

هذا المستند ومحتوياته مملوكة لشركة Illumina, Inc، والشركات التابعة لها ("Illumina")، وتهدف إلى الاستخدام التعاقدى لعملائها فقط فيما يتعلق باستخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا وليس لأي غرض آخر. يجب ألا يتم استخدام هذا المستند ومحتوياته أو توزيعه لأي غرض آخر و/أو إرساله، أو الكشف عنه، أو نسخه بأي شكل آخر دون موافقة خطية مسبقة من شركة Illumina. لا تقدم شركة Illumina أي تراخيص تتعلق ببراءات الاختراع، أو العلامات التجارية أو حقوق التأليف والنشر، أو حقوق القانون العام ولا الحقوق المماثلة لأي أطراف أخرى بموجب هذا المستند.

يجب على الموظفين المؤهلين والمدربين بشكل جيد اتباع التعليمات الواردة في هذا المستند بشكل صارم وصريح من أجل ضمان الاستخدام السليم والأمن للمنتج (المنتجات) الموضح به. يجب قراءة جميع محتويات هذا المستند وفهمها بشكل كامل قبل استخدام هذا المنتج (هذه المنتجات).

وقد يؤدي عدم قراءة التعليمات الواردة هنا بشكل كامل واتباعها بوضوح إلى حدوث تلف في المنتج (المنتجات)، أو إصابة للأشخاص، بما في ذلك المستخدم أو أشخاص آخرون، وإلحاق الضرر بملمتلكات أخرى، وستفقد أي ضمان ينطبق على المنتج (المنتجات).

لا تتحمل شركة ILLUMINA أي مسؤولية ناجمة عن سوء استخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا (بما في ذلك البرامج أو أجزاء منها).

حقوق الطبع والنشر © لعام 2020 محفوظة لصالح شركة Illumina, Inc. جميع الحقوق محفوظة.

جميع العلامات التجارية مملوكة لشركة Illumina, Inc. أو أصحابها المعنيين. للحصول على معلومات محددة حول العلامات التجارية، راجع www.illumina.com/company/legal.html

تاريخ المراجعة

المستند رقم	التاريخ	وصف التغيير
1000000109376 إصدار 03	نوفمبر 2020	أرقام الكتالوج المُصححة. تمت إضافة معلومات حول إضافة مستخدمين جُدد.
1000000109376 إصدار 02	أكتوبر 2020	تمت إضافة مجموعة الكواشف NextSeq 1000/2000 P3 تمت إضافة سير عمل الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة ل خادم .DRAGEN تمت إضافة سير عمل تخصيص خادم DRAGEN. تمت إضافة خيارات ضغط بتدسيق FASTQ. تمت إضافة تعليمات لتثبيت أنبوب DRAGEN وتحديثات الترخيص. تمت إضافة تعليمات حول استيراد الجينومات المرجعية المخصصة. تم تحديث حجم التحميل والتركيزات لأنواع المكتبة. تم تحديث تعليمات تخفيف المكتبة. تمت إضافة التعليمات حول إزالة خرطوشة الكاشف تلقائيًا. تم تحديث المعلومات حول عدد الدورات المدعوم. تم تحديث خيارات التخصيص بالجهاز. تم تحديث تعليمات إعداد عملية التشغيل بالجهاز. تم تحديث بنية إخراج التسلسل ل خادم DRAGEN. تمت إضافة المعلومات حول تقارير التحكم بالجودة ل خادم DRAGEN. تمت إضافة المعلومات حول إزالة الجينومات المرجعية المخصصة من المحرك الصلب. تمت إضافة المعلومات حول إجراء فحوصات النظام. تم تحديث إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة.

المستند رقم	التاريخ	وصف التغيير
1000000109376 إصدار 01	يونيو 2020	<p>أوصاف البرامج المحدثة لبرنامج التحكم NextSeq 1000/2000. تم توضيح الفرق بين وضع السحابة، ووضع الهجين، والوضع المحلي والوضع المستقل خلال الدليل.</p> <p>تم تحديث إرشادات تخزين الخرطوشة وإذابتها.</p> <p>تم تحديث المعلومات حول عدد الدورات المدعوم.</p> <p>تم تحديث التعليمات لإعداد التحليل الثانوي.</p> <p>تم تحديث أرقام الكتلوج لمجموعة الكاشف.</p> <p>تم تحديث مخطط بروتوكول التسلسل.</p> <p>تم تحديث التعليمات حول تحديد محرك شبكة بوصفه مجلد الإخراج الافتراضي.</p> <p>تم تحديث جدول أنواع المكتبة المدعومة.</p> <p>تمت إضافة التعليمات حول استيراد جينوم مرجعي مخصص.</p> <p>تمت إضافة التعليمات لإعداد عملية تشغيل باستخدام مجموعة فهرس مخصصة ومجموعة إعداد مكتبة مخصصة.</p> <p>تم تحديث متطلبات حساب المستخدم وكلمة المرور.</p> <p>تمت إضافة تفاصيل حول بنية مجلد الإخراج لـ DRAGEN.</p> <p>تم توضيح تعليمات التخصيص من الكواشف المستعملة من الخرطوشة.</p> <p>تمت إضافة معلومات الخلفية حول جدول الجودة.</p> <p>تم تحديث التعليمات حول تثبيت تحديثات برنامج التحكم.</p> <p>تمت إضافة التعليمات حول كيفية إعادة ترتيب عملية التشغيل.</p> <p>تمت إضافة التعليمات حول تحديث ترخيص وأنابيب خادم DRAGEN.</p> <p>تمت إضافة تعليمات التخصيص بالجهاز.</p> <p>تم تحديث الرسوم التوضيحية لتوضيح تسمية جديدة.</p> <p>تم تغيير الباب إلى القناع في الدليل بأكمله.</p> <p>تمت إضافة وصف لمنفذ الإنترنت.</p>
1000000109376 إصدار 00	مارس 2020	الإصدار المبدئي.

