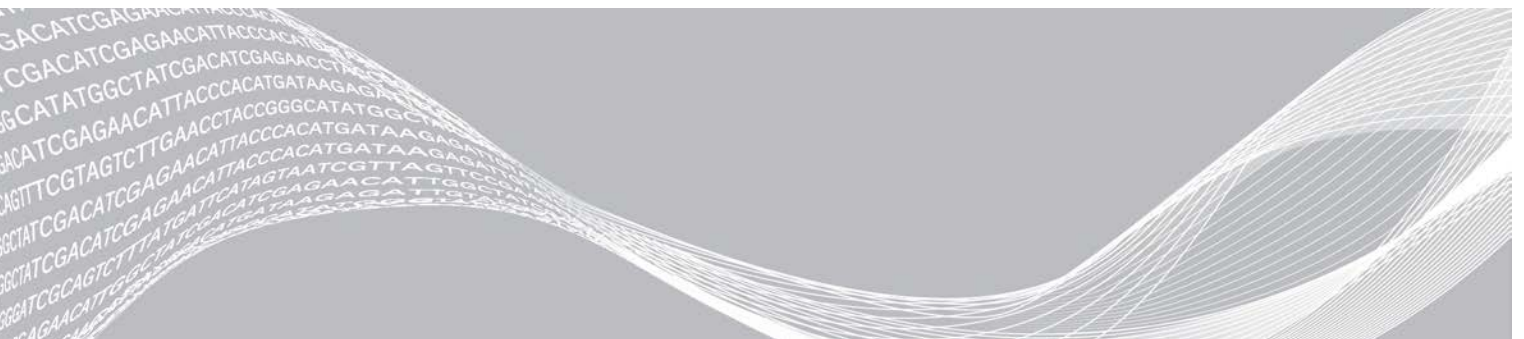


NextSeq 550

Посібник із системи



Цей документ і його зміст — власність компанії Illumina, Inc. і її філій (надалі — «Illumina»). Цей документ і його зміст призначено виключно для того, щоб клієнт застосовував їх за угодою в результаті користування виробами лише в цілях, описаних у цьому документі. Цей документ і його зміст не слід використовувати або поширювати з будь-якою іншою метою та (або) іншим чином передавати, розкривати чи відтворювати будь-яким способом без попередньої письмової згоди компанії Illumina. Цим документом компанія Illumina не надає жодного дозволу на свої права щодо патентів і товарних знаків, авторські або загальноприйняті права, а також на подібні права будь-яких третіх осіб.

Щоб гарантувати правильне та безпечне використання виробів, описаних у цьому документі, кваліфікований і належним чином навчений персонал повинен суворо й чітко дотримуватись інструкцій, наведених у цьому документі. Перед використанням таких виробів потрібно повністю прочитати й зрозуміти весь зміст цього документа.

НЕПОВНЕ ВИВЧЕННЯ ВСІХ ЗАЗНАЧЕНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ ВКАЗІВОК І ЇХ НЕЧІТКЕ ДОТРИМАННЯ МОЖУТЬ ПРИЗВОДИТИ ДО ПОШКОДЖЕННЯ ВИРОБІВ, ТРАВМУВАННЯ ЛЮДЕЙ, ЗОКРЕМА КОРИСТУВАЧІВ АБО ІНШИХ ОСІБ, І ПОШКОДЖЕННЯ ІНШОЇ ВЛАСНОСТІ, А ТАКОЖ СПРИЧИНЯЮТЬ ВТРАТУ БУДЬ-ЯКОЇ ГАРАНТІЇ, ЗАСТОСОВНОЇ ДО ВИРОБІВ.

КОМПАНІЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕ ЖОДНОЇ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ, ЩО ВИНИКАЄ ВНАСЛІДОК НЕНАЛЕЖНОГО ВИКОРИСТАННЯ ВИРОБІВ, ОПИСАНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ (ЗОКРЕМА, ЇХНІХ ЧАСТИН АБО ПРОГРАМНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ).

© Illumina, Inc., 2019. Усі права захищено.

Усі товарні знаки — власність компанії Illumina, Inc. або їхніх відповідних власників. Конкретну інформацію про товарні знаки зазначено на сторінці www.illumina.com/company/legal.html.

Історія редакцій

Документ	Дата	Опис зміни
Матеріал № 20006831. Документ № 15069765 вер. 06	Червень 2019 р.	<p>Додано інформацію про робочі групи для BaseSpace Sequence Hub під час налаштування прогону.</p> <p>Додано інформацію про UNC-шлях для папки вихідних даних.</p> <p>Додано розділ про пошук й усунення помилок мережевого сховища.</p> <p>Уточнено, що вказівки для повітряного фільтра стосуються приладів із фільтром, доступним із задньої панелі.</p> <p>Розташування файлів, які перебували в кореневій папці, оновлено до певних для прогону папок із папки вихідних даних.</p>
Матеріал № 20006831. Документ № 15069765 вер. 05	Грудень 2018 р.	<p>Оновлено опис програмного забезпечення, екрани й робочий процес для NextSeq Control Software (NCS) 4.0.</p> <p>Оновлено вказану нижче додаткову інформацію для NCS 4.0.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Додано інформацію про програмне забезпечення Local Run Manager. • Інформацію про BaseSpace оновлено до BaseSpace Sequence Hub. Вкладка BaseSpace Prep і BaseSpace Onsite більше не доступні. • Додано інструкції щодо вибору Local Run Manager або ручного режиму прогону. Ручний режим замінює автономний режим із деякими змінами. • У BaseSpace Sequence Hub додано функцію для перевірки наявності оновлень програмного забезпечення приладу. • До опису пакета програмного забезпечення System Suite додано Local Run Manager, Universal Copy Service і драйвер Direct Memory Access. Вилучено BaseSpace Broker та SAV. • Тепер Run Copy Service — служба Universal Copy Service. • Додано функцію для ввімкнення користувацьких наборів параметрів під час завантаження картриджа з реагентами. • Вилучено опис зображення проточної кювети під час моніторингу проходження прогону. • Вилучено параметр вибору запуску для режиму терміналу й Windows. • Додано MethylationEPIC вер. 1.0 як сумісний тип BeadChip. • Додано інструкції з обслуговування приладів із повітряним фільтром. • Додано нові значки для уваги, інформації та згортання NCS. • Оновлено інструкції щодо налаштування параметрів прогону й системи. • Оновлено параметр надсилання даних про продуктивність приладу. • Оновлено значки передачі даних. • Уточнено, що в режимі сканування файли, які перебувають у черзі на передачу, не мають часових обмежень. • В інформації про перевірки руху згадування BSM виправлено на «механізм Buffer Straw Mechanism». • Додано інформацію про те, що термін дії пароля Windows завершується за шість місяців. <p>Додано реагент або спектрофотометричний метанол чи ізопропіловий спирт (99 %) для обслуговування приладу.</p>

Документ	Дата	Опис зміни
Матеріал № 20006831. Документ № 15069765 вер. 04	Травень 2018 р.	Додано підтримку реагентів NextSeq вер. 2.5. Оновлено інформацію про зберігання/відвантаження для проточних кювет із наборів реагентів NextSeq вер. 2.5 за температури навколишнього середовища. Для проточних кювет NextSeq вер. 2.5 досі необхідні зазначені раніше умови зберігання. Додано інформацію про набори реагентів NextSeq вер. 2.5, які вимагають оновлення програмного забезпечення до версії 2.2. Додано примітку щодо концентрації завантаження набору із середнім вихідним потоком. Додано примітку щодо збереження проточних кювет. Додано примітку з рекомендацією використовувати для перевірки системи проточну кювету з високим вихідним потоком.
Матеріал № 20006831. Документ № 15069765 вер. 03	Березень 2018 р.	Вилучено стандартні ім'я користувача й пароль, необхідні для входу в операційну систему. Компанія Illumina рекомендує використовувати облікові дані для конкретного робочого місця. У розділі «Вибір налаштування BaseSpace» додано інформацію щодо служби моніторингу Illumina Proactive. Згадування програмного забезпечення RTA вер. 2 оновлено до RTA2.
Матеріал № 20006831. Документ № 15069765 вер. 02	Березень 2016 р.	Додано розділ під назвою «Рекомендації щодо індексації». Вилучено етапи для перевірки проточної кювети. Зазначено обсяг і концентрацію завантаження на етапі завантаження бібліотек у картридж із реагентами.
Матеріал № 20001843. Документ № 15069765 вер. 01	Жовтень 2015 р.	Зазначено, що еквівалент рекомендованого постачальника NaOCl — еквівалент лабораторного рівня. Додано рекомендацію стосовно щорічного профілактичного обслуговування. Реорганізовано інформацію в розділах «Огляд» і «Початок роботи». Додано інструкції з налаштування параметрів системи. З розділу про пошук й усунення неполадок вилучено інструкції щодо Live Help. Цю функцію було вилучено з керівного програмного забезпечення.
Частина № 15069765 ред. В	Травень 2015 р.	Виправлено опис виділених резервуарів на картриджі з реагентами.
Частина № 15069765 ред. А	Травень 2015 р.	Початкова редакція.

Зміст

Розділ 1. Огляд	1
Вступ	1
Додаткові ресурси	2
NextSeq 550Dx у режимі RUO	2
Компоненти приладу	3
Огляд витратних матеріалів для секвенування	7
Розділ 2. Початок роботи	11
Запуск приладу	11
Налаштування параметрів системи	12
Налаштування параметрів прогону	13
Витратні матеріали й обладнання, що замовляє користувач	14
Розділ 3. Секвенування	16
Вступ	16
Створення прогону за допомогою програмного забезпечення Local Run Manager	17
Створення прогону за допомогою NCS	17
Підготовка картриджа з реагентами	17
Підготовка проточної кювети	18
Підготовка бібліотек для секвенування	19
Налаштування прогону секвенування	20
Відстеження виконання прогону	27
Автоматичне промивання після прогону	28
Розділ 4. Сканування	30
Вступ	30
Завантаження папки DMAP	31
Завантаження BeadChip на адаптер	31
Налаштування сканування	32
Відстеження проходження сканування	35
Розділ 5. Технічне обслуговування	36
Вступ	36
Виконання ручного промивання	36
Заміна повітряного фільтра	39
Оновлення програмного забезпечення	40
Завершення роботи приладу	42
Додаток А. Пошук і виправлення несправностей	43
Вступ	43
Файли для пошуку й усунення несправностей	43
Усунення помилок автоматичної перевірки	45
Контейнер для відпрацьованих реагентів переповнено	47

Процес повторної гібридизації	48
Помилки BeadChip і сканування	50
Користувацькі набори параметрів і папки з наборами параметрів	51
Перевірка системи	52
Повідомлення про помилку RAID	54
Помилка мережевого сховища	54
Налаштування параметрів системи	55
Додаток В. Real-Time Analysis	58
Огляд Real-Time Analysis	58
Робочий процес Real-Time Analysis	59
Додаток С. Файли й папки з вихідними даними	63
Файли з вихідними даними секвенування	63
Структура папки вихідних даних секвенування	67
Файли вихідних даних сканування	68
Структура папки вихідних даних сканування	68
Додаток D. Рекомендації щодо режиму дослідження NextSeq 550Dx	69
Вступ	69
Сумісність витратних матеріалів NextSeq 550Dx	69
Запуск приладу NextSeq 550Dx	70
Індикатори режиму приладу NextSeq 550Dx	71
Параметри перезавантаження й завершення роботи NextSeq 550Dx	71
Показчик	73
Технічна допомога	77

Розділ 1. Огляд

Вступ	1
Додаткові ресурси	2
NextSeq 550Dx у режимі RUO	2
Компоненти приладу	3
Огляд витратних матеріалів для секвенування	7

Вступ

Система Illumina® NextSeq™ 550 — це єдине рішення, що забезпечує плавний перехід між секвенуванням із високою пропускнуою здатністю й скануванням масивів.

Особливості секвенування

- ▶ **Секвенування з високою пропускнуою здатністю** — система NextSeq 550 забезпечує секвенування екзомів, цілих геномів і транскриптомів, а також підтримує бібліотеки TruSeq™, TruSight™ і Nextera™.
- ▶ **Типи проточної кювети** — проточні кювети доступні в конфігураціях для роботи з високим і середнім вихідним потоком. Проточна кювета кожного типу комплектується сумісним попередньо заповненим картриджем із реагентами.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** — інтегроване програмне забезпечення аналізу аналізує дані на приладі, зокрема аналізує зображення та розпізнає азотисті основи. У NextSeq використовується реалізація RTA під назвою RTA вер. 2, яка містить важливі відмінності в архітектурі та функціях. Додаткову інформацію див. в розділі *Real-Time Analysis на стор. 58*.
- ▶ **Аналіз у хмарі за допомогою BaseSpace™ Sequence Hub** — процес секвенування інтегровано з BaseSpace Sequence Hub, хмарним середовищем розрахунків геноміки Illumina для моніторингу прогонів, аналізу даних, зберігання та співробітництва. Під час виконання прогону файли вихідних даних передаються потоком у реальному часі до BaseSpace Sequence Hub для аналізу.
- ▶ **Аналіз, що проводиться на приладі,** — програмне забезпечення Local Run Manager аналізує дані прогону відповідно до модуля аналізу, зазначеного для цього прогону.

Особливості сканування масиву

- ▶ **Інтегроване сканування масивів у керівному програмному забезпеченні** — NextSeq 550 дає змогу переключатися між скануванням масивів і секвенуванням із високою пропускнуою здатністю на одному приладі й в одному керівному програмному забезпеченні.
- ▶ **Розширені можливості візуалізації** — система візуалізації в NextSeq 550 містить програмне забезпечення й модифікації платформи, які дають змогу формувати зображення з більшою площею поверхні для того, щоб для сканування BeadChip було достатньо місця.
- ▶ **Типи BeadChip** — серед сумісних типів BeadChip: CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Karyomap-12 і MethylationEPIC вер. 1.0.
- ▶ **Адаптер BeadChip** — багаторазовий адаптер BeadChip дає можливість легко завантажувати BeadChip на прилад.
- ▶ **Аналіз даних** — для аналізу даних масиву використовуйте програмне забезпечення BlueFuse® Multi.

Додаткові ресурси

Для завантаження із сайту компанії Illumina доступна наведена нижче документація.

Ресурс	Опис
<i>Посібник з підготовки робочого місця системи NextSeq (документ № 15045113)</i>	Містить опис лабораторного простору, вимоги до електрозабезпечення та рекомендації щодо навколишнього середовища.
<i>Посібник із безпеки й нормативно-правової відповідності системи NextSeq (документ № 15046564)</i>	Містить відомості про рекомендації з експлуатаційної безпеки, декларації нормативно-правової відповідності й маркування приладу.
<i>RFID-зчитувач — модель № TR-001-44, посібник користувача (документ № 15041950)</i>	Містить інформацію про RFID-зчитувач, установлений у прилад, сертифікати відповідності та рекомендації щодо безпеки.
<i>Денатурація й розведення бібліотек для системи NextSeq (документ № 15048776)</i>	Містить інструкції щодо денатурації й розведення підготовлених бібліотек для прогону секвенування й підготовки додаткового елемента керування PhiX. Цей етап застосовується до більшості типів бібліотек.
<i>Посібник з користувацьких праймерів NextSeq (документ № 15057456)</i>	Містить інформацію про використання користувацьких праймерів для секвенування замість праймерів для секвенування Illumina.
<i>Довідка з BaseSpace (help.baspace.illumina.com)</i>	Містить інформацію про використання BaseSpace™ Sequence Hub і доступних варіантів аналізу.
<i>Довідковий посібник із приладу NextSeq 550Dx (документ № 100000009513)</i>	Містить огляд компонентів і програмного забезпечення приладу, інструкції з виконання прогонів секвенування й процедури з технічного обслуговування та пошуку й усуненню несправностей приладу NextSeq 550Dx.
<i>Посібник з програмного забезпечення Local Run Manager (документ № 100000002702)</i>	Містить огляд програмного забезпечення Local Run Manager та інструкції з використання його функцій.

Щоб отримати доступ до документації, завантажень програмного забезпечення, онлайн-навчання й актуальних запитань, відвідайте [сторінку підтримки NextSeq 550](#) на вебсайті компанії Illumina.

NextSeq 550Dx у режимі RUO

Інструкції в цьому посібнику також застосовуються до приладу NextSeq 550Dx у режимі дослідження з останньою версією програмного забезпечення приладу RUO. Зведення винятків та інших рекомендацій наведено в розділі *Рекомендації щодо режиму дослідження NextSeq 550Dx на стор. 69*.

Компоненти приладу

Система NextSeq 550 містить монітор із сенсорним екраном, рядок стану й чотири відсіки.

Рисунок 1 Компоненти приладу



- A **Монітор із сенсорним екраном** дає змогу налаштовувати конфігурацію приладу та готувати його до роботи за допомогою інтерфейсу керівного програмного забезпечення.
- B **Рядок стану** показує стан приладу: обробка (синій), потрібна увага (помаранчевий), готовність до секвенування (зелений) або протягом наступних 24 годин необхідне промивання (жовтий).
- C **Відсік для буферів** містить картридж із буферами та контейнер для відпрацьованих реагентів.
- D **Відсік для реагентів** містить картридж із реагентами.
- E **Кнопка живлення** вмикає або вимикає прилад і його комп'ютер.
- F **Відсік для візуалізації** містить проточну кювету для секвенування або адаптер BeadChip для сканування.
- G **Відсік повітряного фільтра** містить повітряний фільтр для приладів із фільтром, доступним із задньої панелі.

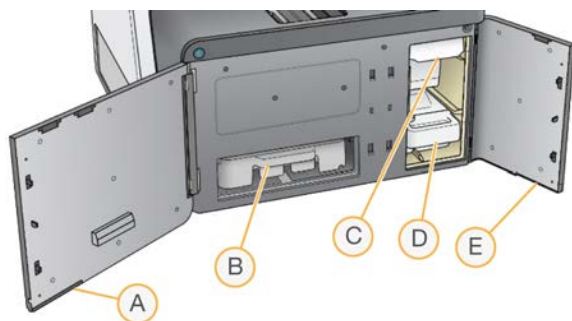
Відсік для візуалізації

Відсік для візуалізації містить платформу з трьома напрямними штифтами, які дають змогу встановити в правильному положенні проточну кювету для секвенування або адаптер BeadChip для сканування. Після завантаження проточної кювети або адаптера BeadChip дверцята відсіку для візуалізації автоматично закриваються й переміщують компоненти на місце.

Відсіки для реагентів і буферів

Щоб налаштувати прогін секвенування на NextSeq 550, потрібен доступ до відсіку реагентів і буферного відсіку для завантаження витратних матеріалів для прогону й спорожнення контейнера відпрацьованих реагентів.

Рисунок 2 Відсіки для реагентів і буферів



- A **Дверцята відсіку для реагентів** — закривають відсік для реагентів засувкою під правим нижнім кутом дверцят. Відсік для реагентів вміщує картридж із реагентами. Реагенти прокачуються через сіппери й систему струменевої логіки, а потім до проточної кювети.
- B **Картридж із реагентами** — попередньо заповнений одноразовий витратний матеріал.
- C **Картридж із буферами** — попередньо заповнений одноразовий витратний матеріал.
- D **Контейнер для відпрацьованих реагентів** — відпрацьовані реагенти збираються для утилізації після кожного прогону.
- E **Дверцята буферного відсіку** — закривають буферний відсік засувкою під лівим нижнім кутом дверцят.

Відсік повітряного фільтра

У відсіку повітряного фільтра розташовано повітряний фільтр для приладів із фільтром, доступним із задньої панелі. Заміняйте повітряний фільтр кожні 90 днів. Інформацію про заміну фільтра див. в розділі *Заміна повітряного фільтра на стор. 39*.

Програмне забезпечення NextSeq

Програмне забезпечення приладу містить інтегровані програми, які виконують прогони секвенування або сканування масиву.







- ▶ **Керівне програмне забезпечення NextSeq (NCS)** — контролює роботу приладу й допомагає виконати етапи з налаштування прогону секвенування або сканування масиву.
 - ▶ Програмне забезпечення попередньо встановлено на NextSeq. Воно працює на приладі. NCS виконує прогін відповідно до параметрів, зазначених у модулі програмного забезпечення Local Run Manager або в NCS.
 - ▶ Перш ніж почати прогін секвенування, потрібно вибрати прогін, створений за допомогою модуля програмного забезпечення Local Run Manager або в NCS. Програмний інтерфейс NCS проведе вас через етапи для завантаження проточної кювети й реагентів.
 - ▶ Під час прогону програмне забезпечення керує платформою проточної кювети, розподіляє реагенти, контролює систему струменевої логіки, установлює температури, фіксує зображення кластерів на проточній кюветі й надає візуальне зведення статистики якості. Відстежувати прогін можна в NCS або в Local Run Manager.
 - ▶ Під час прогону, який можна відстежувати в NCS або Local Run Manager, NCS виконує такі функції.
 - ▶ Керує платформою проточної кювети.
 - ▶ Дозує реагенти.
 - ▶ Контролює систему струменевої логіки.
 - ▶ Установлює температури.

- ▶ Фіксує зображення кластерів на проточній кюветі.
- ▶ Надає візуальне зведення статистики якості.
- ▶ **Програмне забезпечення Local Run Manager** — інтегроване програмне рішення для створення прогону й аналізу результатів (вторинний аналіз). Це програмне забезпечення також забезпечує відстеження зразків і може контролювати права користувачів.
- ▶ **Програмне забезпечення Real-Time Analysis (RTA)** — для прогонів секвенування RTA виконує аналіз зображення й розпізнавання азотистих основ під час прогону. У NextSeq 550 використовується програма RTA вер. 2, яка містить важливі відмінності в архітектурі й функціях порівняно з попередніми версіями. Додаткову інформацію див. в розділі *Real-Time Analysis* на стор. 58.
- ▶ **Universal Copy Service** — копіює файли вихідних даних секвенування з папки прогону до BaseSpace Sequence Hub (якщо застосовується) і папки вихідних даних, де користувач може отримати до них доступ.

Real-Time Analysis (RTA) і Universal Copy Service запускають лише фонові процеси.

Значки стану


Значок стану в правому верхньому куті екрана інтерфейсу керівного програмного забезпечення сигналізує про будь-які зміни станів під час налаштування прогону або його виконання.

Значок стану	Найменування стану	Опис
	Status OK (Стан OK)	Система функціонує нормально.
	Processing (Обробка)	Система виконує обробку.
	Warning (Застереження)	Виникло застереження. Застереження не зупиняють прогін і не вимагають вживати жодних заходів перед продовженням роботи.
	Error (Помилка)	Сталася помилка. Помилки вимагають вживати заходів перед продовженням прогону.
	Attention (Увага)	Виникло повідомлення, яке потребує уваги. Додаткову інформацію див. в повідомленні.
	Information (Інформація)	Лише інформаційне повідомлення. Жодних додаткових дій не потрібно.

Коли відбувається зміна стану, значок блимає, щоб попередити вас. Виберіть значок, щоб переглянути опис стану. Виберіть **Acknowledge** (Підтвердити), щоб прийняти повідомлення, і **Close** (Закрити), щоб закрити діалогове вікно.

Значок панелі навігації

Значок згортання NCS розташовано у верхньому правому куті інтерфейсу керівного програмного забезпечення.

Значок доступу	Назва значка	Опис
	Згортання NCS	Виберіть, щоб згорнути NCS для доступу до програм і папок ОС Windows.

Кнопка живлення

Кнопка живлення на передній панелі NextSeq умикає живлення приладу та його комп'ютера. Залежно від стану живлення приладу, кнопка живлення виконує такі дії.

Стан живлення	Дія
Прилад вимкнено	Коротко натисніть кнопку, щоб увімкнути живлення.
Прилад увімкнено	Коротко натисніть кнопку, щоб вимкнути живлення. На екрані з'явиться діалогове вікно для підтвердження нормального завершення роботи приладу.
Прилад увімкнено	Натисніть і утримуйте кнопку живлення протягом 10 секунд, щоб викликати різке завершення роботи приладу та його комп'ютера. Використовуйте цей метод, щоб вимкнути прилад, тільки якщо він не відповідає.



ПРИМІТКА

Вимкнення приладу під час прогону секвенування негайно завершує прогін. Завершення прогону остаточне. Витратні матеріали прогону не можна використовувати повторно, і дані секвенування з прогону не зберігаються.

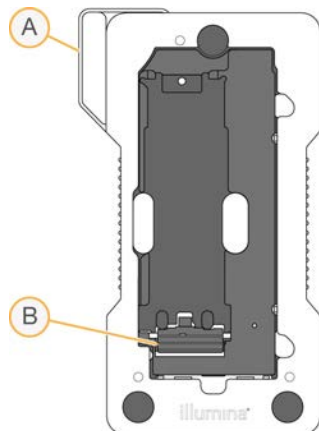
Вимоги до пароля ОС Windows

Операційна система вимагає зміни пароля Windows кожні 180 днів. У відповідь на запит оновить свій пароль Windows. Якщо для аналізу використовується Local Run Manager, також оновить пароль для облікового запису Windows у Local Run Manager. Див. розділ Specify Service Account Settings («Указання параметрів облікового запису служби») у посібнику з програмного забезпечення Local Run Manager (документ № 100000002702).

Огляд багаторазового адаптера BeadChip

Багаторазовий адаптер BeadChip утримує BeadChip під час сканування. BeadChip закріплюється на втопленій полиці адаптера за допомогою фіксувального затискача. Потім адаптер BeadChip завантажується на платформу у відсіку для візуалізації.

Рисунок 3 Багаторазовий адаптер BeadChip



- A Адаптер BeadChip
- B Фіксувальний затискач

Огляд витратних матеріалів для секвенування

Вміст і зберігання

Витратні матеріали для секвенування, потрібні для роботи NextSeq, надаються окремо в одноразовому наборі. Кожен набір містить одну проточну кювету, картридж із реагентами, картридж із буферами та буфер для розведення бібліотеки. Якщо ви отримали набір NextSeq 500/550, дотримуйтеся таких указівок.

- ▶ Не відкривайте фольгову упаковку проточної кювети, доки не отримаєте відповідну вказівку.
- ▶ Своєчасно розміщайте компоненти на зберігання за вказаних температур, щоб забезпечити належні характеристики.
- ▶ Зберігайте картриджі таким чином, щоб етикетки були зверху.

Витратний матеріал	Кількість	Температура зберігання	Опис
Картридж із реагентами	1	Від -25 °C до -15 °C	Містить реагенти для кластеризації та секвенування
Картридж із буферами	1	Від 15 °C до 30 °C	Містить буферний і промивний розчин
HT1	1	Від -25 °C до -15 °C	Гібридизаційний буфер
Проточна кювета	1	Від 2 °C до 8 °C*	Одноразова проточна кювета

* Постачається за кімнатної температури для наборів реагентів NextSeq вер. 2.5.

Реагенти чутливі до світла. Зберігайте картридж із реагентами й картридж із буферами в темному місці, подалі від світла.

Проточна кювета, картридж із реагентами й картридж із буферами використовують радіочастотну ідентифікацію (RFID) для точного відстеження витратних матеріалів і забезпечення сумісності.

Усі інші набори містять праймери з подвійним індексом секвенування й NaOCl у попередньо заповненому картриджі. Жодних додаткових етапів не потрібно.





ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Для набору реагентів NextSeq вер. 2.5 потрібне програмне забезпечення NCS вер. 2.2 або новішої версії. Перш ніж готувати зразки й витратні матеріали, переконайтеся, що оновлення програмного забезпечення завершено.

Маркування й сумісність набору

Компоненти набору позначено кольоровими індикаторами, щоб показати сумісність між проточними кюветами й картриджами з реагентами. Завжди використовуйте сумісні картридж із реагентами й проточну кювету. Картридж із буферами універсальний.

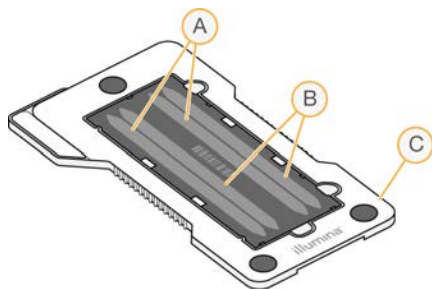
Кожна проточна кювета й картридж із реагентами мають маркування **High** або **Mid**. Завжди перевіряйте етикетку, коли готуєте витратні матеріали для прогону.

Тип набору	Маркування на етикетці
Компоненти набору з високим вихідним рівнем	
Компоненти набору із середнім вихідним рівнем	

Існують додаткові рекомендації щодо сумісності для приладів NextSeq 550Dx у режимі дослідження. Див. розділ *Сумісність витратних матеріалів NextSeq 550Dx* на стор. 69.

Огляд проточної кювети

Рисунок 4 Картридж проточної кювети



- A Пара доріжок А — перша й третя доріжки
- B Пара доріжок В — друга й четверта доріжки
- C Рама картриджа проточної кювети

Проточна кювета — підкладка на основі скла, на якій генеруються кластери й виконується реакція секвенування. Проточну кювету укладено в картридж проточної кювети.

Проточна кювета містить чотири доріжки, які візуалізуються в парах.

- ▶ Перша й третя доріжки (пара доріжок А) візуалізуються одночасно.
- ▶ Друга й четверта доріжки (пара доріжок В) візуалізуються, коли завершується візуалізація пари доріжок А.

Хоча проточна кювета має чотири доріжки, на проточній кюветі секвенують лише одну бібліотеку або набір об'єднаних бібліотек. Бібліотеки завантажуються на картридж із реагентами з одного резервуара й автоматично передаються до проточної кювети на всі чотири доріжки.

Кожна доріжка візуалізується в невеликих ділянках, що називаються сегментами. Додаткову інформацію див. в розділі *Сегменти проточної кювети на стор. 64*.

Огляд картриджа з реагентами

Картридж із реагентами — одноразовий витратний матеріал із RFID-трекером і запаяними фольгою резервуарами, попередньо заповненими реагентами для кластеризації й секвенування.

Рисунок 5 Картридж із реагентами



Картридж із реагентами містить спеціальний резервуар для завантаження підготовлених бібліотек. Після початку прогону бібліотеки автоматично переносяться з резервуару до проточної кювети.

Кілька резервуарів виділено для автоматичної промивки після прогону. Розчин для промивання перекачується з буферного картриджа до виділених резервуарів, через систему, а потім до контейнера для відпрацьованих реагентів.

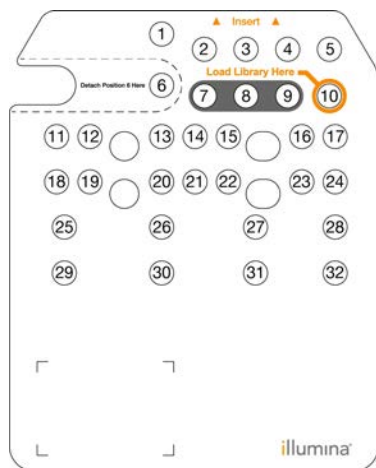


ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі можуть спричинити шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема засоби захисту очей, рукавички та лабораторний одяг з урахуванням ризику впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

Виділені резервуари

Рисунок 6 Пронумеровані резервуари



Положення	Опис
7, 8 і 9	Виділено для необов'язкових користувацьких праймерів
10	Завантаження бібліотек

Інформацію про користувацькі праймери див. в *посібнику з користувацьких праймерів NextSeq (документ № 15057456)*.

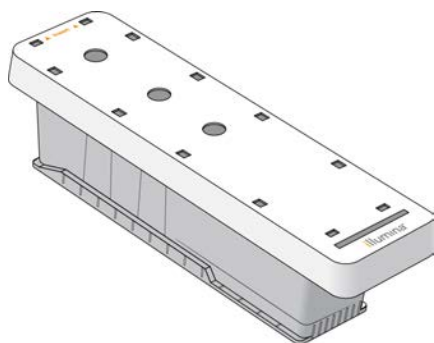
Знімний резервуар у положенні № 6

Попередньо заповнений картридж із реагентами містить у положенні № 6 реагент для денатурації, до складу якого входить формамід. Щоб полегшити безпечну утилізацію будь-якого невикористаного реагенту після прогону секвенування, резервуар у шостому положенні знімний. Додаткову інформацію див. в розділі *Знімання використаного резервуара в положенні № 6 на стор. 25*.

Огляд картриджа з буферами

Картридж із буферами — одноразовий витратний матеріал, що містить три резервуари, попередньо заповнені буферами й розчином для промивки. Вмісту картриджа з буферами достатньо для секвенування однієї проточної кювети.

Рисунок 7 Картридж із буферами



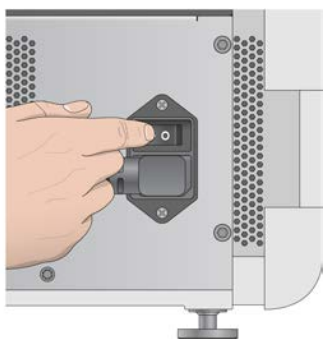
Розділ 2. Початок роботи

Запуск приладу	11
Налаштування параметрів системи	12
Налаштування параметрів прогону	13
Витратні матеріали й обладнання, що замовляє користувач	14

Запуск приладу

Увімкніть тумблер живлення в положення I (увімк.).

Рисунок 8 Вимикач живлення, розташований на задній панелі приладу



ПРИМІТКА

Щоб запустити прилад NextSeq 550Dx у дослідному режимі, див. розділ *Запуск приладу NextSeq 550Dx* на стор. 70.

- 1 Натисніть кнопку живлення над відсіком для реагентів. Натискання кнопки живлення вмикає прилад і запускає вбудований комп'ютер і програмне забезпечення приладу.

Рисунок 9 Кнопка живлення, розташована на передній панелі приладу



- 2 Дочекайтеся завершення завантаження операційної системи. Програмне забезпечення NextSeq Control Software (NCS) автоматично запускає й ініціалізує систему. Після завершення кроку ініціалізації відкривається головний екран.
- 3 Якщо систему налаштовано таким чином, щоб для входу потрібно було вводити облікові дані, зачекайте, поки система завантажиться, а потім увійдіть в операційну систему. Якщо потрібно, зверніться до адміністратора свого закладу, щоб отримати ім'я користувача й пароль.

Налаштування параметрів системи

Керівне програмне забезпечення містить системні параметри, що налаштовуються, для вказаного нижче. Щоб змінити параметри налаштування мережі, див. розділ *Налаштування параметрів системи на стор. 55*.

- ▶ Налаштування ідентифікації приладу (аватар і псевдонім).
- ▶ Установлення параметра введення з клавіатури й звукового індикатора.
- ▶ Установлення параметра для користувацьких наборів параметрів.
- ▶ Установлення перевірки оновлень програмного забезпечення приладу з BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ Установлення параметра надсилання даних про продуктивність приладу.

Налаштування аватара й псевдоніму приладу

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Щоб призначити бажане зображення аватара для свого приладу, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до зображення.
- 4 У полі Nickname (Псевдонім) уведіть бажану назву для приладу.
- 5 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та перейти далі по екрану. Зображення та назва з'являються у верхньому лівому куті кожного екрана.

Установлення параметра введення з клавіатури й звукового індикатора

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Установіть прапорець **Use on-screen keyboard** (Використовувати екранну клавіатуру), щоб активувати екранну клавіатуру для введення даних у прилад.
- 4 Установіть прапорець **Play audio** (Відтворювати аудіо), щоб умикати звукові індикатори для таких подій.
 - ▶ Після ініціалізації приладу.
 - ▶ Після запуску прогону.
 - ▶ У разі виникнення певних помилок.
 - ▶ Коли потрібна взаємодія з користувачем.
 - ▶ Коли прогін завершено.
- 5 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та перейти далі по екрану.

Установлення параметра для користувацьких наборів параметрів

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Установіть прапорець **Enable Custom Recipes** (Увімкнути користувацькі набори параметрів), щоб увімкнути вибір користувацького набору параметрів під час завантаження картриджа з реагентами. Додаткову інформацію див. в розділі *Користувацькі набори параметрів і папки з наборами параметрів на стор. 51*.

- 4 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та перейти далі по екрану.

Установлення перевірки наявності оновлень програмного забезпечення приладу з BaseSpace

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Установіть прапорець **Automatically check for new software updates on BaseSpace** (Автоматично перевіряти наявність нових оновлень програмного забезпечення на BaseSpace) для активації автоматичної перевірки наявності оновлень BaseSpace Sequence Hub. Автоматична перевірка наявності оновлень виконується кожні 24 години. Коли є оновлення, у наведених далі місцях відображається сповіщення.
 - ▶ На екрані Manage Instrument (Керування приладом) на значку Software Update (Оновлення програмного забезпечення).
 - ▶ На кнопці Manage Instrument (Керування приладом) на головному екрані.
- 4 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та перейти далі по екрану.

Установлення параметра надсилання даних про продуктивність приладу

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Виберіть **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Відправляти дані про продуктивність приладу до Illumina) для активації служби моніторингу Illumina Proactive. Назва параметра в інтерфейсі програмного забезпечення може відрізнитися від назви в цьому посібнику, залежно від версії NCS, що використовується. Якщо увімкнути цей параметр, компанії Illumina надсилаються дані про продуктивність приладу. Ці дані допомагають Illumina легше вирішувати проблеми та виявляти потенційні несправності, що дає змогу забезпечувати попереджувальне технічне обслуговування та максимально збільшувати час роботи приладу. Щоб отримати більше інформації про корисні риси цієї служби, див. *технічне повідомлення про Illumina Proactive (документ № 1000000052503)*. Відомості про цю службу.
 - ▶ Не відсилає дані секвенування.
 - ▶ Потребує, щоб прилад було під'єднано до мережі з доступом до Інтернету.
 - ▶ За замовчуванням увімкнено. Для відмови від цієї служби вимкніть параметр **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Відправляти дані про продуктивність приладу до Illumina).
- 4 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та перейти далі по екрану.

Налаштування параметрів прогону

Керівне програмне забезпечення містить доступні для налаштування параметри підготовки прогону й очищення невикористаних реагентів.

Установлення параметрів налаштування прогону

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Установіть прапорець **Use Advanced Load Consumables** (Використовувати розширене завантаження витратних матеріалів), щоб увімкнути функцію завантаження всіх витратних матеріалів на одному екрані.
- 4 Установіть прапорець **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Пропускати підтвердження перевірки перед прогоном), щоб автоматично запускати секвенування або сканування після успішної автоматичної перевірки.
- 5 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та вийти з екрана.

Установлення параметра автоматичного очищення

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Customization** (Налаштування системи).
- 3 Установіть прапорець **Purge Consumables at End of Run** (Видаляти витратні матеріали наприкінці прогону), щоб автоматично видаляти невикористані реагенти з картриджа з реагентами в контейнер для відпрацьованих реагентів після кожного прогону.



ПРИМІТКА

Очищення витратних матеріалів автоматично додає додатковий час до робочого процесу.

- 4 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти налаштування та вийти з екрана.

Витратні матеріали й обладнання, що замовляє користувач

На NextSeq 550 використовуються наведені далі витратні матеріали й обладнання.

Витратні матеріали, що замовляє користувач, для прогонів секвенування

Витратний матеріал	Постачальник	Мета
1 н. NaOH (гідроксид натрію)	Неконкретний постачальник лабораторії	Денатурація бібліотеки, розбавленої до 0,2 н.
200 мМ Tris-HCl, pH7	Неконкретний постачальник лабораторії	Денатурація бібліотеки
Серветки, просочені ізопропіловим спиртом, 70 %, чи етанолом, 70 %	VWR, № 95041-714 за каталогом (або еквівалентний). Неконкретний постачальник лабораторії	Очищення проточної кювети й загальне призначення
Лабораторна серветка з низьким виділенням ворсу	VWR, № 21905-026 за каталогом (або еквівалентний)	Очищення проточної кювети

Витратні матеріали, що замовляє користувач, для обслуговування приладу

Витратний матеріал	Постачальник	Мета
NaOCl, 5 % (гіпохлорит натрію)	Sigma-Aldrich, № 239305 за каталогом (або еквівалент лабораторного рівня)	Промивання приладу з використанням ручного промивання після прогону; розведено до концентрації 0,12 %
Tween 20	Sigma-Aldrich, № P7949 за каталогом	Промивання приладу з використанням параметрів ручного промивання; розведено до концентрації 0,05 %
Вода, хімічно чиста	Неконкретний постачальник лабораторії	Промивання приладу (промивання вручну)
Реагент або спектрофотометричний метанол чи ізопропіловий спирт (99 %), у пляшках по 100 мл	Неконкретний постачальник лабораторії	Періодичне очищення компонентів оптики й підтримка картриджа для очищення об'єктива
Повітряний фільтр	Illumina, № 20022240 за каталогом	Для приладів із повітряним фільтром, доступним із задньої панелі. Очищення повітря, що надходить до приладу для охолодження

Рекомендації з хімічно чистої води

Для виконання процедур приладу завжди використовуйте хімічно чисту або деіонізовану воду. Використання водопровідної води заборонено. Використовуйте тільки наведені нижче ґатунки води або їхні еквіваленти.

- ▶ Деіонізована вода.
- ▶ Illumina PW1.
- ▶ Вода 18 мегаом (МОм).
- ▶ Вода Milli-Q.
- ▶ Вода Super-Q.
- ▶ Вода для молекулярної біології.

Обладнання, що замовляє користувач

Позиція	Джерело
Морозильна камера, від -25°C до -15°C , без утворення криги	Неконкретний постачальник лабораторії
Контейнер із льодом	Неконкретний постачальник лабораторії
Холодильник, від 2°C до 8°C	Неконкретний постачальник лабораторії

Розділ 3. Секвенування

Вступ	16
Створення прогону за допомогою програмного забезпечення Local Run Manager	17
Створення прогону за допомогою NCS	17
Підготовка картриджа з реагентами	17
Підготовка проточної кювети	18
Підготовка бібліотек для секвенування	19
Налаштування прогону секвенування	20
Відстеження виконання прогону	27
Автоматичне промивання після прогону	28

Вступ

Щоб виконати прогін секвенування на NextSeq 550, підготуйте картридж із реагентами й проточну кювету. Потім дотримуйтесь інструкцій програмного забезпечення для налаштування й запуску прогону. Генерування кластерів і секвенування виконуються на приладі. Після прогону автоматично починається промивка приладу з використанням компонентів, уже завантажених у прилад.

Генерування кластерів

Під час генерування кластерів молекули одноланцюгової ДНК зв'язуються з поверхнею проточної кювети й потім ампліфікуються з утворенням кластерів.

Секвенування

Кластери візуалізуються з використанням двоканальної хімії секвенування й комбінацій фільтрів, специфічних для кожного з флуоресцентно маркованих термінаторів ланцюга. Після того як візуалізацію сегмента на проточній кюветі завершено, візуалізується наступний сегмент. Цей процес повторюється для кожного циклу секвенування. Після аналізу зображення програмне забезпечення виконує розпізнавання азотистих основ, фільтрацію й оцінку якості.

Стежте за перебігом виконання прогону й статистику в таких місцях.

- ▶ Інтерфейс NCS.
- ▶ BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ Local Run Manager.
- ▶ Мережевий комп'ютер із використанням програмного забезпечення Sequencing Analysis Viewer (SAV). Див. розділ *Sequencing Analysis Viewer* на стор. 28.

Аналіз

Під час проходження прогону керівне програмне забезпечення автоматично передає файли розпізнаних азотистих основ (BCL) до BaseSpace Sequence Hub, Local Run Manager або іншого зазначеного розташування вихідних даних для проведення вторинного аналізу даних.

Залежно від того, як ви застосовуєте прилад, є кілька методів аналізу. Докладну інформацію див. в системі довідки з BaseSpace (help.basespace.illumina.com) або посібнику з програмного забезпечення Local Run Manager (документ № 100000002702).

Тривалість прогону секвенування

Тривалість прогону секвенування залежить від кількості виконаних циклів. Максимальна довжина прогону — це прогін із секвенуванням парних кінцевих фрагментів зі 150 циклами в кожному зчитуванні (2×150), плюс до восьми циклів у кожному з двох зчитувань індексу.

Щоб отримати інформацію про очікувану тривалість та інші технічні характеристики системи, відвідайте [сторінку технічних характеристик NextSeq 550](#) на вебсайті компанії Illumina.

Кількість циклів на зчитування

У прогоні секвенування число циклів, виконаних на зчитування, на один більше, ніж кількість проаналізованих циклів. Наприклад, під час 150-циклового прогону із секвенуванням парних кінцевих фрагментів виконується зчитування 151 циклу (2×151), що дає в сумі 302 цикли. Наприкінці прогону аналізуються 2×150 циклів. Додатковий цикл необхідний для розрахунків фазування й попереднього фазування.

Створення прогону за допомогою програмного забезпечення Local Run Manager

Процес налаштування параметрів прогону й аналізу в Local Run Manager залежить від використовуваного модуля робочого процесу аналізу. Конкретні вказівки про те, як створити прогін, наведено в посібнику щодо використання модулів програмного забезпечення Local Run Manager.

- 1 На головному екрані виберіть **Edit Runs** (Змінити прогони).
- 2 Виберіть спочатку **Create Run** (Створити прогін) з панелі керування Local Run Manager, а потім — модуль аналізу.
- 3 Уведіть ім'я та зразки для прогону, а також, якщо потрібно, імпортуйте представлення.
- 4 Збережіть прогін і закрийте вікно панелі керування Local Run Manager.

Щоб створити прогін в NCS без програмного забезпечення Local Run Manager, використовуйте ручний режим прогону. Див. розділи [Створення прогону за допомогою NCS](#) на стор. 17 і [Режими прогону](#) на стор. 20.

Створення прогону за допомогою NCS

Якщо ви створюєте прогін за допомогою NCS (ручний режим прогону), параметри прогону й аналізу вводяться безпосередньо перед завантаженням проточної кювети.

- 1 Перегляньте потрібні параметри прогону й аналізу в розділі [Уведення параметрів прогону та аналізу в NCS \(ручний режим прогону\)](#) на стор. 22.
- 2 Визначте параметри прогону й аналізу зараз, щоб не було затримки під час запуску прогону секвенування.

Підготовка картриджа з реагентами

- 1 Вийміть картридж із реагентами з місця зберігання, у якому підтримується температура від $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 2 Розморозуйте на водяній бані за кімнатної температури до відтавання (~ 60 хвилин). Не занурюйте картридж.

- 3 Акуратно постукайте по столу, щоб вигнати воду з основи, а потім висушіть основу.



ПРИМІТКА

[Альтернативний метод.] Розморозьте реагенти протягом ночі за температури від 2 °С до 8 °С. Потрібно, щоб реагенти відтавали протягом мінімум 18 годин. За цієї температури реагенти стабільні до одного тижня.

- 4 Переверніть картридж п'ять разів для перемішування реагентів.
- 5 Огляньте положення 29, 30, 31 і 32, щоб переконатися: реагенти відтанули.
- 6 Обережно постукайте по столу, щоб зменшити кількість бульбашок повітря.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі можуть спричинити шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема засоби захисту очей, рукавички та лабораторний одяг з урахуванням ризику впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

Підготовка проточної кювети

- 1 Витягніть упаковку з новою проточною кюветою з місця для зберігання, у якому підтримується температура від 2 °С до 8 °С.
- 2 Відкладіть упаковку проточної кювети зі знятою обгорткою за кімнатної температури на 30 хвилин.

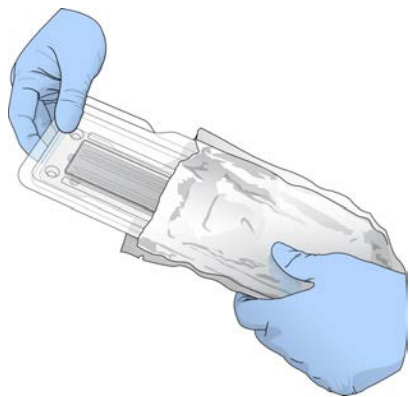


ПРИМІТКА

Якщо упаковку з фольги не ушкоджено, проточна кювета може бути за кімнатної температури до 12 годин. Уникайте повторних охолодження й нагрівання проточної кювети.

- 3 Вийміть проточну кювету з фольгової упаковки.

Рисунок 10 Виймання з фольгової упаковки



- 4 Відкрийте прозорий пластиковий двостулковий контейнер і дістаньте проточну кювету.

Рисунок 11 Виймання з двостулкового контейнера



- 5 Протріть скляну поверхню проточної кювети просоченою спиртом безворсовою серветкою. Досуха витріть скло низьковорсовою лабораторною серветкою.

Підготовка бібліотек для секвенування

Обсяг бібліотеки та її концентрація завантаження розрізняються залежно від версії NCS, яку ви використовуєте.

Версія керівного програмного забезпечення	Обсяг бібліотеки	Концентрація бібліотеки
NCS вер. 1.3 або пізнішої	1,3 мл	1,8 пМ
NCS вер. 1.2 або ранішої	3 мл	3 пМ

Денатурування й розведення бібліотек

Денатуруйте й розбавте свої бібліотеки до наведеного далі обсягу й концентрації завантаження.

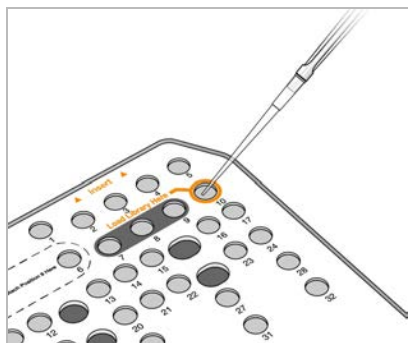
Тип набору	Обсяг завантаження	Концентрація завантаження
З високим вихідним потоком	1,3 мл	1,8 пМ
Із середнім вихідним потоком	1,3 мл	1,5 пМ

На практиці концентрація завантаження може залежати від підготовки бібліотеки й методів кількісної оцінки. Інструкції див. в *посібнику з денатурації й розведення бібліотек для системи NextSeq (документ № 15048776)*.

Завантаження бібліотек у картридж із реагентами

- 1 Очистьте фольгове ущільнення, що закриває резервуар № 10 із написом **Load Library Here** (Завантажити бібліотеку тут), з використанням низьковорсової серветки.
- 2 Проткніть ущільнення чистим наконечником піпетки об'ємом 1 мл.
- 3 Завантажте 1,3 мл підготовлених бібліотек 1,8 пМ у резервуар № 10, позначений написом **Load Library Here**. Уникайте дотику до фольгового ущільнення під час розподілу бібліотек.

Рисунок 12 Завантаження бібліотек



Налаштування прогону секвенування

- 1 На головному екрані виберіть **Experiment** (Експеримент).
- 2 На екрані Select Assay (Вибір аналізу) виберіть **Sequence** (Секвенування).
Команда Sequence (Секвенування) відкриває дверцята відсіку для візуалізації, звільняє витратні матеріали від попереднього прогону й відкриває серію екранів налаштування прогону. Коротка затримка — це нормально.

Режими прогону

Під час налаштування прогону секвенування потрібно вибрати один із наведених нижче режимів прогону, щоб визначити, куди вводити інформацію про прогін і як аналізувати дані.

Режим прогону	Інформація про прогін	Аналіз даних*
Local Run Manager	Уведення в Local Run Manager.	Це програмне забезпечення зберігає дані у визначеній папці вихідних даних для автоматичного аналізу в Local Run Manager.
Ручний режим	Уведення в NCS.	Це програмне забезпечення зберігає дані у визначеній папці вихідних даних для подальшого аналізу поза приладом.

* З метою аналізу BaseSpace Sequence Hub може працювати разом із будь-яким режимом прогону. Коли прогін виконується в режимі Local Run Manager і BaseSpace Sequence Hub налаштовано, дані аналізують обидві програми.

Local Run Manager — це стандартний режим прогону. У цьому режимі забезпечується найбільш упорядкований робочий процес. Прогони створюються та зберігаються в Local Run Manager. Потім інформація відправляється до керівного програмного забезпечення, де потрібно вибрати прогін і продовжити його налаштування. Після секвенування Local Run Manager автоматично виконує аналіз даних. Окремі протоколи та програми аналізу не потрібні.



ПРИМІТКА

Local Run Manager — не елемент керівного програмного забезпечення. Ця програма — інтегроване програмне забезпечення, яке дає змогу записувати зразки для секвенування, указувати параметри прогонів і аналізувати дані.

BaseSpace Sequence Hub (необов'язково)

Під час налаштування прогону секвенування можна вибрати один із указаних нижче варіантів BaseSpace Sequence Hub.


Варіант	Опис і вимоги
Моніторинг і зберігання прогону	Відправляти файли InterOp, файли журналу й дані прогону до BaseSpace Sequence Hub для віддаленого моніторингу й аналізу. Потрібні обліковий запис BaseSpace Sequence Hub, підключення до Інтернету й протокол аналізу.
Лише моніторинг прогону	Відправляти файли InterOp і журналу до BaseSpace Sequence Hub для віддаленого моніторингу прогону. Цей варіант вибрано за замовчуванням. Потрібні обліковий запис BaseSpace Sequence Hub і підключення до Інтернету.

Вибір режиму прогону та BaseSpace Sequence Hub

- На екрані Run Setup (Налаштування прогону) виберіть один з указаних нижче режимів прогону.
 - ▶ Local Run Manager.
 - ▶ Ручний режим.
- [Необов'язково.]** Виберіть **Use BaseSpace Sequence Hub Setting** (Використовувати налаштування BaseSpace Sequence Hub) і один із таких варіантів.
 - ▶ Моніторинг і зберігання прогону.
 - ▶ Лише моніторинг прогону.

Уведіть ім'я користувача й пароль BaseSpace Sequence Hub.
У відповідь на запит виберіть робочу групу, до якої потрібно передавати дані прогону.
Запит з'явиться, тільки якщо ви належите до кількох робочих груп.
- Виберіть **Next** (Далі).

Вибір прогону (режим прогону Local Run Manager)

- Виберіть ім'я прогону зі списку доступних прогонів.
Використовуйте стрілки вгору й вниз, щоб прокрутити список, або введіть ім'я прогону в поле Search (Пошук).
- Підтвердьте параметри прогону.
 - ▶ **Run Name** (Ім'я прогону) — ім'я прогону, призначене в Local Run Manager.
 - ▶ **Library ID** (Ідентифікатор бібліотеки) — ім'я об'єднаних бібліотек, призначене в Local Run Manager.
 - ▶ **Recipe** (Набір параметрів) — ім'я набору параметрів, **NextSeq High** або **NextSeq Mid**, залежно від картриджа з реагентами, що використовується для прогону.
 - ▶ **Read Type** (Тип зчитування) — Single-Read (Однократне зчитування) або Paired-End (Парний кінцевий фрагмент).
 - ▶ **Read Length** (Тривалість зчитування) — кількість циклів на кожне зчитування.
 - ▶ **[Необов'язково.]** Користувацькі праймери, якщо є.
- [Необов'язково.]** Виберіть значок **Edit**  (Редагувати), щоб змінити параметри прогону.
Після завершення виберіть **Save** (Зберегти).
 - ▶ **Run parameters** (Параметри прогону) — змініть кількість зчитувань або кількість циклів на зчитування.

- ▶ **Custom primers** (Користувацькі праймери) — змініть налаштування для користувацьких праймерів. Додаткову інформацію див. в *посібнику з користувацьких праймерів NextSeq (документ № 15057456)*.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Видалити витратні матеріали для цього прогону) — змініть налаштування автоматичного видалення витратних матеріалів після поточного прогону.

4 Виберіть **Next** (Далі).

Уведення параметрів прогону та аналізу в NCS (ручний режим прогону)

- 1 Уведіть обране вами ім'я прогону.
- 2 **[Необов'язково.]** Уведіть обраний вами ідентифікатор бібліотеки.
- 3 У розкритому списку Recipe (Набір параметрів) виберіть набір параметрів. Перераховано лише сумісні набори параметрів.
- 4 Виберіть тип зчитування: **Single-Read** (Однократне зчитування) або **Paired-End** (Парний кінцевий фрагмент).
- 5 Уведіть число циклів для кожного зчитування в прогоні секвенування.
 - ▶ **Read 1** (Зчитування 1) — уведіть значення до 151 циклу.
 - ▶ **Read 2** (Зчитування 2) — уведіть значення до 151 циклу. Це значення зазвичай збігається з числом циклів зчитування 1.
 - ▶ **Index 1** (Індекс 1) — уведіть кількість циклів, потрібну для праймера Index 1 (Індекс 1) (i7).
 - ▶ **Index 2** (Індекс 2) — уведіть кількість циклів, потрібну для праймера Index 2 (Індекс 2) (i5).

Керівне програмне забезпечення підтверджує введені вами дані, використовуючи вказані нижче критерії.

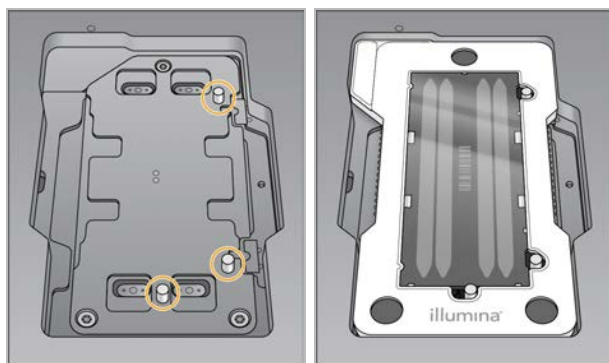
 - ▶ Загальна кількість циклів не перевищує максимально допустимої.
 - ▶ Кількість циклів для зчитування 1 більша за 5 циклів, що використовуються для генерування шаблону.
 - ▶ Цикли зчитування індексу не перевищують цикли зчитування 1 і зчитування 2.
- 6 **[Необов'язково.]** Якщо ви використовуєте користувацькі праймери, установіть прапорець для праймерів, які застосовуються. Додаткову інформацію див. в *посібнику з користувацьких праймерів NextSeq (документ № 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** (Зчитування 1) — користувацький праймер для зчитування 1.
 - ▶ **Read 2** (Зчитування 2) — користувацький праймер для зчитування 2.
 - ▶ **Index 1** (Індекс 1) — користувацький праймер для індексу 1.
 - ▶ **Index 2** (Індекс 2) — користувацький праймер для індексу 2.
- 7 Установіть розташування папки вихідних даних для поточного прогону. Виберіть **Browse** (Огляд), щоб перейти до мережевого розташування. Інформацію про вимоги до папки вихідних даних див. в розділі *Налаштування розташування папки вихідних даних на стор. 56*.
- 8 Виберіть **Browse** (Огляд), щоб перейти до протоколу аналізу. Протоколу аналізу потребує система, налаштована на ручний режим із моніторингом і зберіганням прогону в BaseSpace Sequence Hub.
- 9 Виберіть **Purge consumables for this run** (Видалити витратні матеріали для цього прогону). За цього налаштування витратні матеріали автоматично видаляються після поточного прогону.
- 10 Виберіть **Next** (Далі).

- 11 **[Необов'язково.]** Виберіть значок Edit (Редагувати), щоб змінити параметри прогону.
- 12 Виберіть **Next** (Далі).

Завантаження проточної кювети

- 1 Зніміть використану проточну кювету від попереднього прогону.
- 2 Зіставте проточну кювету з напрямними штифтами й помістіть проточну кювету на платформу.

Рисунок 13 Завантаження проточної кювети



- 3 Виберіть **Load** (Завантажити).
Дверця автоматично закриваються, на екрані з'являється ідентифікатор проточної кювети, і перевіряються датчики.
- 4 Виберіть **Next** (Далі).

Спорожнення контейнера для відпрацьованих реагентів

- 1 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів і утилізуйте вміст відповідно до застосовних стандартів.

Рисунок 14 Видалення контейнера для відпрацьованих реагентів



ПРИМІТКА

Коли знімаєте контейнер, підтримуйте його другою рукою знизу.

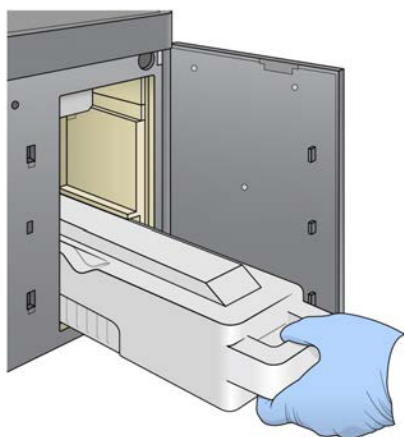


ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі можуть спричинити шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема засоби захисту очей, рукавички та лабораторний одяг з урахуванням ризику впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

- 2 Уставте порожній контейнер для відпрацьованих реагентів у буферний відсік до упору. Чутне клацання вказує на те, що контейнер зайняв потрібне положення.

Рисунок 15 Завантаження порожнього контейнера для відпрацьованих реагентів



Завантаження картриджа з буферами

- 1 Вийміть використаний картридж із буферами з верхнього відсіку.
- 2 Уставте новий картридж із буферами в буферний відсік до упору. Чутне клацання вказує на те, що картридж стоїть на своєму місці, на екрані з'являється ідентифікатор картриджа з буферами, і перевіряється датчик.

Рисунок 16 Завантаження картриджа з буферами



- 3 Закрийте дверцята буферного відсіку й виберіть **Next** (Далі).

Завантаження картриджа з реагентами

- 1 Вийміть використаний картридж із реагентами з відсіку для реагентів. Утилізуйте невикористані компоненти відповідно до застосовних стандартів.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі можуть спричинити шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема засоби захисту очей, рукавички та лабораторний одяг з урахуванням ризику впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосовних регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

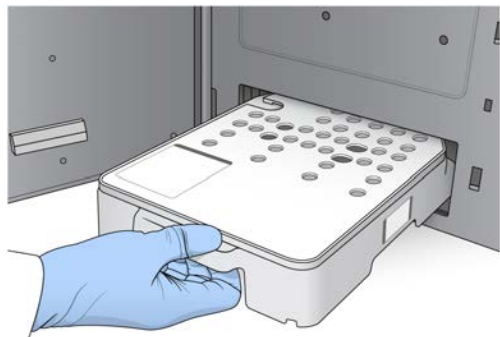


ПРИМІТКА

Щоб полегшити безпечну утилізацію невикористаного реагенту, резервуар в положенні № 6 знімний. Додаткову інформацію див. в розділі *Знімання використаного резервуара в положенні № 6 на стор. 25*.

- 2 Уставте картридж із реагентами у відсік для реагентів до упору, а потім закрийте дверцята цього відсіку.

Рисунок 17 Завантаження картриджа з реагентами

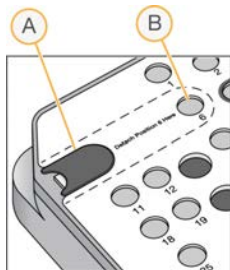


- 3 Виберіть **Load** (Завантажити).
Програмне забезпечення автоматично переміщує картридж у положення (~ 30 секунд), на екрані з'являється ідентифікатор картриджа з реагентами, і перевіряються датчики.
- 4 Виберіть **Next** (Далі).

Знімання використаного резервуара в положенні № 6

- 1 Після того як ви вийняли **використаний** картридж із реагентами з приладу, зніміть захисну гумову кришку над пазом поруч із положенням № 6.

Рисунок 18 Знімне положення № 6



- A Захисна гумова кришка
- B Положення № 6

- 2 Натисніть на прозорий пластиковий язичок і проштовхніть його вліво, щоб витягти резервуар.
- 3 Утилізуйте резервуар відповідно до застосовних стандартів.

Огляд автоматизованої перевірки

Програмне забезпечення виконує автоматизовану перевірку системи. Під час перевірки на екрані з'являються індикатори, наведені нижче.

- ▶ **Сіра** **галочка** — перевірку ще не виконано.
- ▶ Значок **перебігу** — перевірка виконується.
- ▶ **Зелена** **галочка** — перевірку пройдено успішно.
- ▶ **Червоний** — перевірку пройдено з незадовільним результатом. Перш ніж можна буде продовжити роботу, для всіх елементів із незадовільним результатом перевірки потрібно вжити відповідних заходів. Див. розділ *Усунення помилок автоматичної перевірки на стор. 45*.

Щоб зупинити автоматизовану перевірку, що виконується, виберіть значок у правому нижньому куті. Щоб перезапустити перевірку, виберіть значок . Перевірка відновлюється під час першої неповної або невдалої перевірки.

Щоб ознайомитися з результатами кожної окремої перевірки в категорії, виберіть значок для розгортання категорії.



ПРИМІТКА

Коли ви виконуєте перший прогін секвенування з NCS вер. 4.0 або пізнішої версії, під час автоматизованої перевірки системи реєстрація проточної кювети триває більше 15 хвилин — це нормальне явище.

Запуск прогону

Після завершення автоматизованої перевірки виберіть **Start** (Запуск). Почнеться виконання прогону секвенування.

Щоб налаштувати систему на автоматичний запуск прогону після успішної перевірки, див. розділ *Установлення параметрів налаштування прогону на стор. 14*.

Відстеження виконання прогону

- 1 Слідкуйте за перебігом виконання прогону, значеннями інтенсивності й показниками якості, коли вони з'являються на екрані.

Рисунок 19 Перебіг виконання й показники прогону секвенування



- A **Перебіг виконання прогону** — показує поточний етап і кількість циклів, виконаних для кожного зчитування. Індикатор виконання не пропорційний швидкості виконання кожного етапу. Щоб визначити фактичну тривалість, використовуйте час, що залишився, у правому верхньому куті.
- B **Q-показник** — показує розподіл показників якості (Q-показників). Див. розділ *Оцінювання якості на стор. 62*.
- C **Інтенсивність** — показує значення інтенсивності кластера 90-го перцентилу для кожного сегмента. Кольори графіків позначають кожну основу: червоний — А, зелений — С, синій — G, а чорний — Т. Кольори відповідають індикаторам основ, що використовуються в програмі Sequencing Analysis (SAV).
- D **Щільність кластерів (К/мм²)** — показує кількість кластерів, виявлених для прогону.
- E **Фільтр пропускання кластерів (%)** — показує відсоток фільтра пропускання кластерів. Див. розділ *Фільтр пропускання кластерів на стор. 61*.
- F **Розрахунковий показник виходу (Gb)** — показує кількість основ, прогнозованих для прогону.



ПРИМІТКА

Після того як ви вибрали перехід до головного екрана, неможливо повернутися до перегляду показників прогону. Однак показники прогону доступні в BaseSpace Sequence Hub або доступні для перегляду з окремого комп'ютера за допомогою Sequencing Analysis Viewer (SAV).













Цикли для показників прогону

Показники прогону з'являються в його різних точках.

- ▶ На етапах генерування кластера показники не відображаються.
- ▶ Перші п'ять циклів зарезервовано для генерування шаблону.
- ▶ Показники прогону з'являються після циклу 25, зокрема показники щільності кластерів, фільтра проходження кластерів, виходу та якості.

Передавання даних

Залежно від обраного налаштування аналізу, під час прогону на екрані з'являється значок, який указує стан передавання даних.

Стан	Local Run Manager	Папка вихідних даних	BaseSpace Sequence Hub від Illumina
Підключено			
Підключено, дані передаються			
Відключено			
Вимкнено			

Якщо під час прогону передавання даних переривається, дані тимчасово зберігаються на комп'ютері приладу. Коли з'єднання відновлюється, передавання даних продовжується автоматично. Якщо з'єднання не відновлюється до завершення прогону, до початку наступного прогону видаліть дані з комп'ютера приладу вручну.

Universal Copy Service

Пакет системного програмного забезпечення NextSeq містить службу Universal Copy Service. RTA вер. 2 надсилає до цієї служби запит на копіювання файлів із вихідного місця розташування до розташування призначення, і служба обробляє запити на копіювання в порядку, у якому вони надходять. Якщо виникає виключення, файл ставиться в чергу для копіювання залежно від кількості файлів у черзі копіювання.

Sequencing Analysis Viewer

Програмне забезпечення Sequencing Analysis Viewer відображає показники секвенування, згенеровані під час прогону. Показники відображаються у вигляді діаграм, графіків і таблиць на основі даних, згенерованих RTA і записаних до файлів InterOp. Показники оновлюються в міру виконання прогону. Виберіть **Refresh** (Оновити) будь-коли під час прогону, щоб переглянути оновлені показники. Додаткову інформацію див. в *посібнику користувача Sequencing Analysis Viewer (документ № 15020619)*.

Sequencing Analysis Viewer входить до складу програмного забезпечення, встановленого на комп'ютері приладу. Для віддаленого моніторингу показників прогону Sequencing Analysis Viewer також можна встановити на інший комп'ютер, підключений до тієї самої мережі, що й прилад.

Автоматичне промивання після прогону

Коли прогін секвенування завершено, програмне забезпечення запускає автоматичне промивання після прогону. Під час промивання після прогону використовується розчин для промивання, який міститься в картриджі з буферами, і NaOCl, що міститься в картриджі з реагентами.

Коли прогін секвенування завершено, програмне забезпечення запускає автоматичне промивання після прогону, використовуючи розчин для промивання, який міститься в картриджі з буферами, і NaOCl, що міститься в картриджі з реагентами.

Автоматичне промивання після прогону триває близько 90 хвилин. Коли промивання завершено, стає активною кнопка Home (Головний екран). Під час промивання результати секвенування залишаються видимими на екрані.

Після промивання

Після промивання сіппери залишаються в нижньому положенні, щоб запобігти потраплянню повітря в систему. Залиште картриджі на місці до наступного прогону.

Розділ 4. Сканування

Вступ	30
Завантаження папки DMAP	31
Завантаження BeadChip на адаптер	31
Налаштування сканування	32
Відстеження проходження сканування	35

Вступ

Щоб виконати сканування на NextSeq 550, знадобляться такі компоненти прогону.

- ▶ Гібридизований і забарвлений BeadChip.
- ▶ Багаторазовий адаптер BeadChip.
- ▶ Файли Decode Map (DMAP) для використовуваного BeadChip.
- ▶ Файл представлення для використовуваного BeadChip.
- ▶ Файл кластерів для використовуваного BeadChip.

Файли вихідних даних створюються під час сканування, а потім поміщаються в чергу для передачі до зазначеної папки вихідних даних.

Виконайте аналіз за допомогою програмного забезпечення BlueFuse Multi, для якого потрібно, щоб дані сканування були доступні у форматі файлу розпізнавання генотипу (GTC). За замовчуванням NextSeq 550 генерує нормалізовані дані й пов'язані розпізнавання генотипу у форматі файлу GTC. Якщо потрібно, прилад можна налаштувати на створення додаткових файлів даних інтенсивності (IDAT). Додаткову інформацію див. в розділі *Налаштування сканування BeadChip на стор. 57*.

Клієнт декодування файлів

Папка DMAP містить інформацію, яка ідентифікує розташування гранул на BeadChip і кількісно визначає сигнал, пов'язаний із кожною гранулою. Кожна папка DMAP має відповідний штрих-код BeadChip.

Утиліта клієнта декодування файлів дає змогу завантажувати папки DMAP безпосередньо із серверів компанії Illumina за допомогою стандартного протоколу HTTP.

Щоб отримати доступ до клієнта декодування файлів, перейдіть на [сторінку підтримки клієнта декодування файлів](http://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) на вебсайті компанії Illumina (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Установіть клієнт декодування файлів на комп'ютер із доступом до мережевого розташування папки DMAP.

Додаткову інформацію див. в розділі *Завантаження папки DMAP на стор. 31*.

Файли представлення й файли кластерів

Для кожного BeadChip програмне забезпечення вимагає доступу до файлу представлення й файлу кластерів. Кожен файл представлення й кластерів відповідає певному типу BeadChip.

Переконайтеся, що ви використовуєте файли кластерів, які в імені містять NS550. Ці файли сумісні із системою NextSeq.

- ▶ **Файл представлення** — файли представлення описують вміст SNP або зондів на BeadChip. Файли представлення використовують формат *.bpm.
- ▶ **Файли кластерів** — файли кластерів описують положення кластерів для масиву генотипування Illumina й використовуються під час аналізу даних для розпізнавання генотипу. Файли кластерів використовують формат *.egt.

Розташування файлів указується на екрані BeadChip Scan Configuration (Налаштування сканування BeadChip). На головному екрані NCS виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом), **System Configuration** (Налаштування системи), а потім **BeadChip Scan Configuration** (Налаштування сканування BeadChip).

Коли прилад NextSeq 550 встановлено, представник компанії Illumina завантажує ці файли й указує шлях у керівному програмному забезпеченні. Немає потреби змінювати ці файли, за винятком випадків їх втрати або появи нової версії. Додаткову інформацію див. в розділі *Заміна файлів представлення й файлів кластерів на стор. 51*.

Завантаження папки DMAP

Ви можете отримати доступ до папки DMAP за допомогою клієнта декодування файлів по обліковому запису або по BeadChip (стандартне подання).

Доступ до папки DMAP за обліковим записом

- 1 На головній вкладці клієнта декодування файлів виберіть варіант завантаження.
 - ▶ AutoPilot.
 - ▶ Усі BeadChip ще не завантажено.
 - ▶ Усі BeadChip.
 - ▶ Чипи BeadChip за замовленням на постачання.
 - ▶ Чипи BeadChip за штрих-кодом.
- 2 Уведіть необхідну інформацію.
- 3 Знайдіть папку DMAP, яку потрібно завантажити.
- 4 Переконайтеся, що в кінцевому розташуванні завантаження достатньо вільного місця.
- 5 Почніть завантаження. Переглядайте стан завантаження на вкладці Download Status and Log (Стан і журнал завантаження).
- 6 Збережіть папку DMAP у вказаному для неї місці розташування.

Доступ до папки DMAP за BeadChip

- 1 Визначте чипи BeadChip, використовуючи два з таких варіантів.
 - ▶ Штрих-код BeadChip.
 - ▶ Ідентифікатор коробки чипів BeadChip.
 - ▶ Номер замовлення на постачання.
 - ▶ Номер замовлення на продаж.
- 2 Знайдіть папку DMAP, яку потрібно завантажити.
- 3 Переконайтеся, що в кінцевому розташуванні завантаження достатньо вільного місця.
- 4 Почніть завантаження. Переглядайте стан завантаження на вкладці Download Status and Log (Стан і журнал завантаження).
- 5 Збережіть папку DMAP у вказаному для неї місці розташування.

Завантаження BeadChip на адаптер

- 1 Натисніть на фіксувальний затискач адаптера. Затискач злегка нахилиється назад, що дає змогу йому відкритися.

- Утримуючи BeadChip за краї, розташуйте BeadChip зі штрих-кодом поруч із фіксувальним затискачем і помістіть BeadChip на втоплену полицю адаптера.

Рисунок 20 Завантаження BeadChip на адаптер



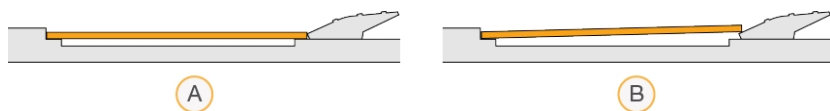
- Використовуючи отвори з боків BeadChip, переконайтеся, що BeadChip встановлено в поглибленій полиці адаптера.

Рисунок 21 Установлення та фіксація BeadChip



- Обережно відпустіть фіксувальний затискач, щоб зафіксувати BeadChip.
- Огляньте BeadChip із боку, щоб переконаватися: BeadChip рівно встановлено на адаптері. Якщо потрібно, змініть положення BeadChip.

Рисунок 22 Перевірка положення BeadChip



- A Правильне положення — якщо відпустити затискач, BeadChip залишається рівно встановленим на адаптері.
- B Неправильне положення — якщо відпустити затискач, BeadChip залишається встановленим не рівно.

Налаштування сканування

- На головному екрані виберіть спочатку **Experiment** (Експеримент), а потім — **Scan** (Сканування).

Команда Scan (Сканування) відкриває дверцята відсіку для візуалізації, звільняє витратні матеріали від попереднього прогону (якщо є) і відкриває серію екранів налаштування сканування. Коротка затримка — це нормально.

Виведення витратних матеріалів для секвенування

Якщо під час налаштування сканування присутні використані витратні матеріали для секвенування, перш ніж переходити до наступного етапу, програма запропонує вивести картридж із реагентами й картридж із буферами.

- 1 У відповідь на запит видалить використані витратні матеріали для секвенування від попереднього прогону.
 - a Вийміть картридж із реагентами з відсіку для реагентів. Утилізуйте невикористані компоненти відповідно до застосовних стандартів.
 - b Вийміть використаний картридж із буферами з буферного відсіку.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

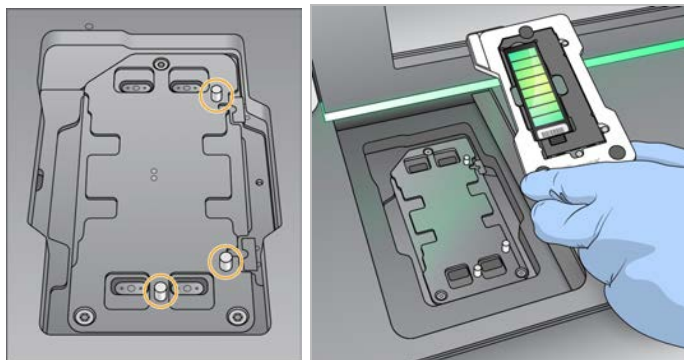
Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі можуть спричинити шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема засоби захисту очей, рукавички та лабораторний одяг з урахуванням ризику впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосовних регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

- 2 Закрийте дверцята відсіку для реагентів і буферного відсіку.

Завантаження адаптера BeadChip

- 1 Використовуйте напрямні штифти, щоб розташувати адаптер BeadChip на платформі.

Рисунок 23 Завантаження адаптера BeadChip







- 2 Виберіть **Load** (Завантажити).
Дверцята автоматично закриваються, на екрані з'являється ідентифікатор BeadChip і перевіряються датчики. Коротка затримка — це нормально. Якщо штрих-код BeadChip не може бути зчитано, з'явиться діалогове вікно, у якому штрих-код можна ввести вручну. Див. розділ *Програмне забезпечення не може зчитати штрих-код BeadChip* на стор. 50.
- 3 Виберіть **Next** (Далі).



Налаштування сканування


- 1 На екрані Scan Setup (Налаштування сканування) підтвердьте наведену нижче інформацію.
 - ▶ **Штрих-код** — під час завантаження BeadChip програмне забезпечення зчитує штрих-код BeadChip. Якщо штрих-код було введено вручну, для подальших змін з'явиться кнопка Edit (Редагувати).
 - ▶ **Тип** — поле типу BeadChip заповнюється автоматично на основі штрих-коду BeadChip.
 - ▶ **Розташування DMAP** — місце розташування папки DMAP вказано на екрані BeadChip Scan Configuration (Налаштування сканування BeadChip). Щоб змінити місце розташування тільки для поточного сканування, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до необхідного розташування.
 - ▶ **Розташування вихідних даних** — розташування вихідних даних вказано на екрані BeadChip Scan Configuration (Налаштування сканування BeadChip). Щоб змінити місце розташування тільки для поточного сканування, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до потрібного розташування.
- 2 Виберіть **Next** (Далі).

Огляд автоматизованої перевірки

Програмне забезпечення виконує автоматизовану перевірку системи. Під час перевірки на екрані з'являються індикатори, наведені нижче.

- ▶ **Сіра**  **галочка** — перевірку ще не виконано.
- ▶ Значок **перебігу**  — перевірка виконується.
- ▶ **Зелена**  **галочка** — перевірку пройдено успішно.
- ▶ **Червоний**  — перевірку пройдено з незадовільним результатом. Перш ніж можна буде продовжити роботу, для всіх елементів із незадовільним результатом перевірки потрібно вжити відповідних заходів. Див. розділ *Усунення помилок автоматичної перевірки на стор. 45*.

Щоб зупинити автоматизовану перевірку, що виконується, виберіть значок  у правому нижньому куті. Щоб перезапустити перевірку, виберіть значок . Перевірка відновлюється під час першої неповної або невдалої перевірки.

Щоб ознайомитися з результатами кожної окремої перевірки в категорії, виберіть значок  для розгортання категорії.



ПРИМІТКА

Коли ви виконуєте перший прогін секвенування з NCS вер. 4.0 або пізнішої версії, під час автоматизованої перевірки системи реєстрація проточної кювети триває більше 15 хвилин — це нормальне явище.

Запуск сканування

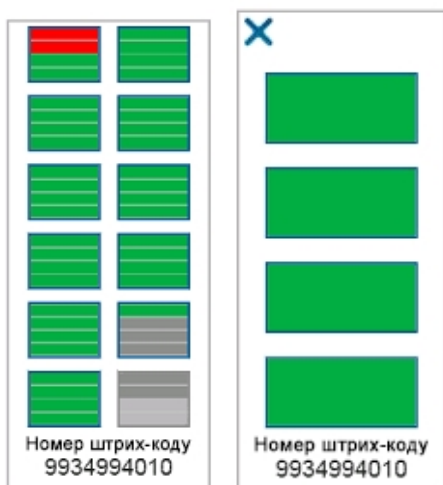
Після завершення автоматизованої перевірки виберіть **Start** (Запуск). Почнеться сканування. Щоб налаштувати систему на автоматичний запуск сканування після успішної перевірки, див. розділ *Установлення параметрів налаштування прогону на стор. 14*.

Відстеження проходження сканування

- 1 Відстежуйте проходження сканування, використовуючи зображення BeadChip. Кожен колір на зображенні вказує на стан сканування.
 - ▶ **Світло-сірий** — не відскановано.
 - ▶ **Темно-сірий** — відскановано, але не зареєстровано.
 - ▶ **Зелений** — відскановано й успішно зареєстровано.
 - ▶ **Червоний** — сканування й реєстрацію виконано з помилками.

Якщо реєстрацію виконано з помилками, зразки, які містять розділи з помилками, можна повторно відсканувати. Див. розділ *Помилка сканування BeadChip* на стор. 50.
- 2 Виберіть зображення BeadChip для переключення між повним і докладним поданнями обраного зразка.
 - ▶ У повному поданні показано зразки на BeadChip і розділи всередині кожного зразка.
 - ▶ Докладне подання показує кожен розділ в обраному зразку.

Рисунок 24 Зображення BeadChip: повне й детальне подання



ПРИМІТКА

Завершення сканування остаточне. Якщо завершити сканування до його повного виконання, дані сканування **не** буде збережено.

Передавання даних

Коли сканування завершено, дані поміщаються в чергу для передавання до папки вихідних даних сканування. Дані тимчасово записуються на комп'ютер приладу. Під час запуску подальшого сканування тимчасова папка автоматично видаляється з комп'ютера приладу.

Час, необхідний для передавання даних, залежить від наявного мережевого підключення. Перед початком наступного сканування переконайтеся, що дані записано до папки вихідних даних. Для перевірки переконайтеся, що файли GTC присутні в папці зі штрих-кодом. Додаткову інформацію див. в розділі *Структура папки вихідних даних сканування* на стор. 68.

Якщо з'єднання переривається, після його відновлення передавання даних продовжується автоматично.

Розділ 5. Технічне обслуговування

У цьому розділі описано процедури, потрібні для підтримки системи в справному стані, зокрема з промивання, що виконується для технічного обслуговування, і оновлення програмного забезпечення. Постійне оновлення керівного програмного забезпечення гарантує, що в системі встановлено останні виправлення помилок і функції для забезпечення оптимальної продуктивності.

Вступ

Процедури технічного обслуговування включають ручне промивання приладу, заміну повітряного фільтра й оновлення програмного забезпечення системи, якщо вони доступні.

- ▶ **Промивання приладу** — автоматичне промивання після кожного прогону секвенування підтримує продуктивність приладу. Однак за певних умов є необхідність у періодичному ручному промиванні. Див. розділ *Виконання ручного промивання на стор. 36*.
- ▶ **Оновлення програмного забезпечення** — якщо доступна оновлена версія програмного забезпечення системи, оновлення можна встановити автоматично одним із таких двох способів.
 - ▶ За допомогою підключення до BaseSpace Sequence Hub.
 - ▶ Уручну після завантаження установника з вебсайту компанії Illumina. Див. розділ *Оновлення програмного забезпечення на стор. 40*.
- ▶ **Заміна повітряного фільтра** — для приладів із повітряним фільтром, доступним із задньої панелі, регулярна заміна повітряного фільтра забезпечує належний повітряний потік через прилад.

Профілактичне обслуговування

Компанія Illumina рекомендує планувати профілактичне обслуговування щороку. Якщо у вас немає контракту на обслуговування, зверніться до свого територіального менеджера з роботи з клієнтами (Territory Account Manager) або служби технічної підтримки компанії Illumina, щоб домовитися про платне профілактичне обслуговування.

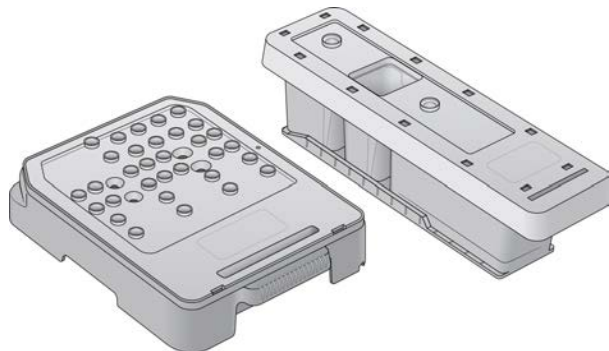
Виконання ручного промивання

Ручне промивання запускається з головного екрана. Варіанти промивання — Quick Wash (Швидке промивання) і Manual Post-Run Wash (Ручне промивання після прогону).

Типи промивання	Опис
Quick Wash (Швидке промивання) Тривалість: 20 хвилин	Система промивається миючим розчином хімічно чистої води й Tween 20 (буферний промивний картридж), що замовляє користувач. <ul style="list-style-type: none">• Кожні 14 днів потрібно, щоб прилад простоював зі встановленим картриджем із реагентами й картриджем із буферами.• Кожні сім днів потрібно, щоб прилад перебував у сухому стані (картридж із реагентами й картридж із буферами знято).• Потрібне після завершення роботи.
Manual Post-Run Wash (Ручне промивання після прогону) Тривалість: 90 хвилин	Система промивається миючим розчином хімічно чистої води й Tween 20 (буферний промивний картридж) і гіпохлоритом натрію 0,12 % (картридж для промивання реагентів), що замовляє користувач. Необхідне, якщо після прогону не виконувалось автоматичне промивання.

Для ручного промивання потрібні картридж для промивання реагентів і буферний промивний картридж, що постачаються з приладом, і використана проточна кювета. Використану проточну кювету можна використовувати до 20 разів для промивання приладу.

Рисунок 25 Картридж для промивання реагентів і буферний промивний картридж



Підготовка до ручного промивання після прогону

Витратні матеріали, що замовляє користувач	Обсяг і опис
<ul style="list-style-type: none"> • NaOCl 	1 мл, розведений до концентрації 0,12 % Завантажений у картридж для промивання реагентів (позиція № 28)
<ul style="list-style-type: none"> • Tween 20 100 % • Хімічно чиста вода 	Використовується для приготування 125 мл 0,05 %-го м'якого розчину Tween 20 Завантажений у буферний промивний картридж (центральний резервуар)

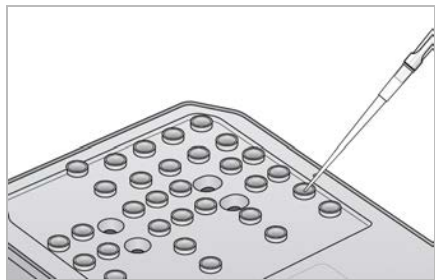


ПРИМІТКА

Завжди використовуйте свіжорозведений NaOCl, приготований протягом останніх **24 годин**. Якщо ви підготуєте обсяг більше 1 мл, зберігайте залишок розведення за температури від 2 °C до 8 °C для використання протягом наступних 24 годин. Інакше утилізуйте розведення NaOCl, що залишилося.

- 1 Об'єднайте наведені далі обсяги в мікроцентрифужній пробірці, щоб отримати 1 мл NaOCl 0,12 %:
 - ▶ NaOCl 5 % (24 мкл)
 - ▶ Хімічно чиста вода (976 мкл)
- 2 Переверніть пробірку, щоб перемішати вміст.
- 3 Додайте 1 мл 0,12 %-го NaOCl до картриджа для промивання реагентів. Правильний резервуар відповідає положенню № **28** на попередньо заповненому картриджі.

Рисунок 26 Завантажте NaOCl



- 4 Об'єднайте вказані нижче обсяги, щоб отримати миючий розчин Tween 20 0,05 %.
 - ▶ Tween 20 100 % (62 мкл)
 - ▶ Хімічно чиста вода (125 мкл)
- 5 Додайте 125 мл розчину для промивання до центрального резервуара буферного промивного картриджа.
- 6 Виберіть спочатку **Perform Wash** (Виконати промивання), а потім — **Manual Post-Run Wash** (Ручне промивання після прогону).

Підготовка до швидкого промивання

Витратні матеріали, що замовляє користувач	Обсяг і опис
<ul style="list-style-type: none"> • Tween 20 100 % • Хімічно чиста вода 	Використовується для приготування 40 мл 0,05 %-го миючого розчину Tween 20. Завантажена в буферний промивний картридж (центральный резервуар).

- 1 Об'єднайте вказані нижче обсяги, щоб отримати миючий розчин Tween 20 0,05 %.
 - ▶ Tween 20 100 % (20 мкл)
 - ▶ Хімічно чиста вода (40 мл)
- 2 Додайте 40 мл розчину для промивання до центрального резервуара буферного промивного картриджа.
- 3 Виберіть спочатку **Perform Wash** (Виконати промивання), а потім — **Quick Wash** (Швидке промивання).

Завантаження використаної проточної кювети й промивних картриджів

- 1 Якщо використана проточна кювета відсутня, завантажте її. Виберіть спочатку **Load** (Завантажити), а потім — **Next**(Далі).

- 2 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів і утилізуйте вміст відповідно до застосовних стандартів.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі можуть спричинити шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема засоби захисту очей, рукавички та лабораторний одяг з урахуванням ризику впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосовних регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html.

- 3 Уставте порожній контейнер для відпрацьованих реагентів у буферний відсік до упору.
- 4 Вийміть використаний у попередньому прогоні картридж із буферами, якщо він є.
- 5 Завантажте буферний промивний картридж, що містить розчин для промивання.
- 6 Вийміть використаний у попередньому прогоні картридж із реагентами, якщо він є.
- 7 Завантажте картридж для промивання реагентів.
- 8 Виберіть **Next** (Далі). Перевірка, що виконується перед промиванням, почнеться автоматично.

Запуск промивання

- 1 Виберіть **Start** (Запуск).
- 2 Після завершення промивання виберіть **Home** (Головний екран).

Після промивання

Після промивання сіппери залишаються в нижньому положенні, щоб запобігти потраплянню повітря в систему. Залиште картриджі на місці до наступного прогону.

Заміна повітряного фільтра

Для приладів із повітряним фільтром, доступ до якого здійснюється ззаду, повітряний фільтр забезпечує проходження повітря через прилад. Програмне забезпечення відображає повідомлення про заміну повітряного фільтра кожні 90 днів. У відповідь на запит виберіть **Remind in 1 day** (Нагадати через 1 день) або виконайте наведену далі процедуру й виберіть **Filter Changed** (Фільтр змінено). Після вибору **Filter Changed** зворотний відлік 90 днів скидається.

- 1 Дістаньте новий повітряний фільтр з упаковки й напишіть дату його установки на рамі фільтра.
- 2 На задній панелі приладу натисніть на верхню частину лотка фільтра, щоб звільнити лоток.
- 3 Візьміться за верхню частину лотка фільтра й потягніть її угору, щоб повністю вийняти лоток із приладу.
- 4 Зніміть і викиньте старий повітряний фільтр.
- 5 Уставте новий повітряний фільтр у лоток.

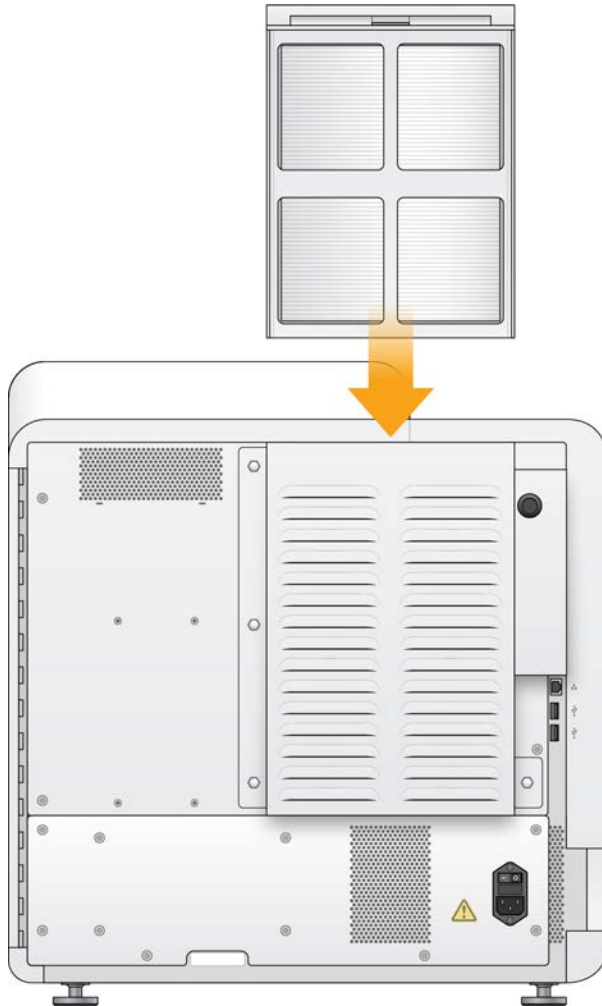


ПРИМІТКА

Повітряний фільтр не працює належним чином, якщо його встановлено задом наперед. Переконайтеся, що повітряний фільтр уставлено в лоток так, щоб було видно зелену стрілку вгору, а попереджувальну етикетку — не було видно. Стрілка має вказувати на ручку лотка фільтра.

- Уставте лоток фільтра в прилад. Натисніть на верхню частину лотка фільтра, щоб зафіксувати лоток на місці.

Рисунок 27 Уставлення повітряного фільтра




Оновлення програмного забезпечення

Оновлення програмного забезпечення — частина пакета програмного забезпечення System Suite, який містить указані нижче програми.

- ▶ NextSeq Control Software (NCS).
- ▶ Набори параметрів NextSeq.
- ▶ Програмне забезпечення Local Run Manager.
- ▶ RTA2.

- ▶ NextSeq Service Software (NSS).
- ▶ Universal Copy Service.
- ▶ Драйвер Direct Memory Access (DMA).

Оновлення програмного забезпечення можна встановлювати автоматично, використовуючи інтернет-з'єднання, або вручну з мережі чи USB-пристрою.

- ▶ **Автоматичні оновлення** — для приладів, підключених до мережі з доступом до Інтернету, коли є оновлення, на кнопці Manage Instrument (Керування приладом) на головному екрані з'являється значок  попередження.
- ▶ **Оновлення вручну** — завантажте установник System Suite зі [сторінки підтримки NextSeq 550](#) на вебсайті компанії Illumina. Якщо планується виконати оновлення вручну, обов'язково завершіть його, перш ніж готувати зразки й витратні матеріали для прогону секвенування.

Автоматичне оновлення програмного забезпечення

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Software Update** (Оновлення програмного забезпечення).
- 3 Виберіть **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Установити оновлення, уже завантажене з BaseSpace).
- 4 Щоб почати оновлення, виберіть **Update** (Оновити). Відкриється діалогове вікно для підтвердження команди.
- 5 Дотримуйтесь інструкцій майстра встановлення.
 - a Прийміть умови ліцензійної угоди.
 - b Перегляньте нотатки про випуск.
 - c Перегляньте список програмного забезпечення, яке міститься в оновленні.

Після завершення оновлення керівне програмне забезпечення автоматично перезапуститься.



ПРИМІТКА

Якщо оновлення містить вбудоване програмне забезпечення, після його оновлення потрібен автоматичний перезапуск системи.

Оновлення програмного забезпечення вручну

- 1 Завантажте установник System Suite із вебсайту компанії Illumina й збережіть його в мережевому розташуванні.
Також можна скопіювати файл установлення програмного забезпечення на портативний USB-накопичувач.
- 2 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 3 Виберіть **Software Update** (Оновлення програмного забезпечення).
- 4 Виберіть **Manually install the update from the following location** (Уручну встановити оновлення з указанного місця розташування).
- 5 Виберіть спочатку **Browse** (Огляд), щоб перейти до місця розташування файлу встановлення програмного забезпечення, а потім — **Update** (Оновити).

6 Дотримуйтесь інструкцій майстра встановлення.

- a Прийміть умови ліцензійної угоди.
- b Перегляньте нотатки про випуск.
- c Перегляньте список програмного забезпечення, яке міститься в оновленні.

Після завершення оновлення керівне програмне забезпечення автоматично перезапуститься.



ПРИМІТКА

Якщо оновлення містить вбудоване програмне забезпечення, після його оновлення потрібен автоматичний перезапуск системи.

Завершення роботи приладу

1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).



ПРИМІТКА

Щоб завершити роботу приладу NextSeq 550Dx у дослідному режимі, див. розділ *Параметри перезавантаження й завершення роботи NextSeq 550Dx* на стор. 71.

2 Виберіть **Shutdown Options** (Параметри завершення роботи).

3 Виберіть **Shutdown** (Завершити роботу).

Команда Shut Down (Завершити роботу) безпечно завершує роботу програмного забезпечення й вимикає живлення приладу. Зачекайте не менше 60 секунд, перш ніж знову вмикати прилад.



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Не змінюйте розташування приладу. Неправильне переміщення приладу може вплинути на оптичне вирівнювання й порушити цілісність даних. Якщо вам потрібно перемістити прилад, зверніться до представника компанії Illumina.

Додаток А. Пошук і виправлення несправностей

Вступ	43
Файли для пошуку й усунення несправностей	43
Усунення помилок автоматичної перевірки	45
Контейнер для відпрацьованих реагентів переповнено	47
Процес повторної гібридизації	48
Помилки BeadChip і сканування	50
Користувацькі набори параметрів і папки з наборами параметрів	51
Перевірка системи	52
Повідомлення про помилку RAID	54
Помилка мережевого сховища	54
Налаштування параметрів системи	55

Вступ

З технічних питань відвідайте сторінки підтримки NextSeq 550 на вебсайті компанії Illumina.

Сторінки підтримки надають доступ до документації, завантажень і актуальних запитань.

Для доступу до бюлетенів підтримки ввійдіть у свій обліковий запис MyIllumina.

У разі проблем з якістю або продуктивністю прогону зверніться до служби технічної підтримки компанії Illumina. Див. розділ *Технічна допомога на стор. 77*.

Щоб полегшити пошук і усунення несправностей, розгляньте можливість поділитися посиланням на зведення з прогону в BaseSpace Sequence Hub зі службою технічної підтримки компанії Illumina. Ви також можете допомогти в пошуку й усуненні несправностей, коли служба моніторингу Illumina Proactive активна. Додаткову інформацію про цю службу див. в розділі *Установлення параметра надсилання даних про продуктивність приладу на стор. 13*.

Файли для пошуку й усунення несправностей

Представник служби технічної підтримки компанії Illumina може запитати копії файлів, специфічних для прогону або сканування, для пошуку й усунення проблем. Зазвичай для пошуку й усунення несправностей використовуються наведені далі файли.

Файли для пошуку й усунення несправностей для прогонів секвенування

Ключовий файл	Вкладена папка	Опис
Файл інформації про прогін (RunInfo.xml)	<Ім'я папки прогону>	Містить наведену нижче інформацію. <ul style="list-style-type: none">• Ім'я прогону.• Кількість циклів у прогоні.• Кількість циклів на кожне зчитування.• Чи зчитування індексоване.• Кількість смуг і сегментів на проточній кюветі.
Файл із параметрами прогону (RunParameters.xml)	<Ім'я папки прогону>	Містить інформацію про параметри й компоненти прогону. Інформація містить RFID, серійний номер, номер деталі й термін придатності.

Ключовий файл	Вкладена папка	Опис
Файл налаштування RTA (RTAConfiguration.xml)	Data\Intensities	Містить параметри налаштування RTA для прогону. Файл RTAConfiguration.xml створюється на початку прогону.
Файли InterOp (*.bin)	InterOp	Бінарні файли звітів, які використовуються для Sequencing Analysis Viewer. Файли InterOp оновлюються протягом усього прогону.
Файли журналу	Logs	У файлах журналів описується кожен етап, що прилад виконує для кожного циклу, і перераховуються версії програмного й мікропрограмного забезпечення, використані під час виконання прогону. Файл з ім'ям [Назва_приладу]_CurrentHardware.csv містить серійні номери компонентів приладу.
Файли журналу помилок (*ErrorLog*.txt)	RTA Logs	Журнал помилок RTA. Файли журналу помилок оновлюються кожного разу під час виникнення помилки.
Файли глобального журналу (*GlobalLog*.tsv)	RTA Logs	Журнал усіх подій RTA. Файли глобального журналу оновлюються протягом усього прогону.
Файли журналу доріжки (*LaneLog*.txt)	RTA Logs	Журнал подій обробки RTA. Файли журналу доріжки оновлюються протягом усього прогону.

Помилки RTA

Щоб усунути помилки RTA, спочатку перевірте журнал помилок RTA, який зберігається в папці RTALogs. Цей файл відсутній для успішних прогонів. Файли розташовано в специфічних для прогону папках, розміщених у папці вихідних даних. Додавайте журнал помилок, коли повідомляєте про проблеми до служби технічної підтримки компанії Illumina.

Файли для пошуку й усунення несправностей для сканування масиву

Ключовий файл	Вкладена папка	Опис
Файл із параметрами сканування (ScanParameters.xml)	<Ім'я папки прогону>	Містить інформацію про параметри сканування. Інформація містить дату сканування, штрих-код BeadChip, місце розташування файлу кластерів і місце розташування файлу представлення.
Файли журналу	Logs	Файли журналу описують кожен етап, виконаний на приладі під час сканування.
Файли показників	[Штрих-код]	Показники надаються як показники зразка та як показники розділу. [штрих-код]_sample_metrics.csv — для кожного зразка й каналу (червоного й зеленого) перераховано Percent Off Image, Percent Outliers, P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev і Min Registration Score. [штрих-код]_section_metrics.csv — для кожного розділу й сегмента перераховано Laser Z-position, Through Focus Z-position, Red FWHM, Green FWHM, Red Avg Pixel Intensity, Green Avg Pixel Intensity, Red Registration Score і Green Registration Score.

Ключовий файл	Вкладена папка	Опис
Файл повторного сканування	[Штрих-код]	[штрих-код]_rescan.flowcell — перелічує розташування сегментів, скорегованих для повторного сканування, зокрема збільшене накладання сегментів один на одного.

Усунення помилок автоматичної перевірки

Якщо під час автоматичної перевірки виникають помилки, для їх усунення використовуйте такі рекомендовані дії. Автоматичні перевірки розрізняються для секвенування й сканування масивів.

Якщо перевірку перед прогоном виконано з помилкою, RFID-позначка картриджа з реагентами не блокується та її можна використовувати для подальшого прогону. Проте RFID-позначка блокується після проколювання фольгових ущільнень.

Перевірки системи	Рекомендовані дії
Дверцята зачинено	Переконайтеся, що дверцята відсіку зачинено.
Витратні матеріали завантажено	Датчики не реєструють витратні матеріали. Переконайтеся, що кожен витратний матеріал правильно завантажено. На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу завантаження, і повторіть налаштування прогону.
Необхідне програмне забезпечення	Відсутні критично важливі компоненти програмного забезпечення. Оновіть програмне забезпечення вручну, щоб відновити всі його компоненти.
Місце на диску приладу	На жорсткому диску приладу недостатньо місця для виконання прогону. Можливо, дані з попереднього прогону не було передано. Зітріть дані прогону з жорсткого диска приладу.
Мережеве з'єднання	Мережеве з'єднання перервано. Перевірте стан мережі й фізичне мережеве з'єднання.
Мережеве дискове місце	Заповнено або обліковий запис BaseSpace, або мережевий сервер.
Температура	Рекомендовані дії
Температура	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Датчики температури	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Вентилятори	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Система візуалізації	Рекомендовані дії
Межі візуалізації	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Пересування й зупинення по осі Z	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Частота виникнення бітових помилок	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Реєстрація проточної кювети	Можливо, що проточну кювету встановлено неправильно. <ul style="list-style-type: none"> На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу проточної кювети. Дверцята відсіку для візуалізації відкриваються. Вивантажте й перезавантажте проточну кювету, щоб переконаватися, що її встановлено правильно.

Доставка реагентів	Рекомендовані дії
Реакція клапана	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Насос	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Буферний механізм	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Видалення відпрацьованих реагентів	Спорожніть контейнер для відпрацьованих реагентів і перезавантажте порожній контейнер.

Перевірки для прогонів секвенування

Якщо перевірку перед прогоном виконано з помилкою, RFID-позначка картриджа з реагентами не блокується та її можна використовувати для подальшого прогону. Проте RFID-позначка блокується після проколювання фольгових ущільнень.

Перевірки системи	Рекомендовані дії
Дверцята зачинено	Переконайтеся, що дверцята відсіку зачинено.
Витратні матеріали завантажено	Датчики не реєструють витратні матеріали. Переконайтеся, що кожен витратний матеріал правильно завантажено. На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу завантаження, і повторіть налаштування прогону.
Необхідне програмне забезпечення	Відсутні критично важливі компоненти програмного забезпечення. Оновіть програмне забезпечення вручну, щоб відновити всі його компоненти.
Місце на диску приладу	На жорсткому диску приладу недостатньо місця для виконання прогону. Можливо, дані з попереднього прогону не було передано. Зітріть дані прогону з жорсткого диска приладу.
Мережеве з'єднання	Мережеве з'єднання перервано. Перевірте стан мережі й фізичне мережеве з'єднання.
Мережеве дискове місце	Заповнено або обліковий запис BaseSpace, або мережевий сервер.

Температура	Рекомендовані дії
Температура	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Датчики температури	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Вентилятори	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.

Система візуалізації	Рекомендовані дії
Межі візуалізації	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Пересування й зупинення по осі Z	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Частота виникнення бітових помилок	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Реєстрація проточної кювети	Можливо, що проточну кювету встановлено неправильно. <ul style="list-style-type: none"> На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу проточної кювети. Дверцята відсіку для візуалізації відкриваються. Вивантажте й перезавантажте проточну кювету, щоб переконаватися, що її встановлено правильно.

Доставка реагентів	Рекомендовані дії
Реакція клапана	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Насос	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Буферний механізм	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Видалення відпрацьованих реагентів	Спорожніть контейнер для відпрацьованих реагентів і перезавантажте порожній контейнер.

Перевірки для сканування масиву

Перевірки системи	Рекомендовані дії
Дверцята зачинено	Переконайтеся, що дверцята відсіку зачинено.
Витратні матеріали завантажено	Датчики не реєструють витратні матеріали. Переконайтеся, що кожен витратний матеріал правильно завантажено. На екранах налаштування прогону виберіть Back (Назад), щоб повернутися до етапу завантаження, і повторіть налаштування прогону.
Необхідне програмне забезпечення	Відсутні критично важливі компоненти програмного забезпечення. Оновіть програмне забезпечення вручну, щоб відновити всі його компоненти.
Перевірка файлів вхідних даних	Переконайтеся, що шлях до файлу кластерів і файлу представлення правильний і файли присутні.
Місце на диску приладу	На жорсткому диску приладу недостатньо місця для виконання прогону. Можливо, дані з попереднього прогону не було передано. Зітріть дані прогону з жорсткого диска приладу.
Мережеве з'єднання	Мережеве з'єднання перервано. Перевірте стан мережі й фізичне мережеве з'єднання.
Мережеве дискове місце	Заповнено або обліковий запис BaseSpace, або мережевий сервер.

Система візуалізації	Рекомендовані дії
Межі візуалізації	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Пересування й зупинення по осі Z	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Частота виникнення бітових помилок	Зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Автоматичне центрування	Зніміть адаптер BeadChip. Переконайтеся, що BeadChip встановлено в адаптер, а потім перезавантажте адаптер.

Контейнер для відпрацьованих реагентів переповнено

Завжди починайте прогін із порожнім контейнером для відпрацьованих реагентів.

Якщо запустити прогін без спорожнення контейнера для відпрацьованих реагентів, то коли контейнер заповнено, датчики системи надають програмному забезпеченню команду призупинити прогін. Датчики системи не можуть призупинити прогін під час кластеризації, повторного синтезу парних кінцевих фрагментів або автоматичного промивання після прогону.

Коли прогін призупиняється, відкривається діалогове вікно з параметрами, що дають змогу підняти сиппери й спорожнити заповнений контейнер.

Спорожнення контейнера для відпрацьованих реагентів

- 1 Виберіть **Raise Sippers** (Підняти сиппери).
- 2 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів й утилізуйте вміст відповідним чином.
- 3 Поверніть порожній контейнер у буферний відсік.
- 4 Виберіть **Continue** (Продовжити). Прогін відновиться автоматично.

Процес повторної гібридизації

Може знадобитися прогін повторної гібридизації, якщо показники, отримані протягом перших кількох циклів, показують інтенсивність нижче 2500. Деякі бібліотеки з низькою різноманітністю можуть демонструвати значення інтенсивності нижче 1000. Це очікуваний результат, і в такій ситуації повторна гібридизація не допоможе.



ПРИМІТКА

Команда End Run (Завершити прогін) остаточна. Прогін не може бути відновлено, витратні матеріали прогону не можна використовувати повторно, і дані секвенування з прогону не зберігаються.

Під час завершення прогону програмне забезпечення виконує вказані нижче етапи до його завершення.

- ▶ Переводить проточну кювету в безпечний стан.
- ▶ Розблоковує RFID проточної кювети для наступного прогону.
- ▶ Призначає проточній кюветі дату завершення терміну повторної гібридизації.
- ▶ Записує журнали виконання прогону для завершених циклів. Затримка — це нормально.
- ▶ Пропускає автоматичне промивання після прогону.

Під час запуску прогону повторної гібридизації програма виконує вказані нижче етапи виконання прогону.

- ▶ Створює папку прогону на основі його унікального імені.
- ▶ Перевіряє, чи не минула дата повторної гібридизації проточної кювети.
- ▶ Підготує реагенти. Затримка — це нормально.
- ▶ Пропускає етап кластеризації.
- ▶ Видаляє попередній праймер зчитування 1.
- ▶ Гібридує свіжий праймер зчитування 1.
- ▶ Продовжує зчитування 1 і решту прогону на основі зазначених параметрів прогону.

Точки завершення прогону для повторної гібридизації

Подальша повторна гібридизація можлива тільки в тому випадку, якщо ви завершите прогін у наведених нижче точках.

- ▶ **Після циклу 5** — після реєстрації шаблону з'являються значення інтенсивності, що вимагає перших п'яти циклів секвенування. Незважаючи на те, що завершувати прогін після циклу 1 безпечно, рекомендується робити це після циклу 5. Не завершуйте прогін під час генерування кластерів.

- ▶ **Зчитування 1 або зчитування індексу 1** — завершіть прогін **до** початку повторного синтезу парних кінцевих фрагментів. Проточну кювету не може бути збережено для подальшої повторної гібридизації після початку повторного синтезу парних кінцевих фрагментів.

Необхідні витратні матеріали

Незалежно від того, коли прогін було зупинено, для прогону повторної гібридизації потрібні нові картридж із реагентами та картридж із буферами NextSeq.

Завершення поточного прогону

- 1 Виберіть **End Run** (Завершити прогін). Коли буде запропоновано підтвердити команду, виберіть **Yes** (Так).
- 2 Коли буде запропоновано зберегти проточну кювету, виберіть **Yes** (Так). Збереження проточної кювети не гарантує, що поточний прогін можна буде використовувати повторно. Зверніть увагу на термін придатності для повторної гібридизації.
- 3 Вийміть збережену проточну кювету, відкладіть її та залишайте за температури від 2 °C до 8 °C доти, доки не будете готові налаштувати прогін повторної гібридизації.



ПРИМІТКА

Ви можете зберігати проточну кювету до семи днів за температури від 2 °C до 8 °C в пластиковому двостулковому контейнері **без** пакування з поглиначем вологи. Щоб досягти найкращих результатів, повторно гібридизуйте збережену проточну кювету не пізніше ніж через три дні.

Виконання ручного промивання

- 1 На головному екрані виберіть **Perform Wash** (Виконати промивання).
- 2 На екрані Wash Selection (Вибір промивання) виберіть **Manual Post-Run Wash** (Ручне промивання після прогону). Див. розділ *Виконання ручного промивання на стор. 36*.



ПРИМІТКА

Якщо ви не витягли картридж із реагентами й картридж із буферами під час зупинки прогону, їх можна використовувати для ручного промивання. Інакше виконайте ручне промивання за допомогою картриджа для промивання реагентів і буферного промивного картриджа.

Налаштування прогону на приладі

- 1 Підготуйте новий картридж із реагентами.
- 2 Якщо збережена проточна кювета була на зберіганні, дайте їй досягти кімнатної температури (15–30 хвилин).
- 3 Очистьте й завантажте збережену проточну кювету.
- 4 Видаліть контейнер для відпрацьованих реагентів і утилізуйте вміст відповідним чином, а потім перезавантажте порожній контейнер.
- 5 На екрані Run Setup (Налаштування прогону) виберіть один з указаних нижче режимів прогону.
 - ▶ Local Run Manager.
 - ▶ Ручний режим.

- 6 **[Необов'язково.]** Виберіть **Use BaseSpace Sequence Hub Setting** (Використовувати налаштування BaseSpace Sequence Hub) і один із таких варіантів.
 - ▶ Моніторинг і зберігання прогону.
 - ▶ Лише моніторинг прогону.Уведіть ім'я користувача й пароль BaseSpace Sequence Hub.
- 7 Завантажте новий картридж із буферами та картридж із реагентами.
- 8 Виберіть **Next** (Далі), щоб перейти до перевірки перед прогоном і запустити прогін.

Помилки BeadChip і сканування

Програмне забезпечення не може зчитати штрих-код BeadChip

Коли з'явиться діалогове вікно з помилкою штрих-коду, виберіть один із наведених нижче параметрів.

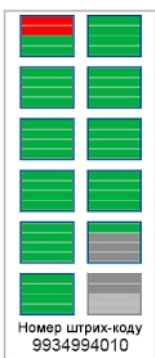
- ▶ Виберіть **Rescan** (Повторне сканування). Програмне забезпечення спробує знову прочитати штрих-код.
- ▶ Виберіть текстове поле та введіть числовий штрих-код, як показано на рисунку. Залежно від BeadChip номери штрих-кодів можуть містити до 12 цифр. Виберіть **Save** (Зберегти). Зображення штрих-коду зберігається в папці вихідних даних.
- ▶ Виберіть **Cancel** (Скасування). Дверцята відсіку для візуалізації відкриваються, щоб вивантажити адаптер BeadChip.

Помилка сканування BeadChip

Зображення реєструються після сканування. Під час реєстрації гранули ідентифікуються зіставленням розташування на відсканованому зображенні з інформацією, наданою в карті гранул або в папці DMAP.

Розділи, реєстрацію яких виконано з помилками, на зображенні BeadChip позначено червоним кольором.

Рисунок 28 BeadChip із розділами, які містять помилки



Після завершення сканування й записування даних сканування до папки вихідних даних кнопка **Rescan** (Повторне сканування) стає активною.

Після натискання кнопки **Rescan** (Повторне сканування) програмне забезпечення виконує наведені нижче дії.

- ▶ Повторно сканує зразки з помилковими розділами, використовуючи збільшене накладання сегментів один на одного.
- ▶ Створює файли вихідних даних у початковій папці вихідних даних.
- ▶ Перезаписує попередні файли вихідних даних для розділів із помилками.
- ▶ Для кожного повторного сканування збільшує лічильник сканування на одиницю, але робить це у фоновому режимі. Програмне забезпечення не перейменовує папку вихідних даних.

Виконання повторного сканування або запуск нового сканування

- 1 Виберіть **Rescan** (Повторне сканування), щоб сканувати зразки, що містять сегменти з помилками.
- 2 Якщо сканування, як і раніше, не вдається, завершіть сканування.
- 3 Зніміть BeadChip і адаптер і огляньте BeadChip на наявність пилу або сміття. Щоб видалити сміття, використовуйте стиснене повітря з балончика або інший метод очищення стисненим повітрям.
- 4 Перезавантажте BeadChip і запустіть нове сканування.
Коли запускається нове сканування, програмне забезпечення виконує наведені нижче етапи.
 - ▶ Сканування всього BeadChip.
 - ▶ Створення файлів вихідних даних у новій папці вихідних даних.
 - ▶ Збільшення лічильника сканування на одиницю від показань лічильника сканування останнього повторного сканування.

Заміна файлів представлення й файлів кластерів

- 1 Перейдіть на сторінку підтримки Illumina (support.illumina.com) для BeadChip, що використовується, і виберіть вкладку **Downloads** (Завантаження).
- 2 Завантажте файли, які потрібно замінити або оновити, і скопіюйте їх до потрібного місця в мережі.



ПРИМІТКА

Переконайтеся, що вибрано файли представлення й кластерів, сумісні із системою NextSeq 550. Сумісні файли містять в імені текст **NS550**.

- 3 Тільки якщо місце розташування змінилося, оновіть розташування на екрані налаштування сканування BeadChip, як указано нижче.
 - a На головному екрані NCS виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
 - b Виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
 - c Виберіть **BeadChip Scan Configuration** (Налаштування сканування BeadChip).
- 4 Виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до місця розташування заміненних або оновлених файлів.

Користувацькі набори параметрів і папки з наборами параметрів

Не змінюйте вихідні набори параметрів. Завжди робіть копію вихідного набору параметрів під новим ім'ям. Якщо вихідний набір параметрів змінено, програма оновлення програмного забезпечення більше не зможе розпізнавати набір параметрів для пізніших оновлень і новіші версії

не встановлюватимуться.

Зберігайте користувацькі набори параметрів у відповідній папці з наборами параметрів. Папки з наборами параметрів організовано таким способом.

Custom

High — користувацькі набори параметрів, які використовуються з набором із високим вихідним рівнем.

Mid — користувацькі набори параметрів, які використовуються з набором із середнім вихідним рівнем.

High — вихідні набори параметрів, які використовуються з набором із високим вихідним рівнем.

Mid — вихідні набори параметрів, які використовуються з набором із середнім вихідним рівнем.

Wash — містить набір параметрів ручного промивання.

Перевірка системи

Для нормальної роботи або технічного обслуговування приладу перевірка системи не потрібна. Однак представник служби технічної підтримки Illumina може попросити вас виконати перевірку системи з метою пошуку й усунення неполадок.

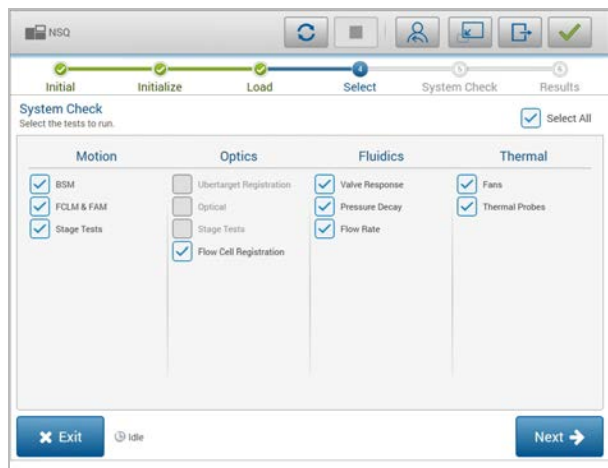


ПРИМІТКА

Якщо прилад потрібно промити, виконайте це перед початком перевірки системи.

Запуск перевірки системи автоматично закриває керівне програмне забезпечення й запускає сервісне програмне забезпечення NextSeq Service Software (NSS). Сервісне програмне забезпечення запускається й відкривається на екрані завантаження, налаштованому на використання функції розширеного завантаження.

Рисунок 29 Доступні перевірки системи



Неактивні прапорці на екрані Select (Вибір) указують на тести, для виконання яких потрібна допомога від виїзного представника компанії Illumina.

Виконання перевірки системи

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Check** (Перевірка системи). Коли буде запропоновано закрити керівне програмне забезпечення, виберіть **Yes** (Так).
- 2 Завантажте витратні матеріали, як указано нижче.
 - a Якщо використану проточну кювету ще не встановлено на приладі, завантажте її.



ПРИМІТКА

Для перевірки системи компанія Illumina рекомендує використовувати кювету з високим вихідним потоком.

- b Випорожніть контейнер для відпрацьованих реагентів і поверніть його в прилад.
 - c Завантажте буферний промивний картридж, що містить 120 мл хімічно чистої води в центральному резервуарі.
 - d Завантажте картридж для промивання реагентів. Переконайтеся, що картридж для промивання реагентів порожній і чистий.
- 3 Виберіть **Load** (Завантажити). Програмне забезпечення переміщує проточну кювету й картридж для промивання реагентів у потрібне положення. Виберіть **Next** (Далі).
 - 4 Виберіть **Next** (Далі). Перевірка системи починається.
 - 5 **[Необов'язково.]** Після завершення перевірки системи виберіть **View** (Перегляд) поруч з ім'ям перевірки, щоб переглянути значення, пов'язані з кожною перевіркою.
 - 6 Виберіть **Next** (Далі). Відкриється звіт про перевірку системи.
 - 7 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб зберегти звіт в архівному файлі. Перейдіть до мережевого розташування, щоб зберегти файл.
 - 8 Після завершення виберіть **Exit** (Вихід).
 - 9 Коли буде запропоновано закрити сервісне програмне забезпечення й перезапустити керівне програмне забезпечення, виберіть **Yes** (Так). Керівне програмне забезпечення автоматично перезапуститься.

Перевірки руху

Перевірка системи	Опис
BSM	Перевіряє посилення й відстань від механізму Buffer Straw Mechanism (BSM), щоб переконатися, що модуль працює правильно.
FCLM і FAM	Перевіряє посилення й відстань від механізму Flow Cell Load Mechanism (FCLM) і модуля Fluid Automation Module (FAM), щоб переконатися, що модулі працюють правильно.
Тести платформи	Перевіряє межі ходу й продуктивність XY-платформи й 6 Z-платформ, по одній для кожної камери.

Перевірка оптики

Перевірка системи	Опис
Реєстрація проточної кювети	Вимірюється нахил проточної кювети в оптичній площині, перевіряється функціональність камер, тестується модуль формування зображення й перевіряється реєстрація проточної кювети в правильному положенні формування зображення.

Перевірки системи струменевої логіки

Перевірка системи	Опис
Реакція клапана	Перевіряються точність руху клапана й насоса та діапазон переміщення шприца насоса.
Скидання тиску	Перевіряється швидкість витоку в герметичній системі струменевої логіки, завдяки чому підтверджується, що проточну кювету правильно встановлено в положенні секвенування.
Витрата	Перевіряється функціональність датчиків бульбашок, які використовуються для виявлення присутності повітря в лініях реагентів. Вимірюється витрата, щоб перевірити наявність закупорки або витоків.

Теплові перевірки

Перевірка системи	Опис
Вентилятори	Перевіряється швидкість системних вентиляторів в імпульсах за хвилину, щоб переконатися, що вентилятори працюють. Вентилятори, що не працюють, повертають негативне значення.
Теплові зонди	Перевіряється середня температура кожного термодатчика. Термодатчики, що не працюють, повертають негативне значення.

Повідомлення про помилку RAID

Комп'ютер NextSeq оснащено двома жорсткими дисками. Якщо жорсткий диск починає виходити з ладу, система виводить повідомлення про помилку RAID і пропонує звернутися до служби технічної підтримки компанії Illumina. Зазвичай потрібна заміна жорсткого диска.

Ви можете продовжити виконання етапів налаштування прогону й нормальну роботу. Мета повідомлення — заздалегідь скласти розклад обслуговування, щоб уникнути перерв у нормальній роботі приладу. Щоб продовжити роботу, виберіть спочатку **Acknowledge** (Підтвердити), а потім — **Close** (Закрити).

Помилка мережевого сховища

Помилки мережевого сховища — результат однієї з таких причин.

- ▶ **Недостатньо місця для зберігання папки вихідних даних** — збільште обсяг простору на пристрої зберігання або перемістіть папку вихідних даних до місця з достатнім обсягом пам'яті.
- ▶ **Неможливо з'єднатися з мережевим сховищем** — перевірте шлях до папки вихідних даних. Див. розділ *Налаштування розташування папки вихідних даних на стор. 56*.
- ▶ **Система не може записувати дані до мережевого сховища** — зверніться до свого адміністратора з інформаційних технологій для перевірки дозволів. Обліковий запис Windows в операційній системі приладу вимагає дозволу на зчитування даних із папки вихідних даних і записування даних до неї.

Обліковий запис Windows у Local Run Manager також вимагає дозволу на зчитування даних із папки вихідних даних і записування даних до неї. Див. розділ *Specify Service Account Settings («Указання параметрів облікового запису служби»)* у посібнику з програмного забезпечення *Local Run Manager (документ № 1000000002702)*.

Налаштування параметрів системи

Система налаштовується під час установлення. Однак якщо потрібна зміна або якщо систему необхідно переналаштувати, використовуйте параметри конфігурації системи.

- ▶ **Конфігурація мережі** — надаються параметри для налаштувань IP-адреси, адреси сервера доменних імен (DNS), імені комп'ютера й імені домену.
- ▶ **BaseSpace Sequence Hub** — якщо використовується BaseSpace Sequence Hub, у цьому розділі надаються параметри розташування, куди дані передаються для зберігання й аналізу.
- ▶ **Розташування папки вихідних даних** — надаються параметри шляху до папки вихідних даних.
- ▶ **Конфігурація сканування BeadChip** — надаються параметри для зазначення наведеної нижче інформації.
 - ▶ Стандартне розташування папки DMAP.
 - ▶ Розташування папки вихідних даних.
 - ▶ Формат файлу збережених зображень.
 - ▶ Тип файлу вихідних даних.

Налаштування мережі

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
- 2 Виберіть **Network Configuration** (Налаштування мережі).
- 3 Виберіть **Obtain an IP address automatically** (Отримувати IP-адресу автоматично), щоб отримати IP-адресу за допомогою DHCP-сервера.



ПРИМІТКА

Протокол DHCP (Dynamic Host Configuration Protocol, протокол динамічної конфігурації хоста) — це стандартний мережевий протокол, який використовується в IP-мережах для динамічного розподілу параметрів налаштування мережі.

Також можна вибрати **Use the following IP address** (Використовувати таку IP-адресу), щоб вручну підключити прилад до іншого сервера, як указано. Для отримання адрес, що використовуються у вашому закладі, зверніться до адміністратора мережі.

- ▶ Уведіть IP-адресу. IP-адреса — серія з чотирьох чисел, між якими ставиться крапка. Наприклад, 168.62.20.37.
 - ▶ Уведіть маску підмережі. Це підрозділ IP-мережі.
 - ▶ Уведіть стандартний шлюз (маршрутизатор у мережі, яка підключається до Інтернету).
- 4 Виберіть **Obtain a DNS server address automatically** (Отримувати адресу DNS-сервера автоматично), щоб підключити прилад до сервера доменних імен, пов'язаного з IP-адресою. Також можна вибрати **Use the following DNS server addresses** (Використовувати такі адреси DNS-серверів), щоб вручну підключити прилад до сервера доменних імен, як указано.
 - ▶ Уведіть бажану DNS-адресу. DNS-адреса — це ім'я сервера, яке використовується для перетворення доменних імен на IP-адреси.
 - ▶ Уведіть альтернативну DNS-адресу. Альтернативна адреса використовується, якщо бажаний DNS не може перетворити певне доменне ім'я на IP-адресу.

- 5 Виберіть **Save** (Зберегти), щоб перейти до екрана Computer (Комп'ютер).



ПРИМІТКА

Ім'я комп'ютера приладу присвоюється комп'ютеру приладу під час виготовлення. Будь-які зміни в імені комп'ютера можуть вплинути на підключення, унаслідок чого може знадобитися втручання адміністратора мережі.

- 6 Підключіть комп'ютер приладу до домену або робочої групи, як указано нижче.
 - ▶ **Для приладів, підключених до Інтернету**, — виберіть **Member of domain** (Учасник домену), а потім уведіть доменне ім'я, пов'язане з підключенням до Інтернету у вашому закладі. Для зміни домену потрібні ім'я користувача й пароль адміністратора.
 - ▶ **Для приладів, не підключених до Інтернету**, — виберіть **Member of work group** (Учасник робочої групи), а потім уведіть ім'я робочої групи. Ім'я робочої групи унікальне для вашого закладу.
- 7 Виберіть **Save** (Зберегти).

Установлення налаштування BaseSpace Sequence Hub

- 1 На головному екрані виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
- 3 Виберіть **BaseSpace Sequence Hub Configuration** (Налаштування BaseSpace Sequence Hub).
- 4 Виберіть один із наведених далі параметрів, щоб указати місце розташування, до якого дані передаються для аналізу.
 - ▶ З переліку хостингів виберіть розташування сервера, до якого передаються дані.
 - ▶ Якщо у вас є підписка Enterprise, установіть прапорець **Private Domain** (Приватний домен) і введіть доменне ім'я (URL), що використовується для єдиного входу в BaseSpace Sequence Hub.
Наприклад: https://ваша_лабораторія.basespace.illumina.com.
- 5 Виберіть **Save** (Зберегти).

Налаштування розташування папки вихідних даних

Для NextSeq необхідна папка вихідних даних для всіх прогонів. Використовуйте повний UNC-шлях (UNC — Universal Naming Convention) до папки вихідних даних. UNC-шлях містить дві зворотні скісні риски, ім'я сервера та ім'я каталогу, але **не** літеру для зіставленого мережевого диска.

- ▶ Шляхи до папки вихідних даних з одним рівнем вимагають зворотної скісної риски в кінці.
 - ▶ Приклад UNC-шляху: \\ім'я_сервера\каталог1\
- ▶ Шляхи до папки вихідних даних із кількома рівнями не вимагають зворотної скісної риски в кінці.
 - ▶ Приклад UNC-шляху: \\ім'я_сервера\каталог1\каталог2
- ▶ Шляхи до зіставленого мережевого диска викликають помилки. **Не використовуйте такі шляхи.**
 - ▶ Приклад шляху до зіставленого мережевого диска: T:\файли_sbs

Якщо використовується режим прогону Local Run Manager, установіть розташування папки вихідних даних у програмному забезпеченні Local Run Manager. Додаткову інформацію див. в посібнику з програмного забезпечення Local Run Manager (документ № 1000000002702).

Налаштування сканування BeadChip

- 1 На екрані Manage Instrument (Керування приладом) виберіть **System Configuration** (Налаштування системи).
- 2 Виберіть **BeadChip Scan Configuration** (Налаштування сканування BeadChip).
- 3 Щоб указати стандартне розташування папки DMAP, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до потрібного розташування папки в мережі вашої установи.



ПРИМІТКА

Перед кожним скануванням завантажуйте й копіюйте вміст DMAP до цього розташування. Вміст DMAP потрібний для кожного BeadChip і унікальний для кожного штрих-коду BeadChip.

- 4 Щоб указати стандартне розташування вихідних даних, виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до потрібного розташування в мережі вашої установи.
- 5 Виберіть формат файлу зображення для збережених зображень. Стандартний тип зображення — **JPG**.
- 6 Виберіть формат файлу вихідних даних для даних сканування. Стандартний тип файлу вихідних даних — **лише GTC**.
- 7 Виберіть **Save** (Зберегти).
- 8 На екрані Scan Map (Карта сканування) укажіть повний шлях до файлу представлення й файлу кластера для кожного типу BeadChip. Для кожного типу файлів виберіть **Browse** (Огляд) і перейдіть до розташування папки, у якій перебувають ці файли.

Додаток В. Real-Time Analysis

Огляд Real-Time Analysis	58
Робочий процес Real-Time Analysis	59

Огляд Real-Time Analysis

У NextSeq 550 використовується реалізація програмного забезпечення Real-Time Analysis (RTA) під назвою RTA2. RTA2 працює на комп'ютері приладу й визначає інтенсивність із зображень, виконує процедуру розпізнавання азотистих основ і призначає показник якості розпізнаним азотистим основам. RTA2 та керівне програмне забезпечення обмінюються даними через вебінтерфейс HTTP та спільні файли пам'яті. Якщо RTA2 зупинено, обробка не відновлюється й дані прогону не зберігаються.



ПРИМІТКА

Продуктивність демультимплексування не розраховується. Тому вкладка Index (Індекс) у Sequencing Analysis Viewer (SAV) не заповнюється.

Вхідні параметри RTA2

Для обробки RTA2 потребує введення вказаних нижче параметрів.

- ▶ Зображення сегментів, що містяться в локальній пам'яті системи.
- ▶ Файл **RunInfo.xml**, який створюється автоматично на початку прогону. Цей файл надає наведену нижче інформацію.
 - ▶ Ім'я прогону.
 - ▶ Кількість циклів.
 - ▶ Чи індексується зчитування.
 - ▶ Кількість сегментів на проточній кюветі.
- ▶ **RTA.exe.config**, файл конфігурації програмного забезпечення у форматі XML.

RTA2 отримує з керівного програмного забезпечення команди, які містять інформацію про розташування файлу **RunInfo.xml** і те, чи вказано необов'язкову папку вихідних даних.

Файли вихідних даних RTA вер. 2

Зображення для кожного каналу передаються в пам'ять у вигляді сегментів. Сегменти — це невеликі області візуалізації в проточній кюветі, які визначаються як поле зору камери. З цих зображень програмне забезпечення створює вихідні дані у вигляді набору файлів розпізнаних азотистих основ і файлів фільтрованих даних із присвоєними показниками якості. Усі інші файли підтримують файли вихідних даних.

Тип файлу	Опис
Файли розпізнаних азотистих основ	До об'єднаного файлу розпізнаних азотистих основ (*.bcf) додається кожний проаналізований сегмент для кожної доріжки й кожного циклу. Об'єднаний файл розпізнаних азотистих основ містить дані розпізнавання азотистих основ і пов'язаний із ними показник якості для кожного кластера в цій доріжці.
Файли фільтрованих даних	Кожен сегмент створює інформацію про фільтр, яка об'єднується в один файл фільтрованих даних (*.filter) для кожної доріжки. Файл фільтрованих даних указує, чи пройшов кластер фільтри.

Тип файлу	Опис
Файли розташування кластерів	Файли розташування кластерів (*.locs) містять координати X,Y для кожного кластера в сегменті. Файл розташування кластерів створюється для кожної доріжки під час генерування шаблону.
Файли індексів розпізнаних азотистих основ	Файл індексів розпізнаних азотистих основ (*.bci) створюється для кожної доріжки, щоб зберегти вихідну інформацію про сегменти. Індексний файл містить пару значень для кожного сегмента, які являють собою номер сегмента й кількість кластерів для цього сегмента.

Файли вихідних даних використовуються для подальшого аналізу в BaseSpace. Як альтернативу використовуйте програму перетворення bcl2fastq для перетворення на формат FASTQ та сторонні засоби для аналізу. Для файлів NextSeq потрібна програма bcl2fastq вер. 2.0 або пізнішої версії. Для отримання останньої версії bcl2fastq відвідайте [сторінку завантажень NextSeq](#) на вебсайті компанії Illumina.

RTA вер. 2 в реальному часі надає показники якості прогону, що зберігаються у вигляді файлів InterOp. Файли InterOp — це бінарні вихідні дані, що містять показники сегмента, циклу й рівня зчитування, і вони необхідні для перегляду показників, що надаються в реальному часі, за допомогою Sequencing Analysis Viewer (SAV). Щоб отримати останню версію SAV, відвідайте [сторінку завантажень SAV](#) на вебсайті компанії Illumina.

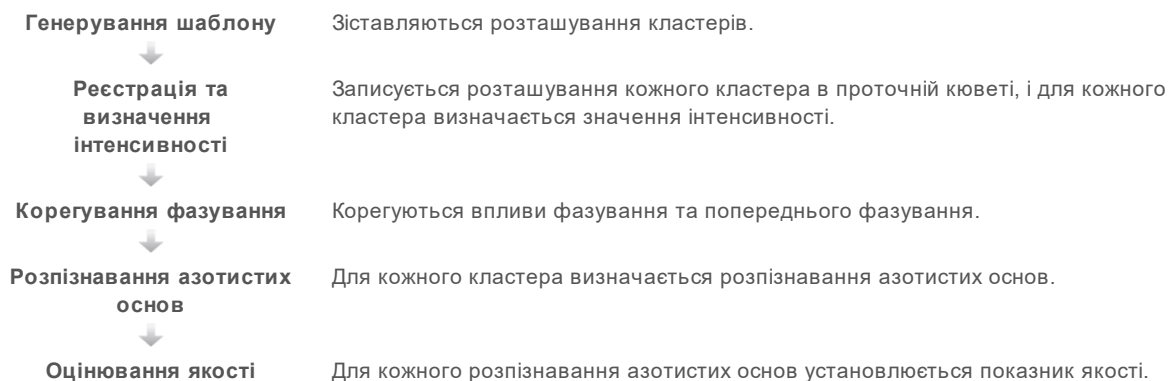
Робота з помилками

RTA2 створює файли журналу та записує їх до папки RTALogs. Помилки записуються до файлу помилок у форматі *.tsv.

Наприкінці обробки наведені далі файли журналу й помилок передаються до кінцевого місця призначення вихідних даних.

- ▶ У файл *GlobalLog*.tsv вносяться зведені дані про важливі події прогону.
- ▶ У файл *LaneNLog*.tsv вносяться події обробки для кожної доріжки.
- ▶ У файл *Error*.tsv вносяться помилки, що виникли під час виконання прогону.
- ▶ У файл *WarningLog*.tsv вносяться застереження, що виникли під час виконання прогону.

Робочий процес Real-Time Analysis



Генерування шаблону

Перший крок у робочому процесі RTA — генерування шаблону, під час якого за допомогою координат X і Y визначається положення кожного кластера в сегменті.

Генерування шаблону вимагає наявності даних зображення з перших п'яти циклів прогону. Шаблон генерується після отримання зображення останнього циклу шаблону для сегмента.



ПРИМІТКА

Щоб виявити кластер під час генерування шаблону, у перших **п'яти** циклах має бути хоча б одна основа, відмінна від G. Для будь-яких індексних послідовностей RTA вер. 2 вимагає принаймні одну основу, відмінну від G, у перших **двох** циклах.

Шаблон використовується як еталон для наступного етапу реєстрації й визначення інтенсивності. Позиції кластера для всієї проточної кювети записуються у файли розташування кластера (*.locs), по одному файлу на кожну доріжку.

Реєстрація та визначення інтенсивності

Реєстрація та визначення інтенсивності починаються після генерації шаблону.

- ▶ Під час реєстрації зображення, отримані в кожному наступному циклі візуалізації, вирівнюються за шаблоном.
- ▶ У процесі визначення інтенсивності розраховується значення інтенсивності для кожного кластера в шаблоні, що відповідає певному зображенню.

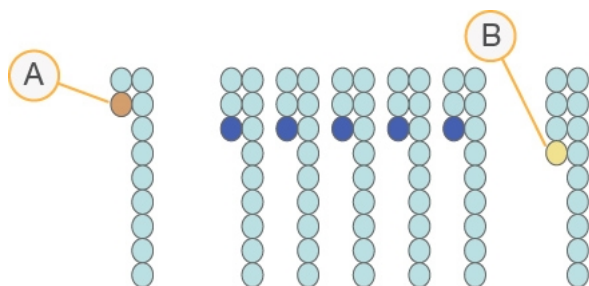
Якщо для будь-яких зображень у циклі реєстрацію не виконано, розпізнані азотисті основи для цього сегмента не генеруються в цьому циклі. Використовуйте програму Sequencing Analysis Viewer (SAV) для перевірки ескізних зображень і визначення зображень, для яких реєстрацію не виконано.

Корегування фазування

Під час реакції секвенування кожна нитка ДНК в кластері подовжується на одну азотисту основу за цикл. Фазування та попереднє фазування відбуваються, коли нитка не збігається з фазою поточного циклу вбудовування.

- ▶ Фазування відбувається, коли виникає відставання на одну азотисту основу.
- ▶ Попереднє фазування відбувається, коли виникає випередження на одну азотисту основу.

Рисунок 30 Фазування та попереднє фазування



A Зчитування з азотистою основою в стані фазування

B Зчитування з азотистою основою в стані попереднього фазування

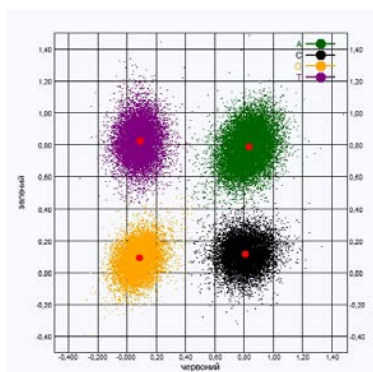
RTA2 корегує впливи фазування та попереднього фазування, що максимізує якість даних для кожного циклу протягом усього прогону.

Розпізнавання азотистих основ

Під час розпізнавання азотистих основ визначається азотиста основа (A, C, G або T) для кожного кластера відповідного сегмента конкретного циклу. NextSeq 550 використовує двоканальне секвенування, яке з метою кодування даних для чотирьох основ ДНК вимагає всього два зображення, одне з червоного каналу й одне із зеленого.

Значення інтенсивності, визначені на основі зображення в порівнянні з іншим зображенням, призводить до отримання чотирьох різних популяцій, кожна з яких відповідає нуклеотиду. Процес розпізнавання азотистих основ визначає, до якої популяції належить кожен кластер.

Рисунок 31 Візуалізація інтенсивності кластерів



Таблиця 1 Розпізнавання азотистих основ у двоканальному секвенуванні

Азотиста основа	Червоний канал	Зелений канал	Результат
A	1 (увімк.)	1 (увімк.)	Кластери, які показують інтенсивність як у червоному, так і в зеленому каналах.
C	1 (увімк.)	0 (вимк.)	Кластери, які показують інтенсивність тільки в червоному каналі.
G	0 (вимк.)	0 (вимк.)	Кластери, які не показують інтенсивність у відомому розташуванні кластерів.
T	0 (вимк.)	1 (увімк.)	Кластери, які показують інтенсивність тільки в зеленому каналі.

Фільтр пропускання кластерів

Під час прогону RTA2 фільтрує необроблені дані для видалення зчитувань, які не відповідають граничному значенню якості даних. Видаляються кластери, що накладаються один на одного, і кластери низької якості.

Для двоканального аналізу RTA2 використовує засновану на популяції систему, що дає змогу визначити чистоту розпізнавання азотистих основ. Кластери проходять фільтр (фільтр пропускання — ФП), коли щонайбільше одне розпізнавання азотистих основ на перші 25 циклів має значення чистоти менше за 0,63. Кластери, що не пройшли фільтр, вважаються такими, що не пройшли розпізнавання азотистих основ.

Рекомендації щодо індексації

Процес зчитування індексу для розпізнавання азотистих основ відрізняється від розпізнавання азотистих основ під час інших зчитувань.

Зчитування індексу мають починатися хоча б з однієї основи, відмінної від G, у будь-якому з перших двох циклів. Якщо зчитування індексу починається з двох розпізнаних азотистих основ G, інтенсивність сигналу не генерується. Щоб забезпечити продуктивність демультіплексування, сигнал має бути наявний у будь-якому з перших двох циклів.

Щоб підвищити надійність демультіплексування, вибирайте індексні послідовності, які забезпечують сигнал принаймні в одному каналі, а краще в обох каналах, для кожного циклу. Відповідно до цієї рекомендації уникайте комбінацій індексів, які призводять до отримання тільки G-основ у будь-якому циклі.

- ▶ Червоний канал — A чи C
- ▶ Зелений канал — A чи T

Цей процес розпізнавання азотистих основ забезпечує точність під час аналізу зразків із низькою щільністю.

Оцінювання якості

Показник якості, або Q-показник, дає можливість прогнозувати ймовірність неправильного розпізнавання азотистої основи. Більші Q-показники означають, що розпізнавання азотистих основ має вищу якість і з більшою ймовірністю правильне.

Використання Q-показника — це простий спосіб відображення невеликих ймовірностей помилок. Функція Q(X) представляє показники якості, де X — показник. У таблиці нижче продемонстровано зв'язок між показником якості та ймовірністю помилки.

Q(X) для Q-показника	Ймовірність помилки
Q40	0,0001 (1 на 10 000)
Q30	0,001 (1 на 1000)
Q20	0,01 (1 на 100)
Q10	0,1 (1 на 10)



ПРИМІТКА

Оцінювання якості базується на модифікованій версії алгоритму Phred.

Під час оцінювання якості спочатку для кожного розпізнавання азотистих основ розраховується набір прогностичних факторів, а потім значення цих факторів використовуються для пошуку Q-показника в таблиці якості. Таблиці якості створюються, щоб забезпечити для прогонів оптимально точні прогнози щодо якості, сформовані за конкретною конфігурацією платформи секвенування та версією хімічного аналізу.

Після визначення Q-показника результати записуються до файлів розпізнаних азотистих основ.

Додаток С. Файли й папки з вихідними даними

Файли з вихідними даними секвенування	63
Структура папки вихідних даних секвенування	67
Файли вихідних даних сканування	68
Структура папки вихідних даних сканування	68

Файли з вихідними даними секвенування

Тип файлу	Опис, розташування та ім'я файлу
Файли розпізнаних азотистих основ	До файлу розпізнаних азотистих основ додається кожний проаналізований сегмент, і такі файли об'єднуються в один файл для кожної доріжки й кожного циклу. Об'єднаний файл містить дані розпізнавання азотистих основ і закодований показник якості для кожного кластера цієї доріжки. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — файли зберігаються в одній папці для кожної доріжки. [Цикл].bcl.bgzf , де [цикл] — номер циклу з чотирьох цифр. Файли розпізнаних азотистих основ стискаються з використанням блочного стиснення gzip .
Файл індексів розпізнаних азотистих основ	Для кожної доріжки в бінарному індексному файлі перераховано вихідні дані сегмента в парі значень для кожного сегмента, які являють собою номер сегмента й кількість кластерів для сегмента. Файли індексів розпізнаних азотистих основ створюються під час першого створення файлу розпізнаних азотистих основ для цієї доріжки. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — файли зберігаються в одній папці для кожної доріжки. s_[Доріжка].bci
Файли розташування кластерів	У випадку кожного сегмента координати X і Y для кожного кластера об'єднуються в один файл розташування кластерів, що відповідає кожній доріжці. Файли розташування кластерів — результат генерування шаблону. Data\Intensities\L00[X] — файли зберігаються в одній папці для кожної доріжки. s_[доріжка].locs
Файли фільтрованих даних	Файл фільтрованих даних указує, чи пройшов кластер фільтри. Інформація про фільтр об'єднується в один файл фільтрованих даних для кожної доріжки й зчитування. Файли фільтрованих даних створюються на циклі 26 із використанням даних 25 циклів. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — файли зберігаються в одній папці для кожної доріжки. s_[доріжка].filter
Файли InterOp	Бінарні файли звітів, які використовуються для Sequencing Analysis Viewer (SAV). Файли InterOp оновлюються протягом усього прогону. Папка InterOp
Файл конфігурації RTA	Файл конфігурації RTA, створений на початку прогону, містить налаштування для цього прогону. <Ім'я папки прогону>, RTAConfiguration.xml
Файл інформації про прогін	Містить ім'я прогону, кількість циклів на зчитування, інформацію про те, чи зчитування проводиться з індексуванням, а також кількість смуг і сегментів на проточній кюветі. Файл інформації про прогін створюється на початку прогону. <Ім'я папки прогону>, RunInfo.xml
Файли ескізів	Ескізне зображення для кожного кольорового каналу (червоного й зеленого) для сегментів 1, 6 і 12 з усіх камер, верхньої та нижньої поверхонь, на кожному циклі під час формування зображення. Thumbnail_Images\L00[X]\C[X.1] — файли зберігаються в одній папці для кожної доріжки та в одній вкладеній папці для кожного циклу. s_[доріжка]_[сегмент]_[канал].jpg — в імені файлу сегмент представлено п'ятизначним числом, що позначає поверхню, смугу, камеру й сегмент. Додаткову інформацію див. в розділах <i>Нумерація сегментів</i> на стор. 66 і <i>Найменування ескізних зображень</i> на стор. 66.

Сегменти проточної кювети

Сегменти — це невеликі області візуалізації в проточній кюветі, які визначаються як поле зору камери. Загальна кількість сегментів залежить від кількості доріжок, смуг і поверхонь, які візуалізуються на проточній кюветі, і від того, як камери працюють разом для отримання зображень.

- ▶ Проточні кювети з високим вихідним потоком мають загалом 864 сегменти.
- ▶ Проточні кювети із середнім вихідним потоком мають загалом 288 сегментів.

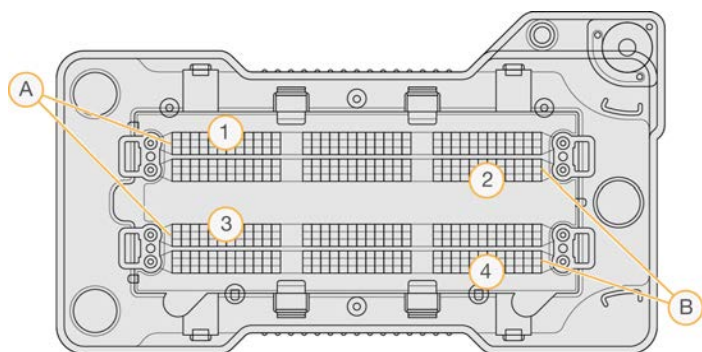
Таблиця 2 Сегменти проточної кювети

Компонент проточної кювети	З високим вихідним потоком	Із середнім вихідним потоком	Опис
Доріжки	4	4	Доріжка — це фізичний канал із виділеними портами введення й виведення.
Поверхні	2	2	Проточна кювета візуалізується на двох поверхнях, верхній і нижній. Перед переходом до наступного сегмента візуалізується верхня поверхня 1 сегмента, потім нижня поверхня того самого сегмента.
Смуг на доріжку	3	1	Смуга — це колона сегментів на доріжці.
Сегменти камери	3	3	Прилад використовує шість камер для візуалізації проточної кювети в трьох сегментах для кожної доріжки.
Сегментів на смугу на сегмент камери	12	12	Сегмент — це область на проточній кюветі, яку камера бачить як 1 зображення.
Загалом сегментів візуалізовано	864	288	Загальна кількість сегментів дорівнює: доріжки × поверхні × смуги × сегменти камери × сегменти на смугу на сегмент.

Нумерація доріжок

Доріжки 1 і 3, які називаються парою доріжок А, візуалізуються одночасно. Доріжки 2 та 4, які називаються парою доріжок В, візуалізуються, коли завершується візуалізація пари доріжок А.

Рисунок 32 Нумерація доріжок

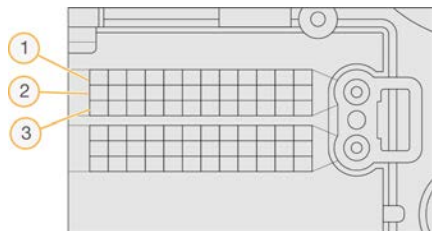


- A Пара доріжок А — доріжки 1 і 3
- B Пара доріжок В — доріжки 2 та 4

Нумерація смуг

Кожну доріжку представлено трьома смугами. Смуги пронумеровано від 1 до 3 для проточних кювет із високим виходом.

Рисунок 33 Нумерація смуг

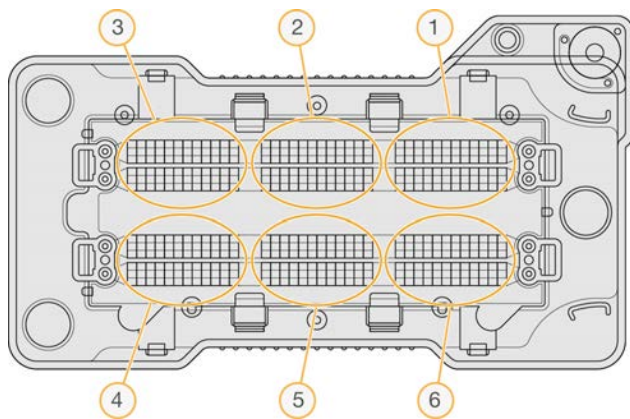


Нумерація камер

Для візуалізації проточної кювети NextSeq 550 використовує шість камер.

Камери пронумеровано від 1 до 6. Камери 1–3 відповідають за візуалізацію першої доріжки. Камери 4–6 відповідають за візуалізацію третьої доріжки. Після візуалізації доріжок 1 і 3 модуль формування зображення переміщається по осі X, щоб візуалізувати доріжки 2 та 4.

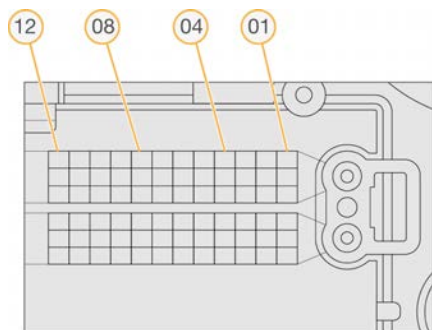
Рисунок 34 Нумерація камер і сегментів (показано проточну кювету з високим вихідним потоком)



Нумерація сегментів

У кожній смузі кожного сегмента камери є 12 сегментів. Сегменти пронумеровано від 01 до 12, незалежно від номера смуги або сегмента камери, і представлено двома цифрами.

Рисунок 35 Нумерація сегментів



Для представлення розташування повний номер сегмента має 5 цифр, як показано нижче.

- ▶ **Поверхня** — 1 представляє верхню поверхню, 2 — нижню.
- ▶ **Смуга** — 1, 2 або 3.
- ▶ **Камера** — 1, 2, 3, 4, 5 або 6.
- ▶ **Сегмент** — 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 або 12.

Приклад. Номер сегмента 12508 позначає верхню поверхню, смугу 2, камеру 5 і сегмент 8.

Повний п'ятизначний номер сегмента використовується в імені файлу зображення ескізів і файлів емпіричного фазування. Для отримання додаткової інформації див. розділ *Файли з вихідними даними секвенування* на стор. 63.

Найменування ескізних зображень

Ескізне зображення для кожного кольорового каналу (червоного й зеленого) для сегментів 1, 6 і 12 генерується з усіх камер, верхньої та нижньої поверхонь, на кожному циклі під час формування зображення. Файли ескізів генеруються у форматі JPG.

Кожному зображенню привласнюється номер сегмента, як зазначено в наведеній нижче угоді про імена, і ім'я зображення завжди починається з **s_**.

- ▶ **Доріжка** — 1, 2, 3 або 4.
- ▶ **Сегмент** — п'ятизначний номер сегмента, який позначає поверхню, смугу, камеру та сегмент.
- ▶ **Канал** — червоний або зелений.

Приклад: `s_3_12512_green.jpg` — указано доріжку 3, верхню поверхню, смугу 2, камеру 5, сегмент 12 і зелений канал.


Структура папки вихідних даних секвенування


Керівне програмне забезпечення генерує ім'я папки вихідних даних автоматично.

Data

Intensities

BaseCalls

 **L001** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 1, об'єднані в один файл за цикл.

 **L002** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 2, об'єднані в один файл за цикл.

 **L003** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 3, об'єднані в один файл за цикл.

 **L004** — файли розпізнаних азотистих основ для доріжки 4, об'єднані в один файл за цикл.

 **L001** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 1.

 **L002** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 2.

 **L003** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 3.

 **L004** — об'єднаний файл *.locs для доріжки 4.

Images


Focus

 **L001** — фокусні зображення для доріжки 1.


 **L002** — фокусні зображення для доріжки 2.


 **L003** — фокусні зображення для доріжки 3.


 **L004** — фокусні зображення для доріжки 4.

 **InterOp** — бінарні файли, які використовуються для Sequencing Analysis Viewer (SAV).

 **Logs** — файли журналу, що описують етапи роботи.

 **Recipe** — специфічний для прогону файл набору параметрів з ідентифікатором картриджа з реагентами.

 **RTALogs** — файли журналу, що описують етапи аналізу.

 **Thumbnail_Images** — ескізи зображення для сегментів 1, 6 і 12 у кожній смузі кожного циклу.

 RTAComplete.xml

 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunNotes.xml

 RunParameters.xml

Додаток D. Рекомендації щодо режиму дослідження NextSeq 550Dx

Вступ	69
Сумісність витратних матеріалів NextSeq 550Dx	69
Запуск приладу NextSeq 550Dx	70
Індикатори режиму приладу NextSeq 550Dx	71
Параметри перезавантаження й завершення роботи NextSeq 550Dx	71

Вступ

Інструкції в цьому посібнику, за деякими винятками, застосовні до пристрою NextSeq 550Dx у режимі дослідження з NCS вер. 4.0 або пізнішої версії. Для режиму дослідження з NCS вер. 3.0 зверніться до *довідкового посібника з приладів NextSeq 550Dx у режимі дослідження (документ № 1000000041922)*.

Ваше джерело загальних інструкцій щодо програмного забезпечення Local Run Manager залежить від режиму, який використовується на приладі NextSeq 550Dx. Для режиму дослідження див. *посібник із програмного забезпечення Local Run Manager (документ № 1000000002702)*. Для режиму діагностики інструкції до програмного забезпечення Local Run Manager див. в *довідковому посібнику з приладів NextSeq 550Dx (документ № 1000000009513)*. Програмне забезпечення Local Run Manager не доступно для NCS вер. 3.0.

Відмінності між NextSeq 550Dx у режимі дослідження й NextSeq 550 полягають у наведених далі аспектах.

- ▶ Сумісність витратних матеріалів.
- ▶ Запуск приладу.
- ▶ Перезавантаження приладу й завершення його роботи.

Сумісність витратних матеріалів NextSeq 550Dx

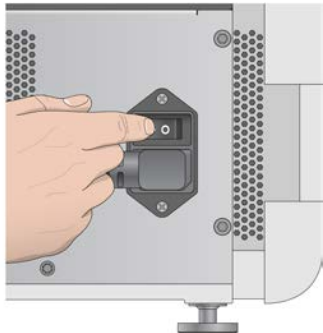
Для виконання прогону секвенування на NextSeq 550Dx потрібен одноразовий набір NextSeq 550/550 або набір реагентів із високим виходом NextSeq 550Dx.

Якщо для прогону в дослідному режимі використовується набір реагентів із високим виходом NextSeq 550Dx, усі компоненти мають бути з однієї партії набору. Набір NextSeq 550/550 не можна використовувати для прогону в режимі діагностики.

Запуск приладу NextSeq 550Dx

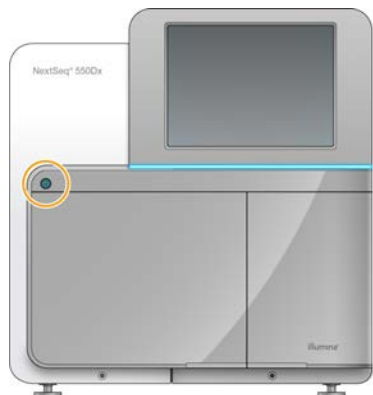
Увімкніть тумблер живлення в положення I (увімк.).

Рисунок 36 Вимикач живлення, розташований на задній панелі приладу



- 1 Натисніть кнопку живлення над відсіком для реагентів. Натискання кнопки живлення вмикає прилад і запускає вбудований комп'ютер і програмне забезпечення приладу. За замовчуванням прилад завантажується з відкриттям системи в діагностичному режимі.

Рисунок 37 Кнопка живлення, розташована на передній панелі приладу



- 2 Дочекайтеся завершення завантаження операційної системи. Системне програмне забезпечення NextSeq 550Dx (NOS) автоматично запускає й ініціалізує систему. Після завершення кроку ініціалізації відкривається головний екран.
- 3 Уведіть ім'я користувача й пароль Local Run Manager. Інформацію про паролі Local Run Manager див. в довідковому посібнику з приладів NextSeq 550Dx (документ № 1000000009513).
- 4 Виберіть **Login** (Увійти). Відкриється екран Home (Головний екран) зі значками Sequence (Послідовність), Local Run Manager, Manage Instrument (Керування приладом) і Perform Wash (Виконання промивання).
- 5 Використовуйте команду Reboot to RUO (Перезавантажити в RUO) в NOS, щоб безпечно завершити роботу приладу та перезавантажитися в дослідницький режим.
 - ▶ Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
 - ▶ Виберіть **Reboot/Shutdown** (Перезавантажити / завершити роботу).
 - ▶ Виберіть **Reboot to RUO** (Перезавантажити в RUO).

- 6 Дочекайтеся завершення завантаження операційної системи. NCS автоматично запускає й ініціалізує систему. Після завершення кроку ініціалізації відкривається головний екран.
- 7 Якщо систему налаштовано на використання облікових даних для входу, увійдіть в ОС Windows, використовуючи ім'я користувача та пароль для свого робочого місця.



ПРИМІТКА

Якщо ви не впевнені щодо того, у якому режимі перебуває прилад, див. розділ *Індикатори режиму приладу NextSeq 550Dx*.

Індикатори режиму приладу NextSeq 550Dx

У цій таблиці наведено індикатори режиму приладу на екрані NCS або NOS. Для отримання інформації про те, як переключитися з режиму дослідження в режим діагностики, див. розділ *Параметри перезавантаження й завершення роботи NextSeq 550Dx на стор. 71*.

Режим	Головний екран	Кольорова смуга	Орієнтація значка стану
Діагностичний режим	Ласкаво просимо в NextSeqDx	Синя	Горизонтальна
Режим дослідження	Ласкаво просимо в NextSeq	Помаранчева	Вертикальна

Параметри перезавантаження й завершення роботи NextSeq 550Dx

Натиснувши кнопку Shutdown Options (Параметри завершення роботи) у режимі дослідження, отримайте доступ до вказаних нижче функцій NextSeq 550Dx.

- ▶ Reboot to Dx (Перезавантажити в Dx) — прилад відкривається в режимі діагностики.
- ▶ Reboot to RUO (Перезавантажити в RUO) — прилад відкривається в режимі дослідження.
- ▶ Shutdown (Завершити роботу) — прилад відкривається в режимі діагностики.
- ▶ Exit to Windows (Вихід до Windows) — залежно від дозволів ви можете закрити NCS і вийти до ОС Windows.



ПРИМІТКА

Якщо ви використовуєте NextSeq 550Dx у режимі дослідження, у разі повернення в режим діагностики вам буде запропоновано виконати промивання після прогону.

Перезавантаження в діагностичний режим

Використовуйте команду Reboot to Dx (Перезавантажити в Dx), щоб безпечно завершити роботу з приладом і перезавантажитися в діагностичний режим.

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Shutdown Options** (Параметри завершення роботи).
- 3 Виберіть **Reboot to Dx** (Перезавантажити в Dx).

Перезавантаження в режим дослідження

Використовуйте команду Reboot to RUO (Перезавантажити в RUO), щоб безпечно завершити роботу приладу та перезавантажитися в режим дослідження.

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Shutdown Options** (Параметри завершення роботи).

- 3 Виберіть **Reboot to RUO** (Перезавантажити в RUO).

Завершення роботи приладу

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Shutdown Options** (Параметри завершення роботи).
- 3 Виберіть **Shutdown** (Завершити роботу).

Команда Shut Down (Завершити роботу) безпечно завершує роботу програмного забезпечення й вимикає живлення приладу. Зачекайте не менше 60 секунд, перш ніж знову вмикати прилад.



ПРИМІТКА

За замовчуванням після вмикання живлення прилад завантажується в діагностичному режимі.



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Не змінюйте розташування приладу. Неправильне переміщення приладу може вплинути на оптичне вирівнювання й порушити цілісність даних. Якщо вам потрібно перемістити прилад, зверніться до представника компанії Illumina.

Вихід до ОС Windows

Команда Exit to Windows (Вихід до Windows) забезпечує доступ до операційної системи приладу та будь-якої папки на комп'ютері приладу. За допомогою цієї команди безпечно завершується робота програмного забезпечення та здійснюється вихід до Windows.

- 1 Виберіть **Manage Instrument** (Керування приладом).
- 2 Виберіть **Shutdown Options** (Параметри завершення роботи).
- 3 Виберіть **Exit to Windows** (Вихід до Windows).

Покажчик

В

- BaseSpace Sequence Hub 1, 21
 - значки передачі 28
 - конфігурація 56
 - логіні 21, 49
- BeadChip
 - адаптер 6, 31
 - аналіз 1
 - завантаження 33
 - орієнтація штрих-коду 31
 - помилка реєстрації 50
 - типи 1
 - штрих-код не може бути зчитано 50

I

- InterOp 43, 63

L

- Local Run Manager 21
 - створення прогону 17

N

- NextSeq 550Dx
 - вимикач живлення 70
 - вихід до Windows 72
 - завершення роботи 71
 - завершення роботи приладу 72
 - запуск приладу 70
 - ім'я користувача й пароль системи 70
 - індикатори режиму 71
 - ініціалізація програмного забезпечення 70
 - перезавантаження 71
 - перезавантаження приладу 71
 - перезавантаження приладу до Dx 71
 - перезавантаження приладу до RUO 71
 - програмне забезпечення Local Run Manager 69

Q

- Q-показники 62

R

- RTA v2
 - зупинка 58
- RTA2
 - обробка помилок 59
- RTAv2
 - огляд 58
- RunInfo.xml 63

S

- Sequencing Analysis Viewer 16

U

- Universal Copy Service 28

W

- Windows
 - доступ 6
 - пароль 6

A

- адаптер
 - завантаження BeadChip 33
 - огляд 6
 - орієнтація BeadChip 31
- алгоритм Phred 62
- аналіз
 - вихідні файли 63
 - необов'язково 21
 - опції 20
- аналіз, первинний
 - чистота сигналу 61

Б

- буферний відсік 3

В

- видалити витратні матеріали 14
- вимикач живлення 11

витратні матеріали

- витратні матеріали для промивання 36-37
- картридж із буферами 10
- картридж із реагентами 9
- обслуговування приладу 15
- прогони секвенування 14
- проточна кювета 8
- хімічно чиста вода 15
- витратні матеріали, що замовляє користувач 14-15
- вихідні файли 63
- вихідні файли сканування GTC, IDAT 68
- вихідні файли, секвенування 63
- вихідні файли, сканування GTC, IDAT 68
- відпрацьовані реагенти
 - контейнер повний 47
 - утилізація 23, 38
- відсік для візуалізації 3
- відсік для зображень 3
- відсік для повітряного фільтра 3
- відсік для реагентів 3
- відсік повітряного фільтра 4
- візуалізація, 2-канальне секвенування 61
- вхідні файли, сканування
 - папка DMAP 30
 - папка DMAP, завантаження 31
 - файли кластера 30, 51
 - файли представлення 30, 51

Г

- генерування шаблону 60
- гіпохлорит натрію, промивання 37

Д

- дверцята відсіку проточної кювети 20
- диспетчер локального виконання модулі 20
- довідка
 - документація 2
- документація 2, 77
- допомога, технічна 77

Е

- ескізні зображення 63

З

- завершення роботи приладу 42
- значення інтенсивності 61
- значки
 - згортання NCS 6
 - помилки й попередження 5
 - стан 5

І

- ім'я користувача та пароль 11
- ім'я користувача та пароль системи 11

К

- картридж з реагентом резервуар № 28 37
- картридж із буферами 10, 24
- картридж із реагентами
 - підготовка 17
- Картридж із реагентами огляд 9
- каталог вихідних даних 20
- керування приладом
 - завершення роботи 42
- клієнт декодування файлів 30
- Клієнт декодування файлів
 - доступ за допомогою BeadChip 31
 - доступ за обліковим записом 31
- кнопка живлення 6, 11
- компоненти
 - буферний відсік 3
 - відсік для візуалізації 3
 - відсік для зображень 3
 - відсік для повітряного фільтра 3
 - відсік для реагентів 3
 - рядок стану 3

М

- метрики
 - цикли інтенсивності 27
 - цикли щільності кластера 27
- модулі, диспетчер локального виконання 20

Н

- налаштування конфігурації 55

налаштування прогону, розширені
 варіанти 14
 нумерація доріжок 64
 нумерація камер 65
 нумерація сегментів 66
 нумерація смуг 65

O

обслуговування приладу
 витратні матеріали 15
 обслуговування, профілактичне 36
 онлайн-навчання 2
 оновлення програмного забезпечення 40

П

папка DMAP
 завантаження 31
 клієнт декодування файлів 30
 параметри прогону
 режим Local Run Manager, робочий
 процес
 режим Local Run Manager, параметри
 прогону
 редагування параметрів 21
 ручний режим 22
 пари доріжок 64
 перевірка перед прогоном 26, 34
 перевірка системи 52
 передавання даних
 universal copy service 28
 передача даних
 дані сканування 35
 значки активності 28
 питання індексації 62
 підтримка користувачів 77
 Повідомлення про помилку RAID 54
 повітряний фільтр 39
 повторна гібридизація праймера 48
 повторна гібридизація, Зчитування 1 48
 показники
 розпізнавання азотистих основ 61
 помилка мережевого сховища 54
 помилки
 ймовірність 62
 помилки й попередження 5
 у вихідних файлах 59
 помилки перевірки перед циклом 45
 попередження про стан 5

пошук і усунення неполадок
 заміна файлів представлення й
 кластера 51
 пошук і усунення несправностей
 варіанти контакту 43
 контейнер для відпрацьованих
 реагентів 47
 неможливо зчитати штрих-код
 BeadChip 50
 перевірка перед циклом 45
 перевірка системи 52
 показники низької якості 48
 помилка реєстрації сканування 50
 специфічні для прогону файли 43-44
 прилад
 запуск 11
 кнопка живлення 6
 налаштування конфігурації 55
 прогони
 створення 17
 програмне забезпечення
 автоматичне оновлення 41
 аналіз зображення, розпізнавання
 азотистих основ 4
 ініціалізація 11
 на приладі 4
 налаштування конфігурації 55
 оновлення вручну 41
 створення прогону 17
 тривалість прогону 17
 програмне забезпечення BlueFuse Multi 1
 програмне забезпечення Real-Time
 Analysis 4
 програмне забезпечення для аналізу в
 реальному часі 1
 Програмне забезпечення для аналізу в
 реальному часі
 результати 63
 програмне забезпечення управління 4
 промивання
 автоматичне 28-29
 витратні матеріали, що замовляє
 користувач 36
 компоненти для промивання 36
 промивання вручну 36
 промивання після прогону 28-29
 промивання приладу 36
 проточна кювета
 візуалізація 65
 найменування файлів зображення 66
 напрямні штифти 23

- номер смуги 65
- нумерація доріжок 64
- нумерація сегментів 66
- огляд 8
- пакування 18
- пари доріжок 8
- повторна гібридизація 48
- сегменти 64
- типи 1
- проточная кювета
 - очистка 18
- профілактичне обслуговування 36

Р

- реагенти
 - відповідна утилізація 25
- режим прогону
 - Local Run Manager 21
 - ручний 21-22
- рекомендації щодо хімічно чистої води 15
- робочий процес
 - BeadChip 33
 - Local Run Manager 21
 - NCS 21
 - відпрацьовані реагенти 23
 - картридж із буферами 24
 - картридж із реагентами 17, 25
 - логін BaseSpace Sequence Hub 21, 49
 - питання індексації 62
 - підготовка проточної кювети 18
 - показники прогону, показники прогону 27
 - проточна кювета 23
 - ручний режим 22
 - секвенування 59
 - тривалість прогону 17
 - функції розширеного завантаження 14
- робочий процес секвенування 59
- робочий процес
 - гіпохлорит натрію 37
 - дверцята відсіку проточної кювети 20
 - перевірка перед прогоном 26, 34
- розпізнавання азотистих основ 61
 - питання індексації 62
- розташування кластера
 - файли 63
- розташування кластерів
 - генерування шаблону 60
- розташування папки 22
- ручний режим
 - створення прогону 17

- рядок стану 3

С

- секвенування
 - витратні матеріали, що замовляє користувач 14
- Служба попереджувального моніторингу Illumina 13
- створення прогону 17
- сумісність
 - RFID-трекер 9

Т

- таблиці якості 62
- технічна допомога 77
- тривалість зчитування 17
- тривалість прогону 17

Ф

- фазування, попереднє фазування 60
- файли GTC 68
- файли locs 63
- Файли RunInfo.xml 43, 63
- файли журналів
 - GlobalLog 59
 - LaneNLog 59
- файли розпізнаних азотистих основ 63
- файли фільтрів 63
- фільтр пропускання (ФП) 61
- фільтр пропускання кластерів 61
- фільтр чистоти 61
- формамід, положення № 6 25
- функції розширеного завантаження 14

Ц

- циклів на зчитування 17

Технічна допомога

Для отримання технічної допомоги зв'яжіться зі службою технічної підтримки компанії Illumina.

Вебсайт: www.illumina.com
Електронна пошта: techsupport@illumina.com

Номери телефонів підтримки замовників компанії Illumina

Регіон	Безкоштовний	Регіональний
Північна Америка	+1 800 809 4566	
Австралія	+1 800 775 688	
Австрія	+43 800006249	+43 19286540
Бельгія	+32 80077160	+32 34002973
Гонконг	800960230	
Данія	+45 80820183	+45 89871156
Ірландія	+353 1800936608	+353 016950506
Іспанія	+34 911899417	+34 800300143
Італія	+39 800985513	+39 236003759
Китай	400 066 5835	
Нідерланди	+31 8000222493	+31 207132960
Німеччина	+49 8001014940	+49 8938035677
Нова Зеландія	0800 451 650	
Норвегія	+47 800 16836	+47 21939693
Південна Корея	+82 80 234 5300	
Сінгапур	+1 800 579 2745	
Сполучене Королівство	+44 8000126019	+44 2073057197
Тайвань	00806651752	
Фінляндія	+358 800918363	+358 974790110
Франція	+33 805102193	+33 170770446
Швейцарія	+41 565800000	+41 800200442
Швеція	+46 850619671	+46 200883979
Японія	0800 111 5011	
Інші країни	+44 1799 534000	

Паспорти безпеки продукції (ПБП) доступні на вебсайті Illumina за адресою support.illumina.com/sds.html.

Документація продукції доступна для завантаження на вебсайті Illumina у форматі PDF. Перейдіть за адресою support.illumina.com і виберіть спочатку продукт, а потім — сторінку **Documentation & Literature** (Документація та література).



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A. (США)
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (за межами Північної Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

Використовувати лише для дослідження.
Не можна використовувати для діагностичних процедур.
© 2019 р. Illumina, Inc. Усі права захищено.

illumina®