộp

Bạn chỉ cần làm sạch khay đựng hộp nếu thuốc thử bị rò rỉ vào khay đựng hộp.

1. Tháo hộp ra khỏi thiết bị.
2. Đeo một đôi găng tay không bột mới và mặc thêm bất kỳ trang phục bảo hộ nào.
3. Xịt dung dịch tẩy 10% lên một miếng vải.
4. Dùng miếng vải lau sạch khay đựng hộp, sau đó lau sạch dung dịch tẩy ngay bằng khăn lau có độ bền cao.
Nếu bạn không lau sạch ngay, dung dịch tẩy sẽ làm bẩn khay đựng hộp.
5. Xịt dung dịch ethanol 70% lên khay đựng hộp và lau sạch ngay bằng khăn lau có độ bền cao.
6. Đặt khay đựng hộp trở lại vị trí nạp.

Đầu ra giải trình tự

Mục này mô tả về phần mềm Real-Time Analysis có nhiệm vụ phát hiện base, chỉ định điểm chất lượng và xuất dữ liệu. Tìm hiểu về các loại tệp đầu ra khác nhau và nơi tìm các tệp này sau một lần chạy.

Tổng quan về Real-Time Analysis

Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000 chạy RTA3, một bản triển khai của phần mềm Real-Time Analysis, trên Compute Engine (CE) của thiết bị. RTA3 trích xuất cường độ từ hình ảnh nhận được từ máy ảnh, thực hiện phát hiện base, gán điểm chất lượng cho phát hiện base, so khớp với PhiX và báo cáo dữ liệu trong tệp InterOp để người dùng xem trong Phần mềm điều khiển của thiết bị.

Để tối ưu hóa thời gian xử lý, RTA3 lưu trữ thông tin trong bộ nhớ. Nếu RTA3 bị ngừng lại, quá trình xử lý sẽ không tiếp tục và bất kỳ dữ liệu nào của lần chạy đang được xử lý trong bộ nhớ sẽ bị mất.

Đầu vào RTA3

RTA3 yêu cầu phải có hình ảnh ô có trong bộ nhớ hệ thống cục bộ để xử lý. RTA3 nhận thông tin lần chạy và lệnh từ phần mềm điều khiển.

Đầu ra RTA3

Hình ảnh cho mỗi kênh màu được chuyển trong bộ nhớ tới RTA3 dưới dạng các ô. Từ những hình ảnh này, RTA3 sẽ xuất ra một tập hợp các tệp phát hiện base và các tệp bộ lọc có điểm chất lượng. Tất cả các đầu ra khác đều là tệp đầu ra hỗ trợ.

Loại tệp	Mô tả
Tệp phát hiện base	Mỗi ô được phân tích sẽ được đưa vào một tệp phát hiện base liên kết (*.cbcl). Ô từ cùng một làn và bề mặt được tổng hợp thành 1 tệp *.cbcl cho mỗi làn và bề mặt.
Tệp bộ lọc	Mỗi ô tạo ra một tệp bộ lọc (*.filter) chỉ định xem cụm có đi qua các bộ lọc hay không.
Tệp vị trí cụm	Các tệp vị trí cụm (*.locs) chứa các tọa độ X, Y cho mỗi cụm trong một ô. Một tệp vị trí cụm sẽ được tạo cho mỗi lần chạy.

Các tệp đầu ra được sử dụng cho phân tích xuôi dòng trong DRAGEN và BaseSpace Sequence Hub.

Xử lý lỗi

RTA3 tạo các tệp nhật ký và ghi vào thư mục Logs. Lỗi được ghi lại trong tệp văn bản ở định dạng tệp *.log.

Các tệp nhật ký sau được chuyển tới đích đầu ra cuối cùng ở cuối quá trình xử lý:

info_00000.log tóm tắt các sự kiện quan trọng trong lần chạy.

error_00000.log liệt kê các lỗi đã xảy ra trong lần chạy.

warning_00000.log liệt kê các cảnh báo đã xảy ra trong lần chạy.

Ô trên tế bào dòng chảy

Ô là những vùng tạo ảnh nhỏ trên tế bào dòng chảy. Máy ảnh chụp một hình ảnh trên mỗi ô.

Tế bào dòng chảy NextSeq 1000/2000 P2 có tổng cộng 132 ô. Tế bào dòng chảy NextSeq 1000/2000 P3 có tổng cộng 264 ô.

Bảng 5 Ô trên tế bào dòng chảy

Thành phần của tế bào dòng chảy	Tế bào dòng chảy NextSeq 1000/2000 P2	Tế bào dòng chảy NextSeq 1000/2000 P3	Mô tả
Số làn	1	2	Các làn khác biệt về mặt quang học nhưng không phải là các kênh riêng biệt về mặt chất lỏng.
Số bề mặt	2	2	Các tế bào dòng chảy P2 và P3 được chụp ảnh trên hai bề mặt: trên cùng và dưới cùng. Bề mặt trên cùng của ô được chụp ảnh trước.
Số dải ở mỗi làn	6	6	Dải là một cột trong làn tế bào dòng chảy.
Số ô ở mỗi dải	11	11	Ô là một phần của dải và mô tả một vùng được chụp ảnh trên tế bào dòng chảy.
Tổng số ô được tạo	132	264	Số làn × số bề mặt × số dải × số ô ở mỗi dải bằng tổng số ô.

Đặt tên ô

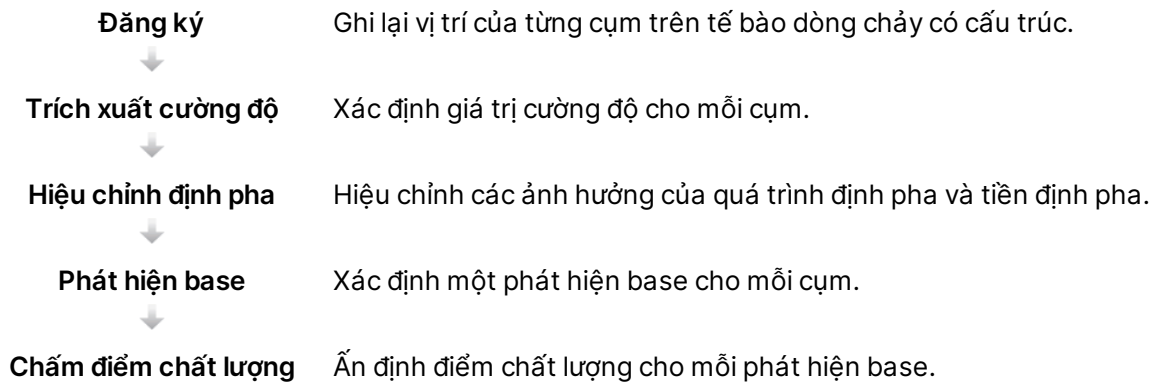
Tên ô là một số có bốn chữ số đại diện cho vị trí của ô trên tế bào dòng chảy. Ví dụ: tên ô là 1205 cho biết bề mặt trên cùng, dải 2, ô 05.

Chữ số đầu tiên đại diện cho bề mặt: 1 cho trên cùng hoặc 2 cho dưới cùng.

Chữ số thứ hai đại diện cho số dải: 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6.

Hai chữ số cuối cùng đại diện cho số ô. Đối với dải số 1 - 4, việc đánh số bắt đầu từ 01 ở đầu ra của tế bào dòng chảy đến 11 ở đầu vào. Đối với dải số 5 - 6, việc đánh số bắt đầu từ 01 ở đầu vào và 11 ở đầu ra.

Quy trình công việc của Real-Time Analysis



Đăng ký

Việc đăng ký sẽ so khớp hình ảnh với mảng hình vuông xoay gồm các giếng nano trên tế bào dòng chảy có cấu trúc. Do sự sắp xếp theo thứ tự của các giếng nano, tọa độ X và Y cho mỗi cụm trong một ô được xác định trước. Vị trí cụm được ghi vào tệp vị trí cụm (s.locs) cho mỗi lần chạy.

Nếu bất kỳ hình ảnh nào trong một chu kỳ không được đăng ký thành công thì không có phát hiện base nào được tạo cho ô đó trong chu kỳ đó. Sử dụng Trình xem phân tích giải trình tự để xác định hình ảnh nào đăng ký không thành công.

Trích xuất cường độ

Sau bước đăng ký, bước trích xuất cường độ tính toán giá trị cường độ cho mỗi giếng nano trong một hình ảnh nhất định. Nếu bước đăng ký không thành công, thì không thể trích xuất cường độ cho ô đó.

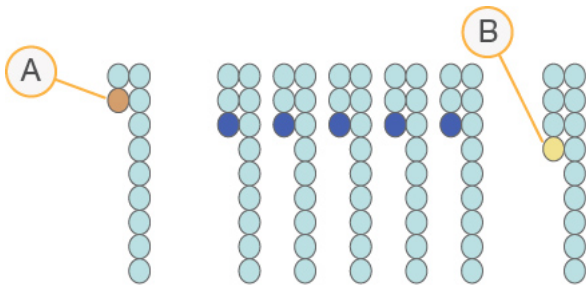
Hiệu chỉnh định pha

Trong phản ứng giải trình tự, mỗi sợi DNA trong một cụm kéo dài thêm một base trong mỗi chu kỳ. Định pha và tiền định pha xảy ra khi một sợi trở nên không hợp pha với chu kỳ kết hợp hiện tại.

Định pha xảy ra khi một base rơi lại phía sau.

Tiền định pha xảy ra khi một base nhảy lên phía trước.

Hình 5 Định pha và tiền định pha



- A. Đoạn đọc có base định pha
- B. Đoạn đọc có base tiền định pha.

RTA3 hiệu chỉnh các ảnh hưởng của định pha và tiền định pha, tối đa hóa chất lượng dữ liệu ở mỗi chu kỳ trong suốt lần chạy.

Phát hiện base

Quá trình phát hiện base sẽ xác định một base (A, C, G hoặc T) cho mỗi cụm của một ô nhất định ở một chu kỳ cụ thể. Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000 sử dụng giải trình tự hai kênh - phương pháp chỉ yêu cầu hai hình ảnh để mã hóa dữ liệu cho bốn base DNA, một từ kênh xanh lục và một từ kênh xanh lam.

Trường hợp không có phát hiện được xác định là N. Trường hợp không có phát hiện xảy ra khi cụm không đi qua bộ lọc, đăng ký không thành công hoặc cụm bị dịch chuyển khỏi hình ảnh.

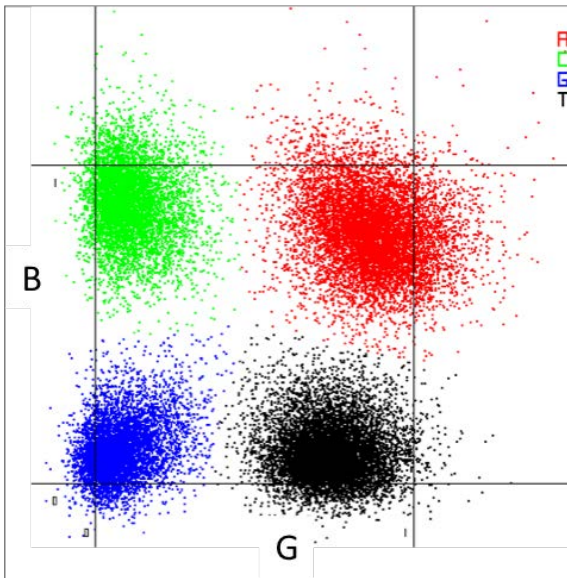
Cường độ cho mỗi cụm được trích xuất từ các hình ảnh xanh lục và xanh lam và được so sánh với nhau, dẫn đến bốn quần thể khác biệt. Mỗi quần thể tương ứng với một base. Quá trình phát hiện base xác định mỗi cụm thuộc về quần thể nào.

Bảng 6 Phát hiện base trong giải trình tự hai kênh

Base	Kênh xanh lục	Kênh xanh lam	Kết quả
A	1 (hiện diện)	1 (hiện diện)	Các cụm thể hiện cường độ ở cả kênh xanh lục và xanh lam.
C	0 (không hiện diện)	1 (hiện diện)	Các cụm chỉ thể hiện cường độ ở kênh xanh lam.
G	0 (không hiện diện)	0 (không hiện diện)	Các cụm không thể hiện cường độ nào tại vị trí cụm đã xác định.

Base	Kênh xanh lục	Kênh xanh lam	Kết quả
T	1 (hiện diện)	0 (không hiện diện)	Các cụm chỉ thể hiện cường độ ở kênh xanh lục.

Hình 6 Trực quan hóa cường độ của cụm



i | Màu của mỗi cụm tương quan với ô %Base trong Trình xem phân tích giải trình tự (SAV) và Run Data by Cycle (Dữ liệu lần chạy theo chu kỳ) trong BaseSpace Sequence Hub và không có mục đích tương quan với kênh xanh lục và xanh lam.

Các cụm đi qua bộ lọc

Trong lần chạy, RTA3 lọc dữ liệu thô để xóa các đoạn đọc không đáp ứng được ngưỡng chất lượng dữ liệu. Các cụm chùng chéo và chất lượng thấp sẽ được loại bỏ.

Đối với phân tích 2 kênh, RTA3 sẽ sử dụng một hệ thống dựa trên quần thể để xác định độ tinh khiết (đo lường độ tinh sạch theo cường độ) của một phát hiện base. Các cụm đi qua bộ lọc (PF) khi không có quá một phát hiện base trong 25 chu kỳ đầu có độ tinh khiết dưới ngưỡng cố định. Khi được đưa vào, so khớp PhiX được thực hiện ở chu kỳ 26 trên một tập con của các ô đối với các cụm đi qua bộ lọc. Các cụm không đi qua bộ lọc không được phát hiện base và không được so khớp.

Điểm chất lượng

Điểm chất lượng (điểm Q) là giá trị dự đoán về xác suất của một phát hiện base không chính xác. Điểm chất lượng cao hơn đồng nghĩa với một phát hiện base có chất lượng cao hơn và khả năng chính xác cao hơn. Sau khi điểm chất lượng được xác định, kết quả được ghi lại trong các tệp phát hiện base (*.cbcl).

Điểm chất lượng truyền đạt ngắn gọn các xác suất lỗi nhỏ. Điểm chất lượng được biểu thị dưới dạng Q (X), trong đó X là số điểm. Bảng dưới đây cho thấy mối quan hệ giữa điểm chất lượng và xác suất lỗi.

Điểm chất lượng Q(X)	Xác suất lỗi
Q40	0,0001 (1 trên 10.000)
Q30	0,001 (1 trên 1000)
Q20	0,01 (1 trên 100)
Q10	0,1 (1 trên 10)

Chấm điểm chất lượng và báo cáo

Tính năng chấm điểm chất lượng tính toán một tập hợp giá trị dự báo cho mỗi phát hiện base, rồi sử dụng các giá trị dự báo để tra cứu điểm chất lượng trong một bảng chất lượng. Bảng chất lượng được lập ra để cung cấp các dự đoán chất lượng chính xác tối ưu cho các lần chạy được tạo ra bởi một cấu hình cụ thể của nền tảng giải trình tự và phiên bản quy trình hóa học.

i | Tính năng chấm điểm chất lượng dựa trên một phiên bản sửa đổi của thuật toán Phred.

Để tạo bảng chất lượng cho Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000, ba nhóm phát hiện base đã được xác định, dựa trên việc phân cụm các tính năng dự đoán cụ thể này. Sau khi nhóm các phát hiện base, tỷ lệ lỗi trung bình được tính toán theo kinh nghiệm cho từng nhóm trong số ba nhóm và điểm chất lượng tương ứng được ghi lại trong bảng chất lượng cùng với các tính năng dự đoán tương quan với nhóm đó. Do đó, chỉ có ba điểm chất lượng được áp dụng với RTA3 và những điểm chất lượng này đại diện cho tỷ lệ lỗi trung bình của nhóm ([Chấm điểm chất lượng dễ dàng hơn với RTA3 trên trang 58](#)). Nhìn chung, điều này giúp cho việc chấm điểm chất lượng trở nên dễ dàng hơn nhưng có độ chính xác cao hơn. Ba nhóm trong bảng chất lượng tương ứng với các phát hiện base cận biên (< Q15), trung bình (~Q20) và chất lượng cao (> Q30) và được ấn định các điểm số cụ thể lần lượt là 12, 23 và 37. Ngoài ra, điểm rỗng là 2 được ấn định cho trường hợp không có phát hiện nào. Mô hình báo cáo điểm chất lượng này giúp giảm yêu cầu về không gian lưu trữ và băng thông mà không ảnh hưởng đến độ chính xác hoặc hiệu suất.

Hình 7 Chấm điểm chất lượng dễ dàng hơn với RTA3



Tập đầu ra giải trình tự

Loại tập	Mô tả, vị trí và tên tập
Tập phát hiện base liên kết	<p>Mỗi cụm được phân tích sẽ có trong một tập phát hiện base liên kết, được tổng hợp thành một tập cho mỗi chu kỳ, làn và bề mặt. Tập tổng hợp chứa phát hiện base liên kết và điểm chất lượng được mã hóa cho mỗi cụm. Tập phát hiện base liên kết được BaseSpace Sequence Hub hoặc bcl2fastq2 sử dụng.</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, ví dụ như L001_1.cbcl</p>
Tập vị trí cụm	<p>Đối với mỗi tế bào dòng chảy, một tập vị trí cụm nhị phân có chứa các tọa độ XY cho các cụm trong một ô. Bố cục hình lục giác khớp với cách bố trí giếng nano của tế bào dòng chảy xác định trước tọa độ.</p> <p>Data/Intensities s_[lane].locs</p>
Tập bộ lọc	<p>Tập bộ lọc chỉ định xem một cụm có đi qua bộ lọc hay không. Các tập bộ lọc được tạo ở chu kỳ 26 bằng 25 chu kỳ dữ liệu. Đối với mỗi ô, hệ thống sẽ tạo một tập bộ lọc.</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter</p>

Loại tệp	Mô tả, vị trí và tên tệp
Tệp InterOp	Bạn có thể xem các tệp báo cáo nhị phân trên thiết bị bằng Phần mềm điều khiển thiết bị hoặc ngoài thiết bị trong SAV hoặc BaseSpace Sequence Hub. Các tệp InterOp được cập nhật trong suốt quá trình chạy. Thư mục <code>InterOp</code>
Tệp thông tin lần chạy	Liệt kê tên lần chạy, số chu kỳ trong mỗi đoạn đọc, đoạn đọc có phải là Đoạn đọc chỉ thị hay không và số lượng các dải và ô trên tế bào dòng chảy. Tệp thông tin lần chạy được tạo ở đầu lần chạy. <code>[Root folder], RunInfo.xml</code>

Tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN

Nền tảng DRAGEN Bio-IT phân tích sâu hơn đầu ra giải trình tự trên thiết bị bằng một trong các luồng phân tích sau.

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

Mục này cung cấp thông tin về mỗi luồng DRAGEN, bao gồm cả thông tin tệp đầu ra. Ngoài việc tạo các tệp riêng cho từng luồng, DRAGEN còn cung cấp các số liệu từ quá trình phân tích trong tệp `<sample_name>.metrics.json` và các báo cáo được mô tả trong [Luồng DRAGEN BCL Convert trên trang 64](#) (Luồng tạo FASTQ của DRAGEN). Để biết thêm thông tin về DRAGEN, xem [trang hỗ trợ Nền tảng DRAGEN Bio-IT](#).

Tất cả các luồng DRAGEN đều hỗ trợ giải nén các tệp BCL đầu vào và nén các tệp BAM/CRAM đầu ra.

Những điều cần lưu ý về tệp đầu ra:

- Đối với các luồng Germline, RNA, Enrichment và DNA Amplicon chạy phân tích trên thiết bị, tệp BAM sẽ không được tải lên BaseSpace Sequence Hub nếu bạn chọn Proactive, Run Monitoring and Storage (Proactive, giám sát và lưu trữ lần chạy).

Luồng DRAGEN Enrichment

Luồng DRAGEN Enrichment hỗ trợ các tính năng sau. Nếu sử dụng DRAGEN 3.7 trở lên, cả chế độ dòng mầm và sinh dưỡng (chỉ khối u) đều được hỗ trợ.

- Tách đoạn mẫu
- Ánh xạ và so khớp, bao gồm sắp xếp và đánh dấu trùng lặp

- Phát hiện biến thể nhỏ
- Phát hiện biến thể cấu trúc

Để thực hiện việc phát hiện biến thể, tệp *.bed phải được đưa vào bảng thông tin mẫu hoặc được chỉ định trong Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trên BaseSpace Sequence Hub. Phát hiện biến thể cấu trúc chỉ được tạo cho đoạn đọc kết đôi và chế độ dòng mầm.

Nếu sử dụng DRAGEN Enrichment phiên bản 3.8 trở lên, bạn phải nhập một tệp ngưỡng nhiễu để cải thiện hiệu suất ở chế độ sinh dưỡng. Xem mục [Nhập tệp ngưỡng nhiễu trên trang 17](#).

Luồng tạo ra các tệp đầu ra sau đây.

Thành phần	Loại	Tên tệp đầu ra
Ánh xạ/so khớp	BAM hoặc CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam hoặc • <sample_name>.cram
Phát hiện biến thể nhỏ	VCF và gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
Phát hiện biến thể cấu trúc	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.sv.vcf.gz

* Tệp đầu ra gVCF chỉ được tạo ở chế độ dòng mầm.

Luồng DRAGEN Germline

Luồng DRAGEN Germline hỗ trợ các tính năng sau:

- Tách đoạn mẫu
- Ánh xạ và so khớp, bao gồm sắp xếp và đánh dấu trùng lặp
- Phát hiện biến thể nhỏ
- Phát hiện biến thể cấu trúc đối với đoạn đọc kết đôi
- Phát hiện biến thể số lượng bản sao đối với hệ gen người
- Lập trình tự ngắn đối với hệ gen người
- Các vùng đồng hợp tử đối với hệ gen người
- **[DRAGEN v3.8 trở lên]** Phát hiện CYP2D6

Phát hiện biến thể cấu trúc chỉ được tạo cho đoạn đọc kết đôi.

Luồng tạo ra các tệp đầu ra sau đây.

Thành phần	Loại	Tên tệp đầu ra
Ánh xạ/so khớp	BAM hoặc CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam hoặc • <sample_name>.cram

Thành phần	Loại	Tên tệp đầu ra
Phát hiện biến thể nhỏ	VCF và gVCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
Trình phát hiện biến thể cấu trúc	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.sv.vcf.gz
Biến thể số lượng bản sao	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.cnv.vcf.gz
Lặp trình tự ngắn	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.repeats.vcf.gz
Vùng đồng hợp tử	CSV và BED	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.roh_metrics.csv <sample_name>.roh.bed
Phát hiện CYP2D6	TSV	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.cyp2d6.tsv

Luồng DRAGEN DNA Amplicon

Luồng DRAGEN hỗ trợ các tính năng sau:

- Tách đoạn mẫu
- Ánh xạ và so khớp, bao gồm sắp xếp và đánh dấu trùng lặp
- Phát hiện biến thể nhỏ ở chế độ dòng mầm hoặc sinh dưỡng.

Để thực hiện việc phát hiện biến thể, tệp *.bed phải được đưa vào bảng thông tin mẫu hoặc được chỉ định trong Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) trên BaseSpace Sequence Hub.

Luồng tạo ra các tệp đầu ra sau đây.

Thành phần	Loại	Tên tệp đầu ra
Ánh xạ/so khớp	BAM hoặc CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.bam hoặc <sample_name>.cram
Phát hiện biến thể nhỏ	VCF và gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz

* Tệp đầu ra gVCF chỉ được tạo ở chế độ dòng mầm.

Luồng DRAGEN RNA

Luồng DRAGEN RNA hỗ trợ các tính năng sau

- Tách đoạn mẫu
- Ánh xạ và so khớp, bao gồm sắp xếp và đánh dấu trùng lặp
- Phát hiện dung hợp gen
- Định lượng bản mã
- [DRAGEN v3.8 trở lên] Biểu hiện gen khác biệt

Để tạo tệp đầu ra, hãy chỉ định tệp GTF trong bảng thông tin mẫu hoặc đảm bảo `genes.gtf.gz` mặc định tồn tại cùng với hệ gen tham chiếu.

Luồng tạo ra các tệp đầu ra sau đây.

Thành phần	Loại	Tên tệp đầu ra	Mô tả
Ánh xạ/so khớp	BAM hoặc CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <code><sample_name>.bam</code> hoặc <code><sample_name>.cram</code> 	Đầu ra so khớp đáp ứng thông số kỹ thuật SAM.
Phát hiện dung hợp gen	Văn bản thuần túy	<ul style="list-style-type: none"> <code><sample_name>.fusion_candidates.preliminary</code> 	<ul style="list-style-type: none"> Ứng viên dung hợp trước khi áp dụng bộ lọc.
		<ul style="list-style-type: none"> <code><sample_name>.fusion_candidates.final</code> 	<ul style="list-style-type: none"> Ứng viên dung hợp sau khi áp dụng bộ lọc.
Định lượng bản mã	Văn bản thuần túy	<ul style="list-style-type: none"> <code>sample_name.quant.genes.sf</code> 	<ul style="list-style-type: none"> Kết quả định lượng bản mã ở cấp độ gen.
		<ul style="list-style-type: none"> <code>sample_name.quant.sf</code> 	<ul style="list-style-type: none"> Tất cả các kết quả định lượng bản mã.
Biểu hiện khác biệt	PNG	Xem bảng tệp đầu ra về biểu hiện khác biệt sau.	Để tạo các tệp đầu ra, bạn phải thiết lập giá trị so sánh trong bảng thông tin mẫu.

Các tệp sau được xuất ra khi bạn bật tính năng biểu hiện khác biệt.

Tên tệp	Mô tả
<code>Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv</code>	Chứa các số liệu phân tích biểu hiện khác biệt.
<code>Control_vs_Comparison.genes.counts.csv</code>	Mô tả số lượng đoạn đọc được ánh xạ tới từng gen cho mỗi mẫu trong nhóm đối chứng và nhóm so sánh.

Tên tệp	Mô tả
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	Bản đồ nhiệt về biểu hiện của các gen có biểu hiện khác biệt cho các mẫu trong nhóm đối chứng và nhóm so sánh. Bản đồ nhiệt chỉ hiển thị các gen có biểu hiện khác biệt với giá trị P được điều chỉnh <math><-,05</math>. Nếu có hơn 30 gen có biểu hiện khác biệt thì chỉ 30 gen có biểu hiện khác biệt hàng đầu được sử dụng. Nếu DESeq1 không đồng quy hoặc nếu không có gen nào có biểu hiện khác biệt thì hệ thống sẽ không tạo tệp.
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	Chứa mức độ biến thiên của tỷ lệ biểu hiện gen dưới dạng một hàm của cường độ tín hiệu trung bình. Để cho thấy sự khác biệt giữa các phép đo được thực hiện ở hai mẫu, biểu đồ chuyển đổi dữ liệu thành các thang đo M (tỷ lệ log) và A (trung bình), sau đó vẽ biểu đồ các giá trị. Biểu đồ MA cho thấy giá trị \log_2 thay đổi số lần được quy cho một biến nhất định so với giá trị trung bình của số lượng chuẩn hóa cho tất cả các mẫu. Nếu giá trị P đã điều chỉnh nhỏ hơn 0,1, các điểm sẽ có màu đỏ. Các điểm nằm ngoài khung được vẽ dưới dạng hình tam giác mở. Hình tam giác hướng lên trên biểu thị tỷ lệ thay đổi theo hàm log có giá trị dương. Hình tam giác hướng xuống dưới biểu thị tỷ lệ thay đổi theo hàm log có giá trị âm.
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	Biểu đồ hiển thị hai thành phần chính đầu tiên giải thích cho sự biến thiên lớn nhất.
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	Chứa các kết quả DESeq2 giúp mô tả mức độ biểu hiện trung bình, \log_2 (tỷ lệ thay đổi), sai số chuẩn của \log_2 , giá trị P, giá trị P đã điều chỉnh và trạng thái biểu hiện của mỗi gen.
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	Chứa số lượng biến đổi theo hàm log theo đúng quy tắc do DESeq2 tính toán.

Luồng DRAGEN Single Cell RNA

DRAGEN hỗ trợ các tính năng sau:

- Tách đoạn mẫu
- Ánh xạ và so khớp, bao gồm sắp xếp và đánh dấu trùng lặp
- Phân loại tế bào và gen

Để tạo tệp đầu ra, hãy chỉ định tệp GTF trong bảng thông tin mẫu hoặc đảm bảo `genes.gtf.gz` mặc định tồn tại cùng với hệ gen tham chiếu.

Luồng tạo ra các tệp đầu ra sau đây.

Thành phần	Loại	Tên tệp đầu ra
Ảnh xạ/so khớp	BAM hoặc CRAM	<ul style="list-style-type: none"> <code><sample_name>.bam</code> hoặc <code><sample_name>.cram</code>
Phân loại tế bào/gen	TSV, CSV và MTX	<ul style="list-style-type: none"> <code><sample_name>.scRNA.barcodeSummary.tsv</code> <code><sample_name>.scRNA.genes.tsv</code> <code><sample_name>.scRNA.matrix.mtx</code>
Báo cáo phân tích	HTML	<code><sample_name>.dragen.scrna-report.*.html</code>

Luồng DRAGEN BCL Convert

Luồng DRAGEN BCL Convert sử dụng dữ liệu BCL được tạo từ lần chạy giải trình tự và thông tin từ bảng thông tin mẫu để xuất tệp FASTQ cho mỗi mẫu. Tên tệp FASTQ là `<sample_name>.fastq.gz`.

Luồng tạo ra các báo cáo sau đây.

Thành phần	Loại	Tên tệp đầu ra
Tách đoạn	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Demultiplex_Stats.csv</code>
Số liệu adapter	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Adapter_Metrics.csv</code>
Nhảy chỉ thị	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Index_Hopping_Counts.csv</code>
Các mã vạch không xác định hàng đầu	CSV	<ul style="list-style-type: none"> <code>Top_Unknown_Barcodes.csv</code>

Báo cáo số liệu thống kê tách đoạn

Báo cáo số liệu thống kê tách đoạn bao gồm thông tin về số đoạn đọc bộ lọc đi qua được chỉ định cho mỗi mẫu trong bảng thông tin mẫu. Bất kỳ đoạn đọc nào không được liên kết rõ ràng với một mẫu sẽ được phân loại là chưa xác định. Báo cáo cũng bao gồm thông tin về điểm chất lượng của các base trong đoạn đọc bộ lọc đi qua (PF) được chỉ định cho mỗi mẫu.

Những thông tin sau sẽ có trong báo cáo.

Số liệu	Mô tả
Lane (Làn)	Làn trên tế bào dòng chảy mà mẫu đã được giải trình tự.
SampleID (ID mẫu)	ID mẫu từ bảng thông tin mẫu. Nếu đoạn đọc không tương ứng với mẫu, trường sẽ hiển thị là <code>undetermined</code> (không xác định).

Số liệu	Mô tả
Index (Chỉ thị)	Sự liên kết giữa Đoạn đọc chỉ thị 1 và Đoạn đọc chỉ thị 2 trong bảng thông tin mẫu được phân tách bằng dấu gạch nối. Nếu đoạn đọc không tương ứng với mẫu, trường sẽ hiển thị là <code>undetermined</code> (không xác định).
# Reads (Số đoạn đọc)	Số đoạn đọc PF được tách đoạn cho mẫu trong làn được chỉ định.
# Perfect Index Reads (Số đoạn đọc chỉ thị hoàn hảo)	Số đoạn đọc khớp hoàn hảo với trình tự chỉ thị kết hợp được chỉ định trong bảng thông tin mẫu.
# One Mismatch Index Reads (Số đoạn đọc chỉ thị có một lần không khớp)	Số đoạn đọc có một sai số trong trình tự chỉ thị kết hợp được chỉ định trong bảng thông tin mẫu.
# of \geq Q30 Bases (Số base \geq Q30) (PF)	Số lượng base, bao gồm cả adapter, tương ứng với số đoạn đọc vượt qua ngưỡng chất lượng Q30.
Mean Quality Score (Điểm chất lượng trung bình) (PF)	Điểm chất lượng trung bình của các đoạn đọc tương ứng với mẫu trong làn được chỉ định. Giá trị bao gồm cả base adapter.

Báo cáo số liệu adapter

Tập số liệu adapter chứa số base adapter và base mẫu được liên kết với mỗi đoạn đọc.

Những thông tin sau sẽ có trong báo cáo.

Số liệu	Mô tả
Lane (Làn)	Làn trên tế bào dòng chảy mà mẫu đã được giải trình tự.
Sample_ID (ID mẫu)	ID mẫu từ bảng thông tin mẫu. Nếu đoạn đọc không tương ứng với mẫu, trường sẽ hiển thị là <code>undetermined</code> (không xác định).
index (chỉ thị)	Trình tự index1 từ bảng thông tin mẫu. Trường này trống nếu chỉ thị không được chỉ định trong bảng thông tin mẫu hoặc giá trị ID mẫu là <code>undetermined</code> (không xác định).
index2 (chỉ thị 2)	Trình tự index2 từ bảng thông tin mẫu. Trường này trống nếu index2 không được chỉ định trong bảng thông tin mẫu hoặc giá trị ID mẫu là <code>undetermined</code> (không xác định).
R1_AdapterBases	Số lượng base tương ứng với AdapterRead1 trong bảng thông tin mẫu.
R1_SampleBases	Số base được cắt hoặc che giấu từ Đoạn đọc 1 cho làn và mẫu tương ứng.

Số liệu	Mô tả
R2_AdapterBases	Số lượng base tương ứng với AdapterRead2 trong bảng thông tin mẫu.
R2_SampleBases	Số base được cắt hoặc che giấu từ Đoạn đọc 2 cho làn và mẫu tương ứng.
# Reads (Số đoạn đọc)	Số đoạn đọc cho mẫu trong làn được chỉ định.

Báo cáo số lượng nhảy chỉ thị

Báo cáo số lượng nhảy chỉ thị bao gồm số đoạn đọc cho mỗi chỉ thị dự kiến và nhảy cho các lần chạy chỉ thị kép. Báo cáo chỉ bao gồm các chỉ thị kép duy nhất cho mỗi làn không phát hiện xung đột mã vạch trong cả hai chỉ thị. Để tạo số liệu nhảy chỉ thị cho một làn, mọi cặp mục nhập trong mỗi chỉ thị phải có khoảng cách Hamming ít nhất là $2N + 1$, trong đó N đại diện cho dung sai không khớp của mã vạch được chỉ định cho chỉ thị.

Những thông tin sau sẽ có trong báo cáo.

Đối với các lần chạy không có chỉ thị, các lần chạy có một chỉ thị hoặc các làn không chứa các chỉ thị kép duy nhất, tệp chỉ có tiêu đề.

Số liệu	Mô tả
Lane (Làn)	Làn trên tế bào dòng chảy mà mẫu đã được giải trình tự.
# Reads (Số đoạn đọc)	Số đoạn đọc cho mẫu trong làn được chỉ định.
SampleID (ID mẫu)	ID mẫu từ bảng thông tin mẫu. Nếu đoạn đọc không tương ứng với mẫu, trường sẽ hiển thị là <i>undetermined</i> (không xác định).
index (chỉ thị)	Trình tự index1 từ bảng thông tin mẫu. Trường này trống nếu đoạn đọc là loại đơn hoặc giá trị ID mẫu là <i>undetermined</i> (không xác định).
index2 (chỉ thị 2)	Trình tự index2 từ bảng thông tin mẫu. Trường này trống nếu đoạn đọc là loại đơn hoặc giá trị ID mẫu là <i>undetermined</i> (không xác định).

Báo cáo về các mã vạch không xác định hàng đầu

Báo cáo về các mã vạch không xác định hàng đầu bao gồm 100 chỉ thị hoặc cặp chỉ thị hàng đầu trên mỗi làn chưa được xác định trong bảng thông tin mẫu theo số lượng không khớp cho phép. Nếu có nhiều giá trị chỉ thị được đặt làm mục nhập số lượng chỉ thị cao thứ 100, thì tất cả các giá trị chỉ thị có cùng số lượng sẽ được xuất ra dưới dạng mục nhập thứ 100.

Những thông tin sau sẽ có trong báo cáo:

Số liệu	Mô tả
Lane (Làn)	Làn trên tế bào dòng chảy mà mẫu đã được giải trình tự.
index (chỉ thị)	Trình tự cho mỗi chỉ thị không xác định trong chỉ thị Read1. Trường này trống nếu không tìm thấy chỉ thị không xác định.
index2 (chỉ thị 2)	Trình tự cho mỗi chỉ thị không xác định trong chỉ thị Read 2. Nếu làn chạy là đoạn đọc đơn hoặc không tìm thấy chỉ thị không xác định nào, trường này sẽ trống.
# Reads (Số đoạn đọc)	Số đoạn đọc cho mẫu trong làn được chỉ định.

Báo cáo QC DRAGEN của Illumina

Đối với tất cả các luồng, DRAGEN FastQC tạo các biểu đồ QC theo mặc định. Kết quả QC tổng hợp được lưu trữ trong thư mục `AggregatedFastqcMetrics` và kết quả cho mỗi mẫu được lưu trữ trong thư mục `<sample_name>`.

Hệ thống không tạo báo cáo QC nếu số lượng mẫu nhiều hơn 512.

Sau đây là các biểu đồ QC được cung cấp.

Biểu đồ QC	Mô tả
adapter_content	Tỷ lệ phần trăm của trình tự cho mỗi cặp base.
positional_mean_quality	Điểm chất lượng trung bình của base theo thang điểm Phred cho mỗi vị trí đoạn đọc.
gc_content	Phần trăm hàm lượng GC cho mỗi đoạn đọc giải trình tự.
positional_quality.read_1	Giá trị chất lượng trung bình theo thang điểm Phred của các base có một nucleotide cụ thể và tại một vị trí nhất định trong Đoạn đọc 1.
gc_quality	
positional_quality.read_2	Giá trị chất lượng trung bình theo thang điểm Phred của các base có một nucleotide cụ thể và tại một vị trí nhất định trong Đoạn đọc 2.
n_content	
read_length	Chiều dài trình tự cho mỗi đoạn đọc.

Biểu đồ QC	Mô tả
positional_base_content.read_1	Số lượng base của mỗi nucleotide cụ thể tại các vị trí nhất định trong Đoạn đọc 1.
read_quality	Điểm chất lượng trung bình theo thang điểm Phred cho mỗi đoạn đọc giải trình tự.
positional_base_content.read_2	Số lượng base của mỗi nucleotide cụ thể tại các vị trí nhất định trong Đoạn đọc 2.

Cấu trúc thư mục tệp đầu ra phân tích phụ DRAGEN

Theo mặc định, DRAGEN tạo tệp đầu ra trong thư mục đầu ra được chọn trong tab Settings (Cài đặt). Đối với mỗi quy trình công việc, DRAGEN tạo một báo cáo tóm tắt trong tệp `report.html`.

📁 Data (Dữ liệu)

📄 `report.html`

📄 `report_files`

📁 AggregateFastQCPlots

📄 `*.png`

📄 `*stderr.txt`

📄 `*stdout.txt`

📄 `dragen_prev_48_hrs.log`

📄 `dln_prev_48_hrs.log`

📄 `SampleSheet.csv`

📄 Tệp đầu vào lần chạy (ví dụ: tệp BED, GTF)

📁 sample_name

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

📁 sample_name

📄 `*.png`

📄 `dragen_*.log`

📄 `sample_name.*.metrics.csv`

📄 `[DNA] sample_name.*.vcf.gz`

📄 `[DNA] sample_name.*.gvcf.gz` — Không cung cấp cho luồng Amplicon (sinh dưỡng) của Nền tảng DRAGEN Bio-IT.

📄 `sample_name.*.bam` hoặc `sample_name.*.cram`

- 📄 Logs
- 📄 [RNA] sample_name.fusion_candidates.filter_info
- 📄 [RNA] sample_name.fusion_candidates.final
- 📄 [RNA] sample_name.quant.genes.sf
- 📄 [RNA] sample_name.quant.sf
- 📄 sample_name.metrics.json
- 📄 [scRNA] sample_dragen-scRNA-report.*.html
- 📄 [scRNA] sample_name.scRNA.barcodeSummary.tsv
- 📄 [Germline] sample_name.roh_metrics.csv
- 📄 [Germline] sample_name.roh.bed
- 📄 [Germline] sample_name.cyp2d6.tsv
- 📄 sample_name.fastqc_metrics.csv
- 📄 sample_name.trimmer_metrics.csv

📁 [RNA] DifferentialExpression

📁 Comparison1

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

📁 ComparisonN

📁 logs

- 📄 *.txt
- 📄 *.csv

📁 **fastq** — Chỉ cung cấp nếu bạn chọn true (đúng) cho tùy chọn KeepFastq.

- 📄 *.fastq.gz

📁 **ora_fastq** — Chỉ cung cấp nếu bạn chọn dragen cho tùy chọn FastqCompressionFormat.

- 📄 *.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 — Chỉ dành cho đoạn đọc kết đôi.

0001

- dataset.json

0002

- dataset.json
- Adapter_Metrics.csv
- Demultiplex_Stats.csv
- Index_Hopping_Counts.csv

Read1Metrics — Chỉ dành cho đoạn đọc kết đôi.

- Adapter_Metrics.csv
- Index_Hopping_Counts.csv

Bảo dưỡng

Phần này mô tả các quy trình cần thiết để duy trì hệ thống hoạt động tốt. Tìm hiểu cách cài đặt các bản cập nhật phần mềm, thay bộ lọc không khí và thực hiện các quy trình bảo trì định kỳ khác. Việc duy trì sao cho phần mềm điều khiển luôn ở phiên bản mới nhất sẽ đảm bảo hệ thống được cài đặt các bản sửa lỗi và tính năng mới nhất, từ đó đạt hiệu suất tối ưu.

Dọn dẹp dung lượng ổ cứng

Một lần chạy giải trình tự cần khoảng 200 GB dung lượng ổ cứng cục bộ. Thông báo cảnh báo sẽ hiển thị khi dung lượng sắp hết. Làm theo các bước sau để giải phóng dung lượng bằng cách xóa các lần chạy đã hoàn tất và các hệ gen tham chiếu đã cài đặt khỏi thư mục chứa lần chạy tạm thời.

! | Bạn chỉ nên xóa các lần chạy bằng Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 thay vì xóa thủ công thông qua hệ điều hành. Việc xóa các lần chạy theo cách thủ công có thể tác động xấu đến phần mềm điều khiển.

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Disk Management** (Quản lý đĩa).
Màn hình Disk Management (Quản lý đĩa) sẽ hiển thị kèm danh sách các lần chạy và hệ gen tham chiếu đã được lưu vào ổ cứng cục bộ.
2. Đối với lần chạy mà bạn muốn xóa, hãy chọn **Delete Run** (Xóa lần chạy).
Khi bạn xóa một lần chạy, thư mục lần chạy cục bộ sẽ bị xóa. Thư mục đầu ra, là một bản sao của thư mục lần chạy, sẽ được giữ lại.
3. Trong hộp thoại, chọn **Yes, Delete Run** (Có, xóa lần chạy) để xác nhận bạn muốn xóa lần chạy.
4. Lặp lại bước 2 và 3 cho mỗi lần chạy mà bạn muốn xóa.
5. Đối với hệ gen mà bạn muốn xóa, hãy chọn **Delete Genome** (Xóa hệ gen).
6. Trong hộp thoại, hãy chọn **Yes, Delete Genome** (Có, xóa hệ gen).
7. Lặp lại bước 5 và 6 cho mỗi hệ gen mà bạn muốn xóa.
8. Khi hoàn tất, đóng màn hình Disk Management (Quản lý đĩa) để trở về màn hình Home (Chính).

Cập nhật phần mềm

Việc cập nhật phần mềm đảm bảo rằng hệ thống của bạn có các tính năng và bản sửa lỗi mới nhất. Các bản cập nhật phần mềm được nhóm thành bộ phần mềm hệ thống, bao gồm phần mềm sau:

- Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000
- Công thức NextSeq 1000/2000
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

i | Mô-đun DRAGEN không nằm trong bộ phần mềm hệ thống. Người dùng phải cài đặt riêng khi cần. Truy cập phần mềm mô-đun DRAGEN từ các trang hỗ trợ.

Hệ thống được định cấu hình để tải xuống bản cập nhật phần mềm theo cách tự động hoặc thủ công:

- **Cập nhật tự động** — Bản cập nhật được tự động tải xuống từ BaseSpace Sequence Hub để bạn cài đặt. Tùy chọn này yêu cầu kết nối Internet nhưng không yêu cầu tài khoản BaseSpace Sequence Hub.
- **Cập nhật thủ công** — Bản cập nhật được tải xuống thủ công từ trang web, lưu cục bộ hoặc vào ổ đĩa di động và được cài đặt từ vị trí đã lưu. Tùy chọn này không yêu cầu thiết bị phải có kết nối Internet.

Cài đặt bản cập nhật phần mềm tự động


1. Bạn cần kiểm tra để chắc chắn rằng quá trình chạy giải trình tự hoặc phân tích phụ trên thiết bị hiện không diễn ra.
2. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.
3. Chọn **Software Update** (Cập nhật phần mềm) từ menu phần mềm điều khiển. Những hệ thống được định cấu hình để cập nhật tự động sẽ hiển thị một thông báo khi có bản cập nhật phần mềm.
4. Để kiểm tra bản cập nhật, hãy chọn **Check Online for Software Update** (Kiểm tra trực tuyến bản cập nhật phần mềm).
5. Chọn **Update now** (Cập nhật ngay) để tải xuống phiên bản phần mềm mới. Khi quá trình tải xuống hoàn tất, phần mềm điều khiển sẽ đóng lại và trình hướng dẫn cài đặt sẽ xuất hiện. Phần mềm điều khiển tự động khởi động lại. Mọi cập nhật chương trình cơ sở sẽ tự động diễn ra sau khi khởi động lại.

i | Bạn không thể hủy bản cập nhật sau khi quá trình cài đặt bắt đầu. Bạn chỉ có thể hủy bản cập nhật trong quá trình tải xuống.

Cài đặt bản cập nhật phần mềm thủ công

1. Đăng nhập vào tài khoản ilmnadmin.
2. Bạn cần kiểm tra để chắc chắn rằng quá trình chạy giải trình tự hoặc phân tích phụ trên thiết bị hiện không diễn ra.
3. Khi có bản cập nhật phần mềm, hãy tải xuống bộ cài đặt bộ phần mềm (*.tar.gz) từ [trang hỗ trợ Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000](#). Lưu bộ cài đặt vào ổ đĩa cục bộ hoặc ổ đĩa di động.
4. Nếu bạn đã lưu bộ cài đặt vào ổ đĩa di động, hãy cắm ổ vào cổng USB 3.0 nằm ở cả hai bên và phía sau của thiết bị.
5. Trong phần mềm điều khiển, chọn **Software Update** (Cập nhật phần mềm) từ menu phần mềm điều khiển.

6. Chọn **Choose...** (Chọn...) để chuyển đến bộ cài đặt.
7. Chọn **Update now** (Cập nhật ngay) để bắt đầu cài đặt.
Phần mềm điều khiển hiển thị chỉ báo bận trong khi cài đặt.
Phần mềm điều khiển tự động khởi động lại. Mọi cập nhật chương trình cơ sở sẽ tự động diễn ra sau khi khởi động lại.

 | Bạn không thể hủy bản cập nhật sau khi quá trình cài đặt bắt đầu. Bạn chỉ có thể hủy bản cập nhật trong quá trình tải xuống.

Cập nhật quy trình công việc và giấy phép DRAGEN

Chỉ quản trị viên hệ thống mới có thể cài đặt quy trình công việc DRAGEN và gia hạn giấy phép DRAGEN.

Gia hạn giấy phép DRAGEN trực tuyến

Nếu NextSeq 1000/2000 được kết nối Internet, hãy cập nhật giấy phép sử dụng Nền tảng DRAGEN Bio-IT như sau.

1. Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina để nhận khóa giấy phép mới.
2. Đợi 24 giờ để giấy phép tự động cập nhật hoặc cập nhật giấy phép ngay lập tức như sau.
 - a. Chọn menu phần mềm điều khiển, sau đó chọn **DRAGEN**.
 - b. Chọn **Check Online** (Kiểm tra trực tuyến) để kiểm tra xem có khóa giấy phép DRAGEN mới chưa.
 - c. Nếu có, hãy chọn **Update** (Cập nhật).

Gia hạn giấy phép DRAGEN ngoại tuyến

Nếu NextSeq 1000/2000 không được kết nối Internet, hãy cập nhật giấy phép sử dụng Nền tảng DRAGEN Bio-IT như sau.

1. Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina để nhận khóa giấy phép mới. Lưu tệp `license.zip` vào ổ đĩa cục bộ hoặc ổ đĩa di động.
2. Nếu bạn đã lưu tệp *.zip vào ổ đĩa di động, hãy cắm ổ vào cổng USB 3.0 nằm ở cả hai bên và phía sau của thiết bị. Nhẹ nhàng di chuyển thiết bị khi cần để tiếp cận mặt sau.
3. Chọn menu phần mềm điều khiển, sau đó chọn **DRAGEN**.
4. Chọn **Choose** (Chọn) để chuyển đến tệp *.zip, sau đó chọn **Open** (Mở).

Cài đặt quy trình công việc DRAGEN trực tuyến

Nếu NextSeq 1000/2000 được kết nối Internet, bạn có thể cài đặt quy trình công việc DRAGEN trực tiếp trong Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000. Bạn chỉ có thể cài đặt quy trình công việc DRAGEN trực tuyến trong Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3.

1. Chọn menu phần mềm điều khiển, rồi chọn **Process Management** (Quản lý quy trình).

2. Bạn cần kiểm tra để chắc chắn rằng quá trình chạy giải trình tự hoặc phân tích phụ trên thiết bị hiện không diễn ra.
3. Chọn menu phần mềm điều khiển, sau đó chọn **DRAGEN**.
Ở mục Version (Phiên bản), phần Available Workflows (Quy trình công việc có sẵn) liệt kê các quy trình công việc hiện được cài đặt trên hệ thống.
4. Để cài đặt quy trình công việc DRAGEN trong Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000, hãy chọn **Check Online** (Kiểm tra trực tuyến).
Có một số phiên bản và quy trình công việc DRAGEN không tương thích với phương pháp cài đặt trực tuyến. Hãy sử dụng phương pháp cài đặt ngoại tuyến cho các quy trình công việc bổ sung.
5. Chọn hộp kiểm tương ứng với quy trình công việc bạn muốn cài đặt. Nếu chưa cài đặt BCL Convert thì trước tiên, bạn cần cài đặt phiên bản BCL Convert mới nhất.
Bạn có thể xem thông tin về phiên bản mới nhất của quy trình công việc trong ghi chú phát hành.
6. Chọn **Install** (Cài đặt) để bắt đầu cài đặt.
7. Nhập ilmnadmin cho mật khẩu hệ thống, sau đó chọn **Authenticate** (Xác thực).

Cài đặt quy trình công việc DRAGEN ngoại tuyến

1. Khi có bản cập nhật quy trình công việc DRAGEN, hãy tải bộ cài đặt (*.tar.gz) xuống từ [trang hỗ trợ về DRAGEN](#). Lưu bộ cài đặt vào ổ đĩa cục bộ hoặc ổ đĩa di động.
2. Nếu bạn đã lưu bộ cài đặt vào ổ đĩa di động, hãy cắm ổ vào cổng USB 3.0 nằm ở cả hai bên và phía sau của thiết bị. Nhẹ nhàng di chuyển thiết bị khi cần để tiếp cận mặt sau.
3. Chọn menu phần mềm điều khiển, rồi chọn **Process Management** (Quản lý quy trình).
4. Bạn cần kiểm tra để chắc chắn rằng quá trình chạy giải trình tự hoặc phân tích phụ trên thiết bị hiện không diễn ra.
5. Chọn menu phần mềm điều khiển, sau đó chọn **DRAGEN**.
6. Ở mục Version (Phiên bản), chọn **Browse for New Version** (Duyệt phiên bản mới) để chuyển đến bộ cài đặt.
7. Chọn **Install** (Cài đặt) để bắt đầu cài đặt.
8. Nhập ilmnadmin cho mật khẩu hệ thống, sau đó chọn **Authenticate** (Xác thực).

Thay bộ lọc không khí

Làm theo các hướng dẫn sau đây để thay thế bộ lọc không khí đã hết hạn 6 tháng một lần.

Bộ lọc không khí là một hộp hình chữ nhật dùng một lần, bao phủ quạt ở phía bên phải của thiết bị. Bộ lọc này đảm bảo làm mát thích hợp và ngăn các mảnh vụn rơi vào hệ thống. Thiết bị được xuất xưởng với một bộ lọc không khí lắp đặt sẵn và một bộ lọc dự phòng. Phụ tùng bổ sung được bao gồm trong hợp đồng dịch vụ thiết bị hợp lệ hoặc có thể mua riêng từ Illumina.

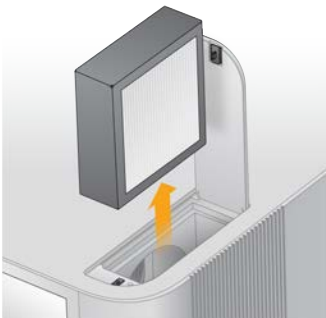
1. Ở mặt trên của thiết bị, nhấn vào phía bên phải của tấm trên cùng để mở ra như trong hình minh họa sau.



2. Mở tấm.



3. Nhấn để nhả hộp bộ lọc không khí, tháo khỏi phần giữa của tấm và thải bỏ.



4. Lắp bộ lọc không khí mới vào hộp chứa và nhấn để cố định.

- Đóng tấm trên cùng và ấn vào vị trí.



- Trả lại thiết bị về vị trí ban đầu.

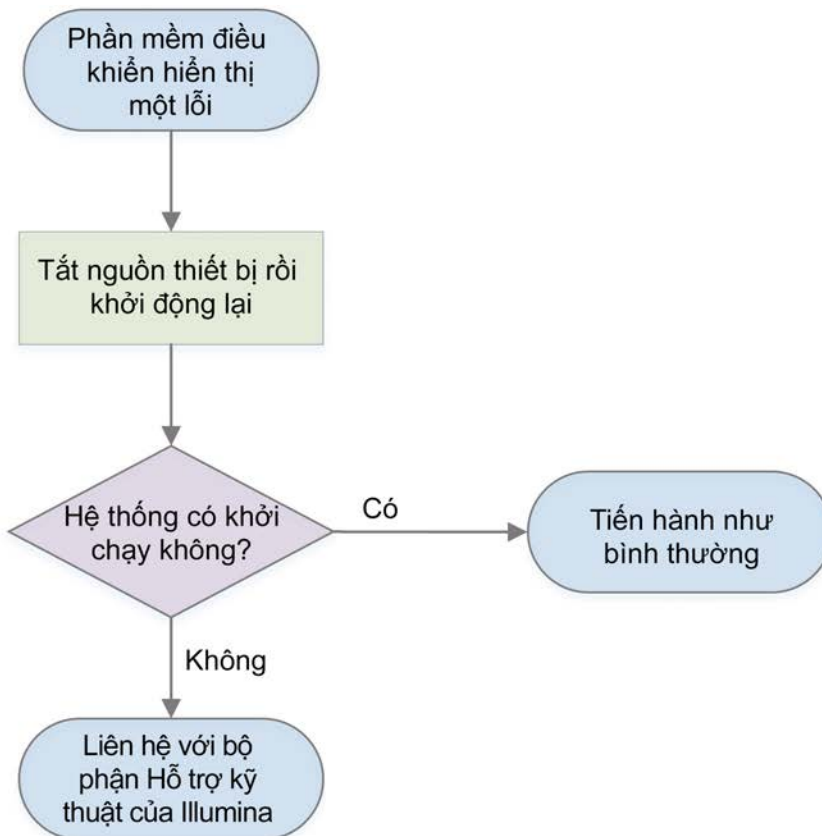
Khắc phục sự cố

Mục này đưa ra hướng dẫn từng bước về cách hủy lần chạy, tắt nguồn thiết bị rồi khởi động lại và các quy trình khắc phục sự cố khác.

Xử lý thông báo lỗi

Phụ lục này cung cấp hướng dẫn chi tiết về các bước khắc phục sự cố khác nhau. Lưu đồ dưới đây minh họa tổng quan về cách khắc phục sự cố cho các thông báo lỗi xuất hiện trong khi khởi chạy, thiết lập lần chạy hoặc trong quá trình giải trình tự và không giải quyết được bằng cách thử lại.

Nhiều lỗi có thể được xử lý bằng cách tắt nguồn thiết bị, rồi khởi động lại. Xem mục [Đóng – mở nguồn điện thiết bị trên trang 79](#) để biết thêm thông tin về việc tắt nguồn thiết bị rồi khởi động lại.



Bảo quản lại vật tư tiêu hao

Làm theo các hướng dẫn sau để bảo quản hộp và tế bào dòng chảy đã rã đông trong trường hợp có lỗi thiết bị trong quá trình kiểm tra trước khi chạy thiết bị, trước bước kiểm tra chất lỏng.

1. Tách riêng tế bào dòng chảy khỏi hộp.
2. Lấy ra và loại bỏ thư viện đã pha loãng khỏi ngăn chứa (tối đa ~18 µl).

! Chuẩn bị dung dịch pha loãng mới của cùng một thư viện cho lần chạy tiếp theo để tránh nhiễm chéo mẫu với thư viện còn lại trong ngăn chứa.

3. Đặt hộp trong nơi bảo quản có nhiệt độ từ 2°C đến 8°C sao cho nhãn hướng lên trên và không khí có thể lưu thông ở tất cả các phía.
Không được để quá 72 giờ. Nếu hộp đã được rã đông trong tủ lạnh trong 12 giờ qua đêm, không được để quá 60 giờ.
4. Đưa tế bào dòng chảy cùng chất hút ẩm trở lại túi nhôm màu bạc ban đầu.
5. Dán băng dính kín túi nhôm và để ở nơi bảo quản có nhiệt độ từ 2°C đến 8°C.
Không được để quá 72 giờ.

Hủy lần chạy

1. Chọn **End Run** (Kết thúc lần chạy).
2. Để tự động tháo rửa hộp thuốc thử, hãy chọn hộp kiểm **Purge Reagent Cartridge** (Tháo rửa hộp thuốc thử).
Lựa chọn mặc định được định cấu hình trong phần cài đặt của Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000.
3. Chọn **Yes, end the sequencing run** (Có, kết thúc lần chạy giải trình tự).
Hủy lần chạy là bước cuối cùng. Phần mềm không thể tiếp tục lần chạy và không thể tái sử dụng vật tư tiêu hao sau phần kiểm tra thiết bị trong các lần kiểm tra trước khi chạy.
4. Chọn **Eject Cartridge** (Tháo hộp) để mở vành chặn và đẩy khay ra.
5. Lấy hộp ra khỏi khay.
6. Bảo quản hoặc thải bỏ hộp tùy theo thời điểm diễn ra quá trình hủy:

Trường hợp	Cách xử lý
Bạn đã hủy trước khi hoặc trong khi kiểm tra trước lần chạy trên thiết bị và muốn sử dụng lại vật tư tiêu hao.	Xem mục Bảo quản lại vật tư tiêu hao trên trang 78 .
Tất cả các trường hợp khác.	Xem mục Tháo vật tư tiêu hao trên trang 50 .

7. Chọn **Close Door** (Đóng cửa) để nạp lại khay và trở về màn hình Home (Chính).
Cảm biến xác nhận việc tháo hộp.

Thực hiện lại lần chạy

Nếu có lỗi hiển thị cho Status of Secondary Analysis (Trạng thái của quá trình phân tích phụ) trong Process Management (Quản lý quy trình), bạn có thể thực hiện lại lần chạy để thực hiện lại phân tích DRAGEN trên thiết bị trên các tệp cBCL đã tạo. Nếu bạn muốn sử dụng chức năng thực hiện lại, thư mục lần chạy ban đầu vẫn phải hiện diện trên thiết bị. Việc sử dụng chức năng thực hiện lại này sẽ không thực hiện lại các lần chạy trong BaseSpace Sequence Hub. Để thực hiện lại trong BaseSpace Sequence Hub, hãy xem phần Fix Sample Sheet (Sửa bảng thông tin mẫu) trong Trung tâm trợ giúp BaseSpace Sequence Hub.

1. Cập nhật bảng thông tin mẫu v2, sau đó lưu bảng thông tin mẫu vào ổ đĩa mạng di động hoặc được gắn kết.
2. Nếu bạn đã lưu bảng thông tin mẫu vào ổ đĩa di động, hãy cắm ổ vào cổng USB 3.0 nằm ở cả hai bên và phía sau của thiết bị. Nhẹ nhàng di chuyển thiết bị khi cần để tiếp cận mặt sau.
3. Chọn menu phần mềm điều khiển, rồi chọn **Process Management** (Quản lý quy trình).
4. Bạn cần kiểm tra để chắc chắn rằng quá trình chạy giải trình tự hoặc phân tích phụ trên thiết bị hiện không diễn ra.
5. Chọn **Queue** (Thực hiện lại) bên cạnh lần chạy đã hoàn tất để thực hiện lại.
6. Chọn **Choose** (Chọn) để chuyển đến bảng thông tin mẫu đã cập nhật, sau đó chọn **Open** (Mở).
7. Chọn **Start Queue** (Bắt đầu thực hiện lại).

Đóng – mở nguồn điện thiết bị

Quá trình đóng – mở nguồn điện thiết bị thực hiện tắt và khởi động lại hệ thống một cách an toàn nhằm khôi phục kết nối bị mất, so khớp thông số kỹ thuật hoặc giải quyết sự cố khởi tạo. Thông báo trong phần mềm cho biết khi nào cần đóng – mở nguồn để giải quyết lỗi hoặc cảnh báo.

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **Shut Down Instrument** (Tắt thiết bị).
2. Nếu hệ thống không tắt, hãy giữ nút nguồn ở phía bên phải của thiết bị cho đến khi đèn mờ dần.
3. Khi nút nguồn sáng nhấp nháy, nhấn đầu tắt nguồn (O) trên công tắc bật/tắt ở mặt sau của thiết bị. Nút nguồn có thể vẫn sáng nhấp nháy sau khi tắt nguồn.

Hình 8 Vị trí công tắc bật/tắt



4. Chờ 30 giây.
5. Nhấn đầu bật nguồn (I) trên công tắc bật/tắt.
6. Khi nút nguồn sáng nhấp nháy, hãy đợi 30 giây rồi nhấn vào đó.

Hình 9 Vị trí nút nguồn



7. Đợi khoảng 5 phút để hệ điều hành tải. Khi hệ điều hành đã tải xong, hãy đăng nhập vào hệ thống. Phần mềm điều khiển khởi chạy và khởi chạy hệ thống. Đợi khoảng 5 phút để hệ thống khởi chạy. Màn hình Home (Chính) xuất hiện khi quá trình khởi chạy hoàn tất.

Thực hiện kiểm tra hệ thống

Không cần kiểm tra hệ thống nếu hệ thống vận hành bình thường hoặc khi bảo dưỡng thiết bị. Tuy nhiên, đại diện Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina có thể yêu cầu bạn kiểm tra hệ thống cho các mục đích khắc phục sự cố.

Bạn sẽ mất khoảng 58 phút cho bốn lần kiểm tra hệ thống phụ để khắc phục các lỗi kiểm tra trước khi chạy và các vấn đề khác. Các lần kiểm tra này giúp xác nhận liệu các thành phần có được so khớp và hoạt động đúng cách hay không.

Kết quả kiểm tra được xuất ra thư mục `system-check` nằm trong `/usr/local/illumina/system-check`.

Bạn cần tháo hộp trước khi chạy kiểm tra hệ thống.

Chạy kiểm tra hệ thống

1. Từ menu phần mềm điều khiển, chọn **System Checks** (Kiểm tra hệ thống).
2. Chọn hộp kiểm tương ứng với bất kỳ quá trình kiểm tra hệ thống nào mà bạn muốn thực hiện sau đây.
 - **Network Connectivity** (Kết nối mạng) — Kiểm tra trạng thái và hiệu suất kết nối mạng của bạn.
 - **Enclosure** (Vỏ) — Kiểm tra hiệu suất của hệ thống nhiệt và cơ cấu nâng vành chắn.
 - **Motion** (Chuyển động) — Kiểm tra giới hạn di chuyển và hiệu suất của giai đoạn Z và giai đoạn XY.
 - **Optics** (Quang học) — Kiểm tra hiệu suất của mô-đun tạo ảnh.
3. Chọn **Start** (Bắt đầu).

Khôi phục về cài đặt gốc

Khôi phục hệ thống về chế độ mặc định của nhà máy để hạ cấp phần mềm hoặc khôi phục từ cấu hình không mong muốn. Chỉ đại diện của Illumina mới được sử dụng tính năng này.

Chụp hình ảnh đã cài đặt

Chụp hình ảnh hệ thống để sao lưu việc cài đặt phần mềm hoạt động thành công. Sau này, bạn có thể khôi phục hình ảnh hệ thống này. Bạn nên chụp hình ảnh hệ thống ngay sau khi hoàn tất cài đặt ban đầu và thay đổi mật khẩu cùng với đại diện của Illumina.

1. Khởi động lại Linux.
2. Khi được nhắc chọn hệ điều hành, hãy chọn **Capture Installed Image** (Chụp hình ảnh đã cài đặt). Các tùy chọn hệ điều hành hiển thị trong một thời gian ngắn trước khi màn hình tự động chuyển sang NextSeq 1000/2000 Control Software (Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000).



Vì chỉ có một hình ảnh được lưu giữ trong bộ nhớ, nên hình ảnh này sẽ ghi đè lên hình ảnh đã chụp trước đó.

3. Hãy đợi khoảng 30 phút để hệ thống chụp hình ảnh hiện đã cài đặt. Việc chụp ảnh có thể làm hệ thống khởi động lại một vài lần. Khi hoàn tất, hệ thống sẽ khởi động lại với hình ảnh hiện đã cài đặt được lưu trong bộ nhớ.

Khôi phục hình ảnh đã chụp

Khôi phục hệ thống về hình ảnh đã chụp trước đó để khôi phục từ cấu hình không mong muốn.

1. Khởi động lại Linux.
2. Khi được nhắc chọn hệ điều hành, hãy chọn **Restore Installed Image** (Khôi phục hình ảnh đã cài đặt).

Các tùy chọn hệ điều hành hiển thị trong một thời gian ngắn trước khi màn hình tự động chuyển sang NextSeq 1000/2000 Control Software (Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000).

- i** | Mật khẩu gắn với hình ảnh hệ thống. Sau khi khôi phục, sử dụng mật khẩu của hình ảnh đã khôi phục để đăng nhập vào hệ thống.
3. Đợi khoảng 30 phút cho tới khi quá trình khôi phục hoàn tất.
Việc khôi phục có thể làm hệ thống khởi động lại một vài lần. Khi hoàn tất, hệ thống sẽ khởi động lại với hình ảnh đã khôi phục.

Tài nguyên và tham chiếu

Cài đặt bảng thông tin mẫu v2

Nếu áp dụng chế độ Cục bộ, bạn có thể sử dụng định dạng tệp bảng thông tin mẫu v2 để định cấu hình cài đặt lần chạy. Tạo bảng thông tin mẫu trong mục Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị) hoặc bằng cách chỉnh sửa *Mẫu bảng thông tin mẫu v2 của Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000*. Khi chỉnh sửa bảng thông tin mẫu, hãy đảm bảo rằng các mục và trường sau đây được đưa vào theo thứ tự liệt kê và đáp ứng các yêu cầu. Sau khi chỉnh sửa, hãy sử dụng ổ đĩa mạng di động hoặc được gắn kết để chuyển bảng thông tin mẫu sang Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000. Khi bạn chuyển đến bảng thông tin mẫu trong phần mềm điều khiển, bảng thông tin mẫu này sẽ được sao chép vào thư mục trước khi chạy trên thiết bị để bạn có thể gỡ ổ đĩa di động.

Các cài đặt bảng thông tin mẫu v2 cần đáp ứng các yêu cầu sau:

- Các trình tự chỉ thị được chỉ định trong phần bảng thông tin mẫu BCLConvert_Data phải khớp với bộ kit chỉ thị được chọn trong NextSeq 1000/2000.
- Nếu sử dụng Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.2, phiên bản DRAGEN được chỉ định trong bảng thông tin mẫu phải được cài đặt và hoạt động trên hệ thống. Để biết thông tin về cách cài đặt, hãy xem mục [Cập nhật phần mềm trên trang 71](#).
- Nếu sử dụng Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3, phiên bản DRAGEN được chỉ định trong bảng thông tin mẫu phải được cài đặt trên hệ thống. Phần mềm điều khiển tự động phát hiện phiên bản DRAGEN từ bảng thông tin mẫu và nhắc bạn chuyển đổi phiên bản đang hoạt động nếu cần. Để biết thông tin về cách cài đặt, hãy xem mục [Cập nhật phần mềm trên trang 71](#).

Nếu đang sử dụng DRAGEN, bạn sẽ phải định cấu hình các cài đặt bổ sung. Để biết thêm thông tin, hãy xem mục [Cài đặt bảng thông tin mẫu DRAGEN trên trang 87](#)

Tải xuống mẫu bảng thông tin mẫu v2 từ Tệp sản phẩm trên trang hỗ trợ Hệ thống giải trình tự NextSeq 1000 và NextSeq 2000. Nếu bạn đã tạo bảng thông tin mẫu bằng Instrument Run Setup (Thiết lập lần chạy trên thiết bị), quá trình phân tích có thể không thành công nếu thay đổi bảng thông tin mẫu sau khi tải xuống lần đầu.

Tên tệp không được chứa các ký tự đặc biệt.

Yêu cầu về [Header]

Mục [Header] bao gồm thông tin tổng thể về lần chạy. Sau đây là các trường [Header] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
FileFormatVersion	Có	Phiên bản bảng thông tin mẫu. Nhập 2 cho giá trị.
RunName	Không	Tên lần chạy duy nhất theo ý thích. RunName có thể chứa các ký tự chữ và số, dấu gạch dưới, dấu gạch ngang và dấu chấm. Nếu RunName chứa khoảng trắng hoặc ký tự đặc biệt, quá trình phân tích sẽ không thành công.
RunDescription	Không	Mô tả về lần chạy.
InstrumentPlatform	Không	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	Không	NextSeq 1000/2000

Yêu cầu về [Reads]

Mục [Reads] mô tả số chu kỳ giải trình tự được sử dụng cho đoạn đọc hệ gen và chỉ thị 1 và 2. Sau đây là các trường [Reads] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Read1Cycles	Có	Số chu kỳ trong đoạn đọc đầu tiên. Giá trị phải là một số nguyên lớn hơn 0.
Read2Cycles	Không	Số chu kỳ trong đoạn đọc thứ hai.
Index1Cycles	Không	Số chu kỳ trong đoạn đọc chỉ thị đầu tiên. Bắt buộc khi giải trình tự nhiều hơn một mẫu. Mức tối đa là 10 chu kỳ.
Index2Cycles	Không	Số chu kỳ trong đoạn đọc chỉ thị thứ hai. Mức tối đa là 10 chu kỳ.

Yêu cầu về [Sequencing_Settings]

Sử dụng mục [Sequencing_Settings] để chỉ định bộ kit chuẩn bị thư viện bạn sẽ sử dụng.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
LibraryPrepKits	Không	<p>Bộ kit chuẩn bị thư viện của bạn. Chỉ cho phép một bộ kit chuẩn bị thư viện.</p> <p>Trong Phần mềm điều khiển NextSeq 1000/2000 v1.3, công thức tùy chỉnh bắt buộc được chọn tự động nếu bộ kit Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus hoặc bộ kit Illumina Stranded mRNA Prep được chỉ định làm bộ kit chuẩn bị thư viện.</p> <p>Nhập một trong các giá trị sau.</p> <ul style="list-style-type: none"> Bộ kit Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus — <code>ILMNStrandedTotalRNA</code> Bộ kit Illumina Stranded mRNA Prep — <code>ILMNStrandedmRNA</code>

Yêu cầu về Chuyển đổi BCL

Các mục Chuyển đổi BCL cung cấp thông tin về cách chuyển đổi dữ liệu từ BCL sang FASTQ. Các tùy chọn chuyển đổi BCL bao gồm hai phần riêng biệt: [BCLConvert_Settings] và [BCLConvert_Data]. Các mục Chuyển đổi BCL yêu cầu thông tin về trình tự adapter chỉ thị. Để xác định trình tự adapter tương thích cho mỗi đoạn đọc và chỉ thị, hãy xem *Trình tự adapter Illumina (tài liệu số 1000000002694)*.

Sau đây là các trường [BCLConvert_Settings] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
SoftwareVersion	Có	Phiên bản phần mềm DRAGEN hiện được cài đặt trên hệ thống. Sử dụng cả ba số nguyên có trong tên phiên bản. Ví dụ: 3.5.7.
BarcodeMismatchesIndex1	Không	Số lần không khớp được phép giữa đoạn đọc chỉ thị đầu tiên và trình tự chỉ thị. Giá trị có thể là 0,1 hoặc 2. Giá trị mặc định là 1.
BarcodeMismatchesIndex2	Không	Số lần không khớp được phép giữa đoạn đọc chỉ thị thứ hai và trình tự chỉ thị. Giá trị có thể là 0,1 hoặc 2. Giá trị mặc định là 1.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
FastqCompressionFormat	Không	Để xuất tệp FASTQ dưới dạng tệp *.gz, hãy nhập <code>gzip</code> . Để lưu tệp FASTQ dưới dạng tệp *.ora và sử dụng với phần mềm DRAGEN Decompression, hãy nhập <code>dragen</code> .
AdapterRead1	Không	Trình tự cần cắt bớt hoặc che giấu từ cuối đoạn đọc 1. Trình tự adapter đoạn đọc 1 có chứa A, C, G hoặc T. AdapterRead1 cắt chu kỳ theo mặc định.
AdapterRead2	Không	Trình tự cần cắt bớt hoặc che giấu từ cuối đoạn đọc 2. Trình tự adapter đoạn đọc 2 có chứa A, C, G hoặc T. AdapterRead2 cắt chu kỳ theo mặc định.
OverrideCycles	Không	Chuỗi được sử dụng để chỉ định các chu kỳ UMI và che giấu các chu kỳ của một đoạn đọc. Các giá trị được phép: <ul style="list-style-type: none"> • N — Chỉ định các chu kỳ cần bỏ qua. • Y — Chỉ định các chu kỳ giải trình tự. • I — Chỉ định các chu kỳ chỉ thị. • U — Chỉ định các chu kỳ UMI cần cắt bớt. Mỗi thành phần được phân tách bằng dấu chấm phẩy. Sau đây là các ví dụ về dữ liệu đầu vào cho cài đặt OverrideCycles. U8Y143;I8;I8;U8Y143 N10Y66;I6;N10Y66

Sau đây là các trường [BCLConvert_Data] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Sample_ID (ID_mẫu)	Có	ID của mẫu. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số, dấu gạch nối và dấu gạch dưới. ID phân biệt chữ hoa và chữ thường. Phân tách từng mã định danh bằng dấu gạch ngang hoặc dấu gạch dưới. Ví dụ: Sample1-DQB1-022515.
Index (Chỉ thị)	Không	Trình tự chỉ thị liên quan đến mẫu. Chỉ cho phép A, C, T, G. Bắt buộc khi giải trình tự nhiều hơn một mẫu.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Index2 (Chỉ thị 2)	Không	Trình tự chỉ thị thứ hai liên quan đến mẫu. Chỉ cho phép A, C, T, G. Đảm bảo rằng trình tự adapter chỉ thị thứ hai (i5) theo hướng xuôi. DRAGEN tự động bổ sung đảo ngược các chỉ thị i5 trong quá trình phân tích phụ.
Lane (Làn)	Không	Làn của tế bào dòng chảy Làn được biểu thị bằng một giá trị số nguyên.

Cài đặt bảng thông tin mẫu DRAGEN

Mục này mô tả các yêu cầu về bảng thông tin mẫu cho mỗi luồng DRAGEN. Thêm cài đặt luồng DRAGEN làm phần cuối trong bảng thông tin mẫu. Bạn chỉ có thể sử dụng một luồng DRAGEN.

Mỗi luồng DRAGEN bao gồm các phần riêng biệt về cài đặt và dữ liệu.

Các yêu cầu về luồng DRAGEN Germline.

Sau đây là các trường [DragenGermline_Settings] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
SoftwareVersion	Có	Phiên bản phần mềm DRAGEN hiện được cài đặt trên hệ thống. Sử dụng cả ba số nguyên có trong tên phiên bản. Ví dụ: 3.5.7. Phiên bản phần mềm phải khớp với phiên bản được chỉ định trong mục BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Có	Tên hệ gen tham chiếu. Ví dụ: hg19_alt_aware. Sử dụng tên của hệ gen tham chiếu tại <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Để sử dụng hệ gen tham chiếu tùy chỉnh, hãy xem <i>Trợ giúp trực tuyến về ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
MapAlignOutFormat	Không	Cách định dạng của tệp đầu ra. Các giá trị được phép là bam hoặc cram. Nếu không có giá trị nào được chỉ định, giá trị mặc định là không có.
KeepFastq	Không	Để lưu các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>true</code> (đúng). Để xóa các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>false</code> (sai).

Sau đây là các trường [DragenGermline_Data] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Sample_ID (ID_mẫu)	Có	ID của mẫu. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số. ID phân biệt chữ hoa và chữ thường. Phân tách từng mã định danh bằng dấu gạch ngang. Ví dụ: Sample1-DQB1-022515. ID mẫu phải khớp với ID được chỉ định trong mục BCLConvert_Data.

Các yêu cầu về luồng DRAGEN RNA.

Sau đây là các trường [DragenRNA_Settings] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
SoftwareVersion	Có	Phiên bản phần mềm DRAGEN hiện được cài đặt trên hệ thống. Sử dụng cả ba số nguyên có trong tên phiên bản. Ví dụ: 3.5.7. Phiên bản phần mềm phải khớp với phiên bản được chỉ định trong mục BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Có	Tên hệ gen tham chiếu. Ví dụ: hg38_noalt_with_decoy. Sử dụng tên của hệ gen tham chiếu tại /usr/local/illumina/genomes. Để sử dụng hệ gen tham chiếu tùy chỉnh, hãy xem <i>Trợ giúp trực tuyến về ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
RnaGeneAnnotationFile	Không	Tệp chứa chú giải gen RNA. Chỉ cho phép ký tự chữ và số. Nếu không được cung cấp, tệp chú giải mặc định có trong hệ gen tham chiếu được chỉ định sẽ được sử dụng.
MapAlignOutFormat	Không	Cách định dạng của tệp đầu ra. Các giá trị được phép là bam hoặc cram. Nếu không có giá trị nào được chỉ định, giá trị mặc định là không có.
KeepFastq	Không	Để lưu các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>true</code> (đúng). Để xóa các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>false</code> (sai).
DifferentialExpressionEnable	Không	Để bật biểu hiện gen khác biệt, hãy nhập <code>true</code> (đúng). Nhập <code>false</code> (sai) để loại trừ biểu hiện gen khác biệt khỏi quá trình phân tích.

Sau đây là các trường [DragenRna_Data] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Sample_ID (ID_mẫu)	Có	ID của mẫu. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số. ID phân biệt chữ hoa và chữ thường. Phân tách từng mã định danh bằng dấu gạch ngang. Ví dụ: Sample1-DQB1-022515. ID mẫu phải khớp với ID được chỉ định trong mục BCLConvert_Data.
Comparison<N>	Không	Giá trị đối chứng hoặc so sánh cho mỗi mẫu. Nếu không có giá trị đối chứng hoặc so sánh cho mẫu thì mẫu đó được chỉ định là <code>na</code> (không áp dụng). Tất cả các mẫu được đánh dấu là mẫu chứng sẽ được so sánh với tất cả các mẫu được đánh dấu là mẫu so sánh. Giá trị <code>N</code> phản ánh nhóm so sánh của các mẫu.

Các yêu cầu về luồng DRAGEN Enrichment.

Sau đây là các trường [DragenEnrichment_Settings] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
SoftwareVersion	Có	Phiên bản phần mềm DRAGEN hiện được cài đặt trên hệ thống. Sử dụng cả ba số nguyên có trong tên phiên bản. Ví dụ: 3.5.7. Phiên bản phần mềm phải khớp với phiên bản được chỉ định trong mục BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Có	Tên hệ gen tham chiếu. Ví dụ: hg38_alt_aware. Hệ gen tham chiếu có tại <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Để sử dụng hệ gen tham chiếu tùy chỉnh, hãy xem <i>Trợ giúp trực tuyến về ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
BedFile	Có	Tệp bed chứa các vùng cần nhắm mục tiêu.
GermlineOrSomatic	Có	Để thực hiện phân tích dòng mầm làm giàu, hãy nhập <code>germline</code> (dòng mầm). Để thực hiện phân tích sinh dưỡng làm giàu, hãy nhập <code>somatic</code> (sinh dưỡng).

Trường	Bắt buộc	Mô tả
KeepFastq	Không	Để lưu các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>true</code> (đúng). Để xóa các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>false</code> (sai).
MapAlignOutFormat	Không	Cách định dạng của tệp đầu ra. Các giá trị được phép là <code>bam</code> hoặc <code>cram</code> . Nếu không có giá trị nào được chỉ định, giá trị mặc định là không có.
AuxNoiseBaselineFile	Không	Tên của tệp ngưỡng nhiễu. Bạn có thể sử dụng định dạng tệp <code>*.txt</code> hoặc <code>*.gz</code> . Bạn chỉ có thể dùng các tệp ngưỡng nhiễu khi sử dụng chế độ sinh dưỡng. Xem mục Nhập tệp ngưỡng nhiễu trên trang 17 để biết thêm thông tin.

Sau đây là các trường [DragenEnrichment_Data] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Sample_ID (ID_mẫu)	Có	ID của mẫu. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số. ID phân biệt chữ hoa và chữ thường. Phân tách từng mã định danh bằng dấu gạch ngang. Ví dụ: <code>Sample1-DQB1-022515</code> . ID mẫu phải khớp với ID được chỉ định trong mục <code>BCLConvert_Data</code> .

Các yêu cầu về luồng DRAGEN DNA Amplicon.

Sau đây là các trường [DragenAmplicon_Settings] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
SoftwareVersion	Có	Phiên bản phần mềm DRAGEN hiện được cài đặt trên hệ thống. Sử dụng cả ba số nguyên có trong tên phiên bản. Ví dụ: <code>3.5.7</code> . Phiên bản phần mềm phải khớp với phiên bản được chỉ định trong mục <code>BCLConvert_Settings</code> .

Trường	Bắt buộc	Mô tả
ReferenceGenomeDir	Có	Tên hệ gen tham chiếu. Ví dụ: hg38_alt_aware. Hệ gen tham chiếu có tại <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Để sử dụng hệ gen tham chiếu tùy chỉnh, hãy xem <i>Trợ giúp trực tuyến về ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
DnaBedFile	Có	Tệp bed chứa các vùng cần nhắm mục tiêu. Bạn có thể nhập tệp bed ở định dạng tệp *.txt hoặc *.gz.
DnaGermlineOrSomatic	Có	Để thực hiện phân tích dòng mầm DNA Amplicon, hãy nhập <code>germline</code> (dòng mầm). Để thực hiện phân tích sinh dưỡng DNA Amplicon, hãy nhập <code>somatic</code> (sinh dưỡng).
KeepFastq	Không	Để lưu các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>true</code> (đúng). Để xóa các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>false</code> (sai).
MapAlignOutFormat	Không	Cách định dạng của tệp đầu ra. Các giá trị được phép là <code>bam</code> hoặc <code>cram</code> . Nếu không có giá trị nào được chỉ định, giá trị mặc định là không có.

Sau đây là các trường [DragenAmplicon_Data] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Sample_ID (ID_mẫu)	Có	ID của mẫu. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số. ID phân biệt chữ hoa và chữ thường. Phân tách từng mã định danh bằng dấu gạch ngang. Ví dụ: Sample1-DQB1-022515. ID mẫu phải khớp với ID được chỉ định trong mục BCLConvert_Data.
DnaOrRna	Có	Loại phân tích Amplicon cần thực hiện. Chỉ hỗ trợ phân tích DNA nếu dùng phiên bản DRAGEN v3.8. Nhập <code>dna</code> .

Các yêu cầu về luồng DRAGEN Single Cell RNA

Sau đây là các trường [DragenSingleCellRNA_Settings] hiện có và thông tin mô tả. Để biết thông tin về khả năng tương thích của bộ kit của bên thứ ba, hãy xem trang hỗ trợ về Khả năng tương thích sản phẩm của Nền tảng DRAGEN Bio-IT.

Bộ kit Single Cell Library 1 — 5

Các tùy chọn cài đặt bảng thông tin mẫu sau áp dụng cho bộ kit chuẩn bị thư viện có cùng cấu trúc di truyền với Bộ kit Single Cell Library 1 — 5 của DRAGEN. Tham khảo trang hỗ trợ về Khả năng tương thích sản phẩm của Nền tảng DRAGEN Bio-IT để xác nhận cấu trúc di truyền cho bộ kit của bạn.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
SoftwareVersion	Có	Phiên bản phần mềm DRAGEN hiện được cài đặt trên hệ thống. Sử dụng cả ba số nguyên có trong tên phiên bản. Ví dụ: 3.5.7. Phiên bản phần mềm phải khớp với phiên bản được chỉ định trong mục BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Có	Tên hệ gen tham chiếu. Ví dụ: hg38_alt_aware. Hệ gen tham chiếu có tại <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Để sử dụng hệ gen tham chiếu tùy chỉnh, hãy xem <i>Trợ giúp trực tuyến về ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
RnaLibraryType	Không	Nhập một trong các giá trị sau: <ul style="list-style-type: none"> SF — Cấu tạo sợi xuôi. SF là giá trị mặc định. SR — Cấu tạo sợi ngược. U — Không tách sợi.
RnaGeneAnnotationFile	Không	Tệp chứa chú giải gen RNA. Chỉ cho phép ký tự chữ và số. Nếu không được cung cấp, tệp chú giải mặc định có trong hệ gen tham chiếu được chỉ định sẽ được sử dụng.
BarcodeRead	Không	Vị trí trong lần chạy giải trình tự của đoạn đọc mã vạch, nơi chứa cả mã vạch và UMI. Giá trị có thể chứa Read1 hoặc Read2. Giá trị mặc định là Read1.
BarcodePosition	Có	Vị trí của base tương ứng với mã vạch trong giá trị được nhập cho BarcodeRead. Vị trí của base được lập chỉ thị bắt đầu từ vị trí số không. Nhập giá trị BarcodePosition theo định dạng sau: <code>0_<barcode end position></code> Ví dụ: nếu mã vạch chứa 16 base, giá trị là <code>0_15</code> .

Trường	Bắt buộc	Mô tả
UmiPosition	Có	Vị trí của base tương ứng với UMI trong giá trị được nhập cho BarcodeRead. Nhập giá trị UmiPosition theo định dạng sau: <UMI start position>_<UMI end position> Ví dụ: nếu UMI chứa 10 base và mã vạch chứa 16, giá trị là 16_25.
BarcodeSequenceWhitelist	Không	Tên của tệp chứa trình tự mã vạch cần đưa vào. Tên tệp chỉ có thể gồm các ký tự chữ và số, dấu gạch ngang, dấu gạch dưới và dấu chấm câu.
KeepFastq	Không	Để lưu các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>true</code> (đúng). Để xóa các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>false</code> (sai).
MapAlignOutFormat	Không	Cách định dạng của tệp đầu ra. Các giá trị được phép là <code>bam</code> hoặc <code>cram</code> . Nếu không có giá trị nào được chỉ định, giá trị mặc định là không có.

Sau đây là các trường [DragenSingleCellRNA_Data] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Sample_ID (ID_mẫu)	Có	ID của mẫu. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số. ID phân biệt chữ hoa và chữ thường. Phân tách từng mã định danh bằng dấu gạch ngang. Ví dụ: Sample1-DQB1-022515. ID mẫu phải khớp với ID được chỉ định trong mục BCLConvert_Data.

Bộ kit Single Cell Library 6

Các tùy chọn cài đặt bảng thông tin mẫu sau áp dụng cho bộ kit chuẩn bị thư viện có cùng cấu trúc di truyền với Bộ kit Single Cell Library 6 của DRAGEN. Tham khảo trang hỗ trợ về Khả năng tương thích sản phẩm của Nền tảng DRAGEN Bio-IT để xác nhận cấu trúc di truyền cho bộ kit của bạn.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
SoftwareVersion	Có	Phiên bản phần mềm DRAGEN hiện được cài đặt trên hệ thống. Sử dụng cả ba số nguyên có trong tên phiên bản. Ví dụ: 3.5.7. Phiên bản phần mềm phải khớp với phiên bản được chỉ định trong mục BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	Có	Tên hệ gen tham chiếu. Ví dụ: hg38_alt_aware. Hệ gen tham chiếu có tại <code>/usr/local/illumina/genomes</code> . Để sử dụng hệ gen tham chiếu tùy chỉnh, hãy xem <i>Trợ giúp trực tuyến về ứng dụng Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0</i> .
RnaLibraryType	Không	Nhập một trong các giá trị sau: <ul style="list-style-type: none"> SF — Cấu tạo sợi xuôi. SR — Cấu tạo sợi ngược. U — Không tách sợi.
RnaGeneAnnotationFile	Không	Tệp chứa chú giải gen RNA. Chỉ cho phép ký tự chữ và số. Nếu không được cung cấp, tệp chú giải mặc định có trong hệ gen tham chiếu được chỉ định sẽ được sử dụng.
BarcodeRead	Không	Vị trí trong lần chạy giải trình tự của đoạn đọc mã vạch, nơi chứa cả mã vạch và UMI. Giá trị có thể chứa <code>Read1</code> hoặc <code>Read2</code> . Giá trị mặc định là <code>Read1</code> .

Trường	Bắt buộc	Mô tả
BarcodePosition	Có	<p>Vị trí của base tương ứng với mã vạch trong giá trị được nhập cho BarcodeRead. Vị trí của base được lập chỉ thị bắt đầu từ vị trí số không. Nhập giá trị BarcodePosition theo định dạng sau:</p> <pre>0_<first barcode end position>+<second barcode start position>_<second barcode end position>+<third barcode start position>_<third barcode end position></pre> <p>Ví dụ: cấu trúc sau sẽ dẫn đến giá trị 0_8+21_29+43_51:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 9 base trong mã vạch đầu tiên (0_8). • 12 base giữa mã vạch đầu tiên và thứ hai. • 9 base trong mã vạch thứ hai (21_29). • 13 base giữa mã vạch thứ hai và thứ ba. • 9 base trong mã vạch thứ ba (43_51).
UmiPosition	Có	<p>Vị trí của base tương ứng với UMI trong BarcodeRead được chỉ định. Nhập chuỗi theo định dạng sau:</p> <pre><UMI start position>_<UMI end position></pre> <p>Ví dụ: nếu UMI chứa 8 base và số lượng base trước UMI đạt tổng cộng là 51, thì giá trị là 52_59.</p>
BarcodeSequenceWhitelist	Không	Tên của tệp chứa trình tự mã vạch cần đưa vào danh sách trắng. Tên tệp chỉ có thể gồm các ký tự chữ và số, dấu gạch ngang, dấu gạch dưới và dấu chấm câu.
KeepFastq	Không	Để lưu các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>true</code> (đúng). Để xóa các tệp đầu ra FASTQ, hãy nhập <code>false</code> (sai).
MapAlignOutFormat	Không	Cách định dạng của tệp đầu ra. Các giá trị được phép là <code>bam</code> hoặc <code>cram</code> . Nếu không có giá trị nào được chỉ định, giá trị mặc định là không có.

Sau đây là các trường [DragenSingleCellRNA_Data] hiện có và thông tin mô tả.

Trường	Bắt buộc	Mô tả
Sample_ID (ID_mẫu)	Có	ID của mẫu. ID mẫu có thể chứa tối đa 20 ký tự chữ và số. ID phân biệt chữ hoa và chữ thường. Phân tách từng mã định danh bằng dấu gạch ngang. Ví dụ: Sample1-DQB1-022515. ID mẫu phải khớp với ID được chỉ định trong mục BCLConvert_Data.

Giải trình tự theo chu kỳ tối

Mục này hướng dẫn cách sử dụng phương pháp giải trình tự theo chu kỳ tối trong công thức.

Phương pháp giải trình tự theo chu kỳ tối chỉ được sử dụng để hoàn thành các bước hóa học của một chu kỳ giải trình tự. Xem trang [Compatible Products](#) (Sản phẩm tương thích) để biết thông tin về bộ kit chuẩn bị thư viện của bạn trên [Trang web hỗ trợ của Illumina](#) và xem liệu có cần giải trình tự theo chu kỳ tối hay không.

Làm theo các bước sau để giải trình tự theo chu kỳ tối.

Chỉnh sửa tệp công thức

- Tải tệp công thức XML xuống từ [Trang web hỗ trợ của Illumina](#).
- Chỉnh sửa tệp công thức XML.
 - Xác định phần quy trình thích hợp dựa trên cấu hình giải trình tự đoạn đọc và chỉ thị. Bạn có thể chỉnh sửa sáu quy trình khả thi khác nhau cho mỗi công thức tùy chỉnh.
Ví dụ: quy trình cho một Đoạn đọc 1 đơn lẻ không có cấu hình giải trình tự chỉ thị sẽ là `<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >`.
 - Trước `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` và `<ReadRef ReadName="Read 2"/>`, nhập bước chu kỳ tối sau trên một dòng mới.
`<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />`.
 - Nhập bước chu kỳ tối trên một dòng mới cho mỗi chu kỳ tối cần thiết.
- Lưu tệp công thức XML.

Sau đây là công thức mẫu với chu kỳ tối:

```
<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" />
```

Đính kèm công thức vào lần chạy

- 1 Ở mục Run Setup (Thiết lập lần chạy) trong phần mềm điều khiển, hãy chọn **Choose** (Chọn) trong Custom Recipe (Công thức tùy chỉnh).
- 2 Chuyển đến tệp công thức XML đã cập nhật.
- 3 Chọn **Open** (Mở).
- 4 Quay lại [Khởi tạo một lần chạy giải trình tự trên trang 44](#) (Khởi tạo lần chạy giải trình tự).

Chỉ mục

%

%PF 56

B

bàn phím 4

bảng chất lượng 57

bảo hành 27

BaseSpace Sequence Hub 1

 cài đặt 13

 tài liệu hướng dẫn 13

bcl2fastq2 52

biến tính 8

biệt danh 20

biểu tượng 6

bộ cài đặt Bộ phần mềm hệ thống 71

bộ kit 26

 số danh mục 27

bộ kit thử nghiệm 27

bộ lọc đi qua (PF) 56

bộ lọc không khí

 vật tư dự phòng 27

 vị trí 75

bộ lọc tinh khiết 56

bộ phần mềm 1, 5

C

các cảnh báo 71

các công thức 71

các cụm lọc 56

các ổ được ánh xạ 47

các trang hỗ trợ 71

cài đặt âm 20

cài đặt âm thanh 20

cài đặt phần mềm 71

cảnh báo 6, 79

cáp Ethernet 4

cập nhật phần mềm thủ công 71

cập nhật tự động 71

CE 52

Compute Engine 52

cổng Ethernet 4

công tắc bật/tắt 4, 79

cổng USB 4

cửa

 đóng 49

cường độ cụm 54

Chất kiểm chuẩn PhiX v3 26

chất lượng dữ liệu 56

chế độ mặc định của nhà máy 81

chỉ thị

 chu kỳ 30

chỉnh sửa thông số lần chạy 47

chu kỳ đọc 30

chu kỳ tăng cường 30

chuột 4

chuyển đổi FASTQ 52

D

dải 53

dây nguồn 4

di chuyển 4

Dung dịch đệm tái huyền phù 26

dung lượng đĩa 6, 71

dữ liệu về hiệu suất 13

dữ liệu về hiệu suất của thiết bị 13

Đ

đánh số bề mặt 53

đánh số ô 53

đăng ký không thành công 54

đặt tên

 tên máy tính 5

 tên thiết bị 20

địa chỉ IP 5

điểm chất lượng 56

Điểm chất lượng 57

định pha và tiền định pha 54

đoạn đọc đơn 47

độ dài đoạn đọc 30

đường dẫn UNC 47

G

gói đăng ký Doanh nghiệp 13
giá trị cường độ 54
giải trình tự hai kênh 55
giếng nano 54

H

hạ cấp phần mềm 81
hệ điều hành 80
hình ảnh 52
hình thu nhỏ 58
hỗ trợ kỹ thuật 101
hỗ trợ khách hàng 101
Hỗ trợ từ Illumina Proactive 13
hộp
 hướng nạp 49

K

kênh đỏ 55
kênh xanh lục 55
kết đôi 47
kết nối Internet 13
kiểm tra hệ thống 77
khay hứng nước ngưng
 tấm lót 27
khăn lau tấm cồng 27
khăn lau tấm thuốc tẩy 27
khoang chứa vật tư tiêu hao 2
không có phát hiện 54-55
khởi động lại 81
khởi tạo 80
 thất bại 79
khuếch đại 8

L

làn 53
lần chạy
 số liệu 52

lỗi 6, 79
 thông báo 77
 xác suất 56-57

M

màn hình 2
máy ảnh 53
mất kết nối 79
miền 13
miền riêng 13

N

nucleotide 55
nú t nguồn 2, 79
ngày hết hạn 75
nguồn điện AC
 đầu vào 4
nhật ký lỗi 52

Ô

ô 52
ổ cứng 6, 71
ổ D 71

P

pha loãng thư viện 8
phát hiện base 5
phân đoạn công thức 5
phần mềm
 cài đặt 71
 hạ cấp 81
 thông báo cập nhật 21
phân tích
 phương pháp 5, 8
phân tích cục bộ 1
phân tích dựa trên đám mây 1
phân tích hình ảnh 5
PhiX 27
so khớp 52

Q

Quản lý quy trình 71
quạt gió 75
quy mô lần chạy 71

R

RunInfo.xml 58

S

sách trắng 57
so khớp thông số kỹ thuật 79
số chu kỳ 30
số danh mục 26
số lần chạy 5
số seri 5

T

tài liệu hướng dẫn 101
tạo ảnh 52-53
tạo mẫu 54
tắt 79
tắt nguồn rồi khởi động lại 77
tấm lót 27
tên máy tính 5
tệp BCL 6
tệp bộ lọc 58
tệp CBCL 56
tệp InterOp 52, 58
tệp lọc 52
tệp nhật ký 52
tệp phát hiện base 8, 52, 58
thanh đèn báo 2
thanh trạng thái 2
thay thế cho RSB 26
theo dõi vật tư tiêu hao 1
thiết lập lần chạy
ví dụ 30
thiết lập lần đầu 75, 81
thông số kỹ thuật tủ đông 27

thông số kỹ thuật tủ lạnh 27
thông số lần chạy
chỉnh sửa 47
thuật toán Phred 57
Thuốc thử NextSeq 1000/2000 26
thư mục đầu ra 47, 71
thư mục đầu ra mặc định 47
thư mục lần chạy 71
thư viện
biến tính 8
trạng thái chạy 6
Trình quản lý lần chạy cục bộ 5
Trình xem phân tích giải trình tự 52, 54
trợ giúp, kỹ thuật 101

U

Universal Copy Service 5, 71

V

vật tư dự phòng 75
vật tư tiêu hao
quét 49
theo dõi 1
vị trí cụm 52, 58
vị trí lưu trữ 13
vị trí máy chủ 13

W

Windows
đăng nhập 80

X

xóa lần chạy 6, 71

Hỗ trợ kỹ thuật

Để được hỗ trợ kỹ thuật, liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.

Trang web: www.illumina.com
Email: techsupport@illumina.com

Các số điện thoại hỗ trợ kỹ thuật của Illumina

Khu vực	Số miễn cước	Quốc tế
Áo	+43 800 006249	+43 1 9286540
Ấn Độ	+91 8006500375	
Bỉ	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Canada	+1 800 809 4566	
Đài Loan, Trung Quốc	+886 8 06651752	
Đan Mạch	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Đức	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Hà Lan	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Hàn Quốc	+82 80 234 5300	
Hoa Kỳ	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Hồng Kông, Trung Quốc	+852 800 960 230	
Indonesia		0078036510048
Ireland	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Malaysia	+60 1800 80 6789	
Na Uy	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
New Zealand	+64 800 451 650	
Nhật Bản	+81 0800 111 5011	
Pháp	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Phần Lan	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Philippines	+63 180016510798	
Singapore	1 800 5792 745	
Tây Ban Nha	+34 800 300 143	+34 911 899 417

Khu vực	Số miễn cước	Quốc tế
Thái Lan	+66 1800 011 304	
Thụy Điển	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Thụy Sĩ	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Trung Quốc		+86 400 066 5835
Úc	+61 1800 775 688	
Việt Nam	+84 1206 5263	
Vương quốc Anh	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Ý	+39 800 985513	+39 236003759

Các bảng dữ liệu an toàn (SDS) — Có trên trang web của Illumina tại địa chỉ support.illumina.com/sds.html.

Tài liệu hướng dẫn về sản phẩm — Có thể tải xuống từ support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ngoài khu vực Bắc Mỹ)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Chỉ dùng cho mục đích nghiên cứu. Không dùng trong các quy trình chẩn đoán.

© 2021 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

illumina®