جدول المحتويات

1	نظرة عامة على النظام
2	المصادر الإضافية
3	معدات الجهاز
5	البرنامج المتكامل
6	إدارة العمليات
7	مخطط بروتوكول التسلسل
7	كيفية عمل التسلسل
9	تهيئة النظام
9	متطلبات حساب المُستخدم
11	تهيئة مركز تسلسل BaseSpace والدعم الاستباقي
12	حدد موقع مجلد الإخراج الافتراضي
14	استيراد الجينومات المرجعية المُخصصة
15	تهيئة وضع التشغيل
16	تخصيص الجهاز
18	المستهلكات والمعدات
18	مستهلكات التسلسل
22	المستهلكات الإضافية
23	المعدات الإضافية
25	البروتوكول
25	اعتبارات التسلسل
26	التخطيط لعملية تشغيل التسلسل في مركز تسلسل BaseSpace
32	إذابة الخراطيش المعبأة في أكياس وخلية التدفق
34	تخفيف المكتبات
36	تحميل المستهلكات في الخرطوشة
38	بدء عملية تشغيل التسلسل
44	إخراج التسلسل
44	نظرة عامة على التحليل في الوقت الفعلي
46	سير عمل التحليل في الوقت الفعلي
50	ملفات الإخراج للتسلسل
50	ملفات إخراج التحليل الثانوي لخدم DRAGEN
55	بنية مجلد إخراج التحليل الثانوي لخدم DRAGEN
58	الصيانة
58	مسح مساحة القرص الصلب
58	تحديثات البرنامج
60	تحديثات الترخيص وأنابيب خادم DRAGEN
60	استبدال مُرشح الهواء

63.....	استكشاف الأخطاء وإصلاحها
63.....	تحليل رسالة الخطأ
63.....	أعد المستهلكات إلى التخزين
64.....	إلغاء عملية التشغيل
64.....	إعادة ترتيب عملية التشغيل
65.....	إعادة تشغيل الجهاز
66.....	إجراء فحص النظام
66.....	استعادة إعدادات المصنع
66.....	التقاط الصورة المُثبتة
66.....	استعادة الصورة الملتقطة
68.....	المصادر والمراجع
68.....	إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة
77.....	تسلسل الدورة الذاكرة
79.....	الفهرس
83.....	المساعدة الفنية

نظرة عامة على النظام

يوفر جهاز التسلسل Illumina® NextSeq™ 1000 وIllumina® NextSeq™ 2000 نهجاً يستهدف الجيل التالي من تقنيات التسلسل¹ NGS. يقوم هذا النظام الذي يركز على التطبيقات بجمع تقنيات تسلسل Illumina في جهاز سطح المكتب الفعال من حيث التكلفة والذي يعرض الميزات التالية:

- **إمكانية الوصول والموثوقية**—يملك نظام NextSeq 1000/2000 تحليلًا لخادم DRAGEN المحلي، بالإضافة إلى تغيير الخواص والتخفيف. يُدمج نموذج التصوير بالنظام وتُدمج عناصر السوائل في المستهلكات مما يسهل صيانة الجهاز.
- **تحميل المستهلكات بخطوة واحدة**—يتم ملء خرطوشة الاستخدام الفردي مسبقًا بجميع المواد الكاشفة المطلوبة للتشغيل. يتم تحميل المكتبة وخلية التدفق مباشرة في الخرطوشة، والتي يتم تحميلها بعد ذلك في الجهاز. يتيح التحديد المتكامل إمكانية التتبع الدقيق.
- **برنامج جهاز NextSeq 1000/2000**—مجموعة من البرامج المدمجة التي تقوم بالتحكم في عمليات تشغيل الجهاز، ومعالجة الصور وإنشاء الاستدعاءات القاعدية.
- **وضع السحابة**—خطط لعملية التشغيل الخاصة بك باستخدام إعداد عملية التشغيل بالجهاز على مركز تسلسل BaseSpace. يتم الشروع في سير عمل التحليل المُحدد داخل السحابة بصورة تلقائية. يتم تقديم نتائج التحليل وبيانات عملية التشغيل في السحابة كذلك.
- **الوضع الهجين**—خطط لعملية التشغيل الخاصة بك باستخدام إعداد عملية التشغيل بالجهاز على مركز تسلسل BaseSpace. يتم الشروع في سير عمل التحليل المُحدد بعد ذلك من خلال خادم DRAGEN بالجهاز.
- **الوضع المحلي**—خطط لعملية التشغيل الخاصة بك باستخدام تنسيق ملف الإصدار الثاني لورقة العينة محليًا. يتم الشروع في سير عمل التحليل المُحدد من خلال خادم DRAGEN بالجهاز.
- **الوضع المستقل**—خطط لعملية التشغيل الخاصة بك دون ورقة عينة.

يُقدّم هذا القسم نظرة عامة على النظام، بما في ذلك المعلومات حول المعدات، والبرنامج وتحليل البيانات. كما يجمع المفاهيم والمصطلحات الأساسية المُضمنة في الوثائق كذلك. للاطلاع على المواصفات، وأوراق البيانات، والتطبيقات والمنتجات ذات الصلة بشكل مُفصل، راجع [صفحة منتج أنظمة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000](#) على موقع Illumina.

¹الجيل التالي من تقنيات التسلسل

المصادر الإضافية

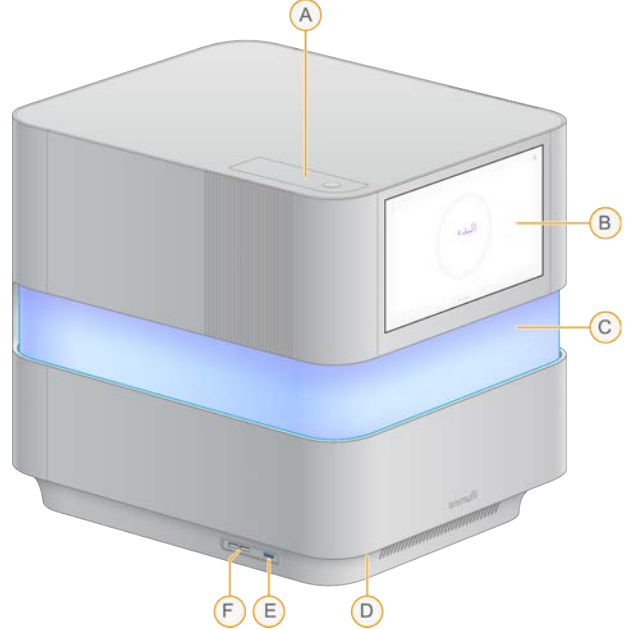
تقدم صفحات الدعم الخاصة بأجهزة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 على موقع Illumina مصادر إضافية للنظام. وتتضمن تلك المصادر منتجات البرامج، والتدريب، والمنتجات المتوافقة، والمستندات التالية. راجع صفحات الدعم باستمرار للحصول على أحدث الإصدارات.

المصدر	الوصف
محدد البروتوكول المخصص	هو أداة لإنشاء تعليمات شاملة مخصصة لطريقة إعداد المكتبة الخاصة بك، وتشغيل المعلومات، وطريقة التحليل، مع خيارات لتحسين مستوى التفاصيل.
دليل الامتثال والسلامة لأجهزة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 (المستند رقم 1000000111928)	يقدم معلومات حول اعتبارات السلامة التشغيلية، وبيانات الامتثال ووضع علامات على الجهاز.
دليل الامتثال الخاص بوحدة قارئ نظام تعريف تردد موجات الراديو (RFID) (مستند رقم 1000000002699)	يقدم معلومات حول قارئ تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) في الجهاز، وشهادات الامتثال، واعتبارات السلامة.
دليل تغيير خواص المكتبات وتخفيفها لجهاز NextSeq 1000 و2000 (المستند رقم 10000000139235)	يقدم تعليمات حول تغيير طبيعة المكتبات المجهزة وتخفيفها لتشغيل التسلسل، وإعداد وحدة التحكم PhiX الاختيارية.
دليل المشرع المخصص NextSeq 1000 و2000 (المستند رقم 10000000139569)	يقدم معلومات حول استبدال مشرع تسلسل شركة Illumina بمشرع تسلسل مخصص.
دليل إعداد موقع جهاز التسلسل NextSeq 2000 (المستند رقم 10000000109378)	يقدم مواصفات المساحة المختبرية، والمتطلبات الكهربائية، واعتبارات البيئة والشبكة.
تعليمات BaseSpace ((help.basespace.illumina.com	يوفر المعلومات حول استخدام مركز تسلسل BaseSpace™ وخيارات التحليل المتاحة.
دليل تجميع محولات المؤشر (المستند رقم 10000000041074)	يوفر إرشادات التجميع وإستراتيجيات المؤشرات المزدوجة.
تسلسلات محول Illumina (مستند رقم 10000000002694)	يوفر قوائم بتسلسلات المحول لمجموعات إعداد المكتبة لدى Illumina.

معدات الجهاز

يتألف جهاز التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 من زر الطاقة، وشاشة المراقبة، وشريط الحالة، وحجرة المستهلكات ومنافذ USB.

الشكل 1 مكونات النظام الخارجي



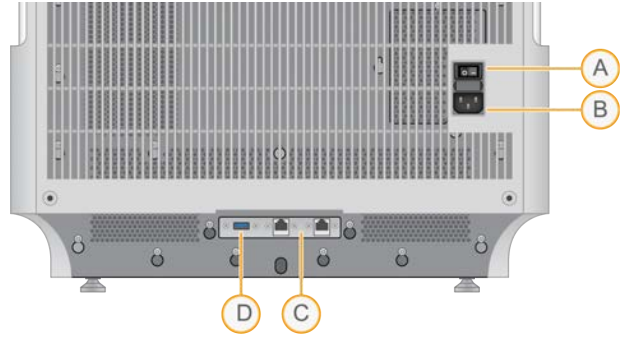
- A. حجرة مُرشِّح الهواء—توفّر إمكانية الوصول إلى مُرشِّح هواء بديل.
- B. شاشة مراقبة تعمل باللمس—تمكّن التهيئة والإعداد على الجهاز باستخدام واجهة برنامج التحكم.
- C. شريط الحالة—يقدّم اللون الفاتح بمجرد انتقال النظام عبر سير العمل الخاص به. يُشير اللون الأزرق والبنفسجي إلى التفاعلية (على سبيل المثال، فحوصات ما قبل عملية التشغيل)، ويُشير تعدد الألوان إلى اللحظات والبيانات المهمة (على سبيل المثال، اكتمال عملية التسلسل). يُشير الضوء الأحمر إلى الأخطاء بالغة الأهمية.
- D. زر الطاقة—يتحكم في طاقة الجهاز ويشير إلى ما إذا كان النظام قيد التشغيل (مضاءً) أو متوقفًا عن العمل (مطفئًا) أو متوقفًا ولكنه متّصل بطاقة التيار المتردد (يومض).
- E. منفذ USB 3.0—لتوصيل محرك الأقراص المحمول الخارجي لنقل البيانات.
- F. منافذ USB 2.0—لتوصيل الماوس ولوحة المفاتيح.

الطاقة والتوصيلات الإضافية

يُمكنك تحريك الجهاز برفق للوصول إلى مفتاح الطاقة، ومنفذ USB والتوصيلات الإضافية الأخرى على الجانب الخلفي من الجهاز. يحتوي الجزء الخلفي من الجهاز على المفتاح ومدخل للتحكم في توصيل الطاقة للجهاز، بالإضافة إلى منفذ إيثرنت في حال اخترت توصيل الإنترنت. يوفر منفذ USB 3.0 الخيار لتوصيل محرك أقراص خارجي محمول لنقل البيانات (exFAT غير مدعوم على تلك المنصة التي تستند إلى نظام التشغيل Linux).

تأتي أجهزة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 مُجهّزة بمنفذي إيثرنت لتوسيع نطاق قدرة النظام ومرونته. على سبيل المثال، يُمكن تخصيص منفذ إيثرنت واحد للاتصال بمحرك أقراص شبكة داخلي وتخصيص المنفذ الآخر للاتصال الخارجي مثل مركز تسلسل BaseSpace أو الدعم الاستباقي.

الشكل 2 مكونات اللوحة الخلفية

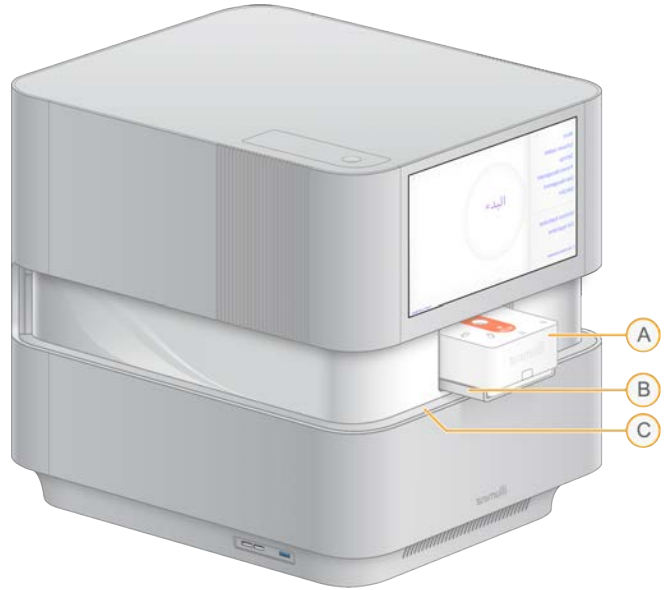


- A. مفتاح الفصل الكهربائي—لتشغيل الجهاز وإيقاف تشغيله.
- B. مدخل الطاقة—توصيل أسلاك الطاقة.
- C. منافذ إيثرنت (2)—توصيل كبل إيثرنت الاختياري.
- D. منفذ USB 3.0—لتوصيل محرك الأقراص الخارجي لنقل البيانات.

حجرة المستهلكات

تحتوي حجرة المستهلكات على الخرطوشة، بما في ذلك خلية التدفق والمكتبة المُخففة، لتشغيل التسلسل.

الشكل 3 حجرة مستهلكات مُحملة



- A. الخرطوشة—تحتوي على خلية التدفق، والمكتبة، والمواد الكاشفة، وتجمع المواد الكاشفة المستخدمة أثناء التشغيل.
- B. الدرج—يحمل الخرطوشة أثناء التسلسل.
- C. القناع—يفتح لتوفير إمكانية الوصول إلى حجرة المستهلكات.

البرنامج المتكامل

تتضمن حزمة برامج النظام تطبيقات متكاملة تقوم بتنفيذ عمليات تشغيل التسلسل والتحليل.

- برنامج التحكم **NextSeq 1000/2000**—للتحكم في عمليات تشغيل الجهاز وتوفير واجهة بغرض تهيئة النظام، وإعداد تشغيل التسلسل ومراقبة إحصاءات التشغيل أثناء تقدم التسلسل.
 - برنامج التحليل في الوقت الفعلي (**RTA3**)—يُجري تحليلاً للصورة والاستدعاء القاعدي أثناء التشغيل. لمزيد من المعلومات، راجع **إخراج التسلسل على الصفحة 44**.
 - خدمة النسخ العالمية—لنسخ ملفات الإخراج الخاصة بالتسلسل من مجلد التشغيل إلى مركز التسلسل BaseSpace (إن أمكن) ومجلد الإخراج إذ يُمكنك الوصول إليها.
- يُعدّ برنامج التحكم تفاعلياً ويُشغّل العمليات التي تجري في الخلفية تلقائياً. يقوم التحليل في الوقت الفعلي وخدمة النسخ العالمية بتشغيل العمليات الجارية في الخلفية فقط.

معلومات النظام

حدد قائمة برنامج التحكم في الزاوية العليا اليسرى لفتح قسم **About** "معلومات حول البرنامج". يتضمّن قسم **About** "معلومات حول البرنامج" معلومات التواصل الخاصة بشركة Illumina ومعلومات النظام التالية:

- رقم تسلسل الجهاز
- اسم جهاز الكمبيوتر
- إصدار مجموعة النظام
- إصدار نظام التشغيل الخاص بالصورة
- حساب إجمالي عمليات التشغيل

الإشعارات والتنبيهات

- تقع أيقونة الإشعارات في الزاوية اليمنى العليا. عند حدوث تحذير أو خطأ ما، تنزلق اللوحة اليمنى للإشارة إلى الإشعارات. حدد الأيقونة في أي وقت لعرض قائمة بالإشعارات الحالية أو السابقة للاطلاع على التحذيرات والأخطاء.
- تتطلب التحذيرات الانتباه لها، ولكنها لا توقف عملية التشغيل أو تطلب اتخاذ إجراء بخلاف الاستجابة باستلامها.
 - تتطلب الأخطاء اتخاذ إجراءات لحظها قبل بدء عملية التشغيل أو الشروع بها.

تصغير شاشة برنامج التحكم

قم بتصغير شاشة برنامج التحكم للوصول إلى تطبيقات أخرى. على سبيل المثال، للتصغّر من أجل الوصول إلى مجلد الإخراج في "مستكشف الملفات" أو العثور على أوراق العينة.

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Minimize Application (تصغير التطبيق)**.
2. لتكبير برنامج التحكم، حدد **NextSeq 1000/2000 Control Software (برنامج التحكم NextSeq 1000/2000)** من شريط الأدوات.

إدارة العمليات

تعرض شاشة Process Management (إدارة العمليات) عمليات التشغيل المؤقتة المخزنة في `usr/local/illumina/runs/`. تُعرّف كل عملية تشغيل حسب تاريخ عملية التشغيل، والاسم والمُعَرَّف. تظهر المعلومات مثل حالة عملية التشغيل، والتحليل الثانوي، ومجلد الإخراج والسحابة لكل عملية تشغيل كذلك. حدد عملية التشغيل لعرض المعلومات الإضافية، بما في ذلك سير العمل، ومتوسط درجة الجودة % Q30، وإجمالي القراءات التي تمر من الفلتر، والنتائج الإجمالي. لحذف عمليات التشغيل وتوفير المساحة، راجع [مسح مساحة القرص الصلب على الصفحة 58](#). لإعادة ترتيب التحليل في الجهاز، راجع [إعادة ترتيب عملية التشغيل على الصفحة 64](#).

حالة عملية التشغيل

يعرض هذا القسم حالة عملية تشغيل التسلسل:

- قيد التقدم—عملية تشغيل التسلسل قيد التقدم.
- مكتملة—عملية تشغيل التسلسل مكتملة.
- متوقفة—توقفت عملية تشغيل التسلسل.
- وقوع خطأ—عملية تشغيل التسلسل بها خطأ ما.

حالة التحليل الثانوي

يعرض هذا القسم حالة التحليل الثانوي ل خادم DRAGEN داخل الجهاز. سيعرض N/A (غير متاح) إذا حدث التحليل في مركز تسلسل BaseSpace.

- لم تبدأ—لم يبدأ تحليل DRAGEN بعد.
- قيد التقدم—تحليل خادم DRAGEN قيد التقدم.
- توقفت—توقف تحليل خادم DRAGEN.
- حدث خطأ—وقع خطأ ما عند تحليل خادم DRAGEN.
- اكتمل—اكتمل تحليل خادم DRAGEN.

حالة مجلد الإخراج.

يعرض هذا القسم حالة الملفات التي يجري نسخها إلى مجلد الإخراج:

- قيد التقدم—يجري نسخ الملفات إلى مجلد الإخراج.
- اكتمل—تم نسخ الملفات إلى مجلد الإخراج بنجاح.

حالة السحابة (مركز تسلسل BaseSpace)

يعرض القسم حالة الملفات التي يجري تحليلها إلى مركز تسلسل BaseSpace عبر السحابة:

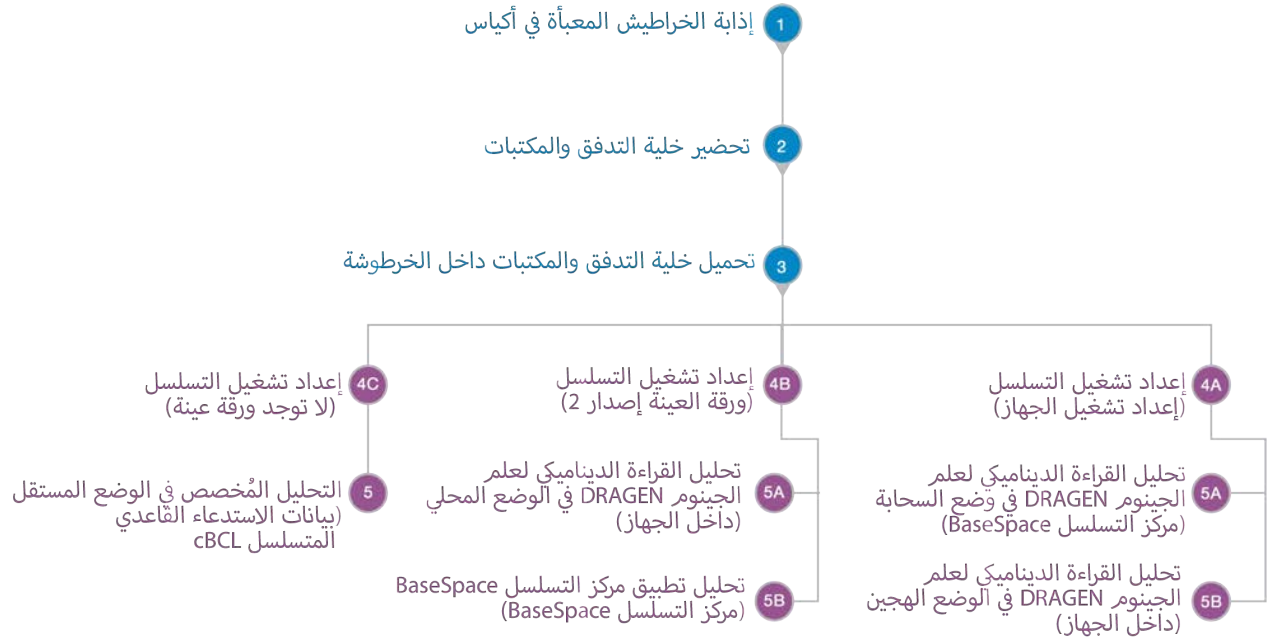
- **In Progress (قيد التقدم)**—يقوم برنامج التحكم بتحميل الملفات إلى مركز التسلسل BaseSpace.
- **Complete (اكتمال)**—تم تحميل الملفات إلى مركز تسلسل BaseSpace بنجاح.

حل مشكلة الحالة وإصلاحها

- في حال كان التشغيل قيد التقدّم، فأغلق شاشة إدارة العملية، وانتظر لمدة خمس دقائق، ثم أعد فتحها.
- إذا لم يكن التشغيل قيد التقدّم، فقم بإجراء دورة الطاقة للجهاز، ومن ثمّ أعد فتح شاشة Process Management (إدارة العملية). راجع إعادة تشغيل الجهاز على الصفحة 65.

مُخطّط بروتوكول التسلسل

يُوضّح المخطّط التالي بروتوكول التسلسل باستخدام NextSeq 1000/2000.



كيفية عمل التسلسل

يُشكل إنشاء العناقيد، والتسلسل والتحليل عمليات التسلسل التي تُجرى على جهاز التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000. تحدث كل خطوة تلقائيًا أثناء تشغيل التسلسل. وحسب تهيئة النظام، يتم إجراء المزيد من التحليلات خارج الجهاز بعد اكتمال التشغيل.

إنشاء العناقيد

يتم تغيير خواص المكتبة¹ تلقائيًا إلى أشرطة أحادية ويتم تخفيفها أكثر في الجهاز. خلال إنشاء العناقيد، يتم ربط جزيئات DNA المفردة بسطح خلية التدفق وتضخيمها لتكوين العناقيد². يستغرق إنشاء العناقيد ما يقرب من 4 ساعات.

¹ عينة الحمض النووي DNA أو الحمض النووي الريبوزي RNA التي تملك محولات مُرفقة للتسلسل. تتفاوت طرق الإعداد.
² مجموعة نسيلية من أشرطة الحمض النووي DNA على خلية التدفق التي تُنتج قراءة تسلسل واحدة. كل شريط حمض نووي DNA على خلية التدفق يُنتج قالبًا، والذي يتم تضخيمه حتى يتكوّن العنقود من مئات أو آلاف النسخ. على سبيل المثال، تُنتج خلية تدفق ذات 10000 عنقود 10000 قراءة مفردة أو 20000 قراءة ذات نهاية مقترنة.

التسلسل

يتم تصوير العناقيد باستخدام كيمياء ثنائية القناة، قناة خضراء واحدة وقناة زرقاء واحدة، لتشفير البيانات الخاصة بالنيوكليوتيدات الأربعة. يتم تصوير الشريحة التالية بعد تصوير شريحة واحدة في خلية التدفق. تُكرر العملية لكل دورة من دورات التسلسل (حوالي 5 دقائق لكل دورة). يقوم برنامج التحليل في الوقت الفعلي بإجراء استدعاء قاعدي¹، وفلتره وتسجيل الجودة² بعد تحليل الصورة.

التحليل الأولي

يقوم برنامج التحكم بنقل ملفات الاستدعاء القاعدي³ (cbcl.*) تلقائيًا إلى مجلد الإخراج المحدد من أجل تحليل البيانات، وذلك أثناء تقدم التشغيل. أثناء تشغيل التسلسل، يقوم برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA3) بإجراء تحليل الصورة والاستدعاء القاعدي وتوزيع البيانات⁴. عند اكتمال التسلسل، يبدأ التحليل الثانوي. تعتمد طريقة تحليل البيانات الثانوية على التطبيق وتهيئة النظام لديك.

التحليل الثانوي

يُمثل مركز تسلسل BaseSpace بيئة الحوسبة السحابية لشركة Illumina من أجل مراقبة التشغيل، وتحليل البيانات، والتخزين والتأزر. كما يستضيف خادم DRAGEN وتطبيقات مركز تسلسل BaseSpace، التي تدعم طرق التحليل الشائعة لإجراء التسلسل. يُجري خادم DRAGEN تحليلًا ثانويًا من خلال استخدام أحد أنابيب التحليل المتاحة بعد اكتمال تحليل التسلسل الأولي.

في حال استخدام وضع السحابة أو الوضع الهجين، يستعيد خادم DRAGEN ورقة العينة، والجينوم المرجعي وملفات إدخال عملية التشغيل من خلال إعداد عملية التشغيل بالجهاز في مركز تسلسل BaseSpace. يجري تحميل بيانات الاستدعاء القاعدي المتسلسل (cbcl) تلقائيًا، في وضع السحابة، إلى مركز تسلسل BaseSpace، كما يشرع مركز تسلسل BaseSpace في التحليل الثانوي لخادم DRAGEN. في الوضع الهجين، يُجرى التحليل الثانوي لخادم DRAGEN في الجهاز ويُمكن تخزين ملفات الإخراج في مجلد مُحدد أو في السحابة.

في حال استخدام الوضع المحلي، يستعيد خادم DRAGEN ورقة العينة، والجينوم المرجعي وملفات إدخال عملية التشغيل من خلال أنظمة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000. يُجرى التحليل الثانوي لخادم DRAGEN في الجهاز ويُمكن تخزين ملفات الإخراج في مجلد إخراج مُحدد. في حال تحديد عملية المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين، يُمكن كذلك الشروع في التحليل من خلال تطبيقات مركز التسلسل BaseSpace بعد اكتمال عملية التسلسل.

عند استخدام الوضع المستقل، قم بإعداد عملية التشغيل دون ورقة عينة. يُوصى بسير العمل هذا لعمليات سير عمل التحليل المُخصصة التي تبدأ من بيانات الاستدعاء القاعدي المتسلسل cbcl.

- للاطلاع على المزيد من المعلومات حول مركز تسلسل BaseSpace، راجع التعليمات عبر الإنترنت لمركز تسلسل BaseSpace.
- للاطلاع على المزيد من المعلومات حول خادم DRAGEN، راجع صفحة الدعم لمنصة DRAGEN Bio-IT.
- للاطلاع على نظرة عامة حول جميع التطبيقات، راجع تطبيقات BaseSpace.

¹تحديد إحدى القواعد (A، أو C، أو G أو T) لكل عنقود في إحدى الشرائح بدائرة محددة.

²يُحسب مجموعة من مؤشرات الجودة لكل استدعاء قاعدي، ثم يُستخدم قيمة المؤشر للبحث عن درجة الجودة.

³يحتوي على الاستدعاء القاعدي وسجل درجات جودة مُقترنة لكل عنقود في كل دورة تسلسل.

⁴عملية تحليل تُميز القراءات لكل مكتبة في إحدى المجموعات.

تهيئة النظام

يُقدّم هذا القسم التعليمات لإعداد النظام الخاص بك، بما في ذلك أوصاف إعدادات البرنامج. تصف هذه التعليمات برنامج التحكم بشكل أساسي، مع توفر بعض المعلومات حول تهيئة الشبكة ونظام التشغيل. سيطلبك استخدام Google Chrome على الجهاز بإلغاء قفل حلقة مفتاح تسجيل الدخول الخاصة بك. يُمكنك تجاهل المطالبة وإلغاؤها.

متطلبات حساب المُستخدم

يملك نظام التشغيل Linux ثلاثة حسابات:

- الجذر (المسؤول الأعلى)
- ilmnadmin (المسؤول)
- ilmnuser (المستخدم)

حساب المسؤول مُصمم لتطبيق تحديثات النظام فقط مثل تحديث برنامج التحكم NextSeq 1000/2000، أو للاستخدام من خلال موظفي تكنولوجيا المعلومات لتركيب مُحرك أقراص شبكة دائم. قم بأداء جميع الوظائف الأخرى، بما في ذلك التسلسل، من حساب المستخدم.

متطلبات كلمة المرور

يشرع مهندس الخدمة الميدانية في تغيير كلمة المرور لجميع الحسابات الثلاثة بعد استكمال تثبيت الجهاز. قم بتحديث جميع كلمات المرور كل 180 يوماً عند المطالبة بذلك.

الجدول 1 سياسات كلمة المرور الافتراضية

السياسة	الإعداد
فرض محفوظات كلمة المرور	تذكر خمس كلمات مرور
عتبة التأمين	عشر محاولات تسجيل دخول غير صالحة
الحد الأدنى لطول كلمة المرور	عشرة أحرف
الحد الأدنى من تنوع الأحرف	ثلاثة أحرف تضم ما يلي: الرقم، و حرفاً كبيراً، و حرفاً صغيراً ورمزاً
الحد الأقصى للأحرف المتكررة	ثلاثة أحرف
كلمات المرور يجب أن تستوفي متطلبات التعقيد	مُعطل
تخزين كلمات المرور باستخدام التشفير المعكوس	مُعطل

إضافة مستخدم جديد

1. سجّل الدخول إلى ilmnadmin.

2. حدد زر الطاقة، ومن ثم افتح القائمة المنسدلة لـ `ilmnadmin`.
3. حدد **Account Settings (إعدادات الحساب)**.
4. حدد **Unlock (إلغاء القفل)** ومن ثم أدخل كلمة مرور `ilmnadmin`.
5. حدد **Add User (إضافة مستخدم)**.
6. حدد نوع الحساب القياسي ومن ثم أدخل اسم مستخدم جديدًا.
7. حدد **Set password now (تعيين كلمة مرور الآن)** ومن ثم أدخل كلمة مرور.
8. حدد **Add (إضافة)**.
يُضاف المستخدم الجديد إلى قائمة المستخدمين.
9. احصل على إمكانية وصول المستخدم إلى برنامج تحكم NextSeq 1000/2000 كما يلي.
 - a. افتح المحطة الطرفية.
 - b. أدخل ما يلي:

```
<sudo usermod -a -G ilmnusers <new user name $
```
 - c. أدخل كلمة مرور `ilmnadmin` إذا طلب ذلك.
10. لتأكيد تعيين أذونات المستخدم بنجاح، قم بما يلي.
 - a. سجّل الدخول إلى حساب مستخدم جديد.
 - b. انتقل إلى برنامج تحكم NextSeq 1000/2000.
 - c. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
 - d. تأكد من اختيارك لمسار مجلد الإخراج وحفظه أدنى مجلد الإخراج الافتراضي.
إذا تمكنت من تحديد مسار مجلد الإخراج وحفظه دون أي أخطاء، فسُعيّن الأذونات بنجاح.

إعادة تعيين كلمة المرور

يُوضّح هذا القسم كيفية إعادة تعيين `ilmnuser`، أو `ilmnadmin` أو كلمة مرور الجذر. استعادة كلمة المرور غير مُتاحة.

إعادة تعيين كلمة مرور `ilmnuser`

يُمكنك إعادة تعيين كلمة مرور `ilmnuser` إذا كنت تعلم كلمة مرور `ilmnadmin` أو كلمة مرور الجذر.

1. سجّل الدخول إلى `ilmnadmin`.
2. افتح المحطة الطرفية.
3. أدخل `sudo passwd ilmnuser`.
4. أدخل كلمة مرور `ilmnadmin` في الحال.
5. أدخل كلمة مرور `ilmnadmin` جديدة في الحال.
6. أعد كتابة كلمة مرور `ilmnuser` جديدة في الحال لتأكيد كلمة المرور الجديدة.

إعادة تعيين كلمة مرور `ilmnadmin`

يُمكنك إعادة تعيين كلمة مرور `ilmnadmin` إذا كنت تعلم كلمة مرور الجذر.

1. سجّل الدخول إلى الجذر.

2. افتح المحطة الطرفية.
3. أدخل `passwd ilmnadmin` لتغيير كلمة مرور `ilmadmin` أو أدخل `passwd ilmnuser` لتغيير كلمة مرور `ilmnuser`.
4. أدخل كلمة المرور الجديدة في الحال.
5. أعد كتابة كلمة المرور الجديدة في الحال لتأكيد كلمة المرور الجديدة.

إعادة تعيين كلمة مرور الجذر

لإعادة تعيين كلمة مرور الجذر، استخدم أحد الخيارات التالية:

- إذا كنت تعلم كلمة المرور من آخر مرة التقطت بها صورة نظام التشغيل، فاستعد تلك الصورة المحفوظة.
- إذا كنت لا تتذكر كلمة المرور، فتواصل مع الدعم التقني لدى Illumina.

تهيئة مركز تسلسل BaseSpace والدعم الاستباقي

استخدم التعليمات التالية لتهيئة مركز التسلسل BaseSpace والدعم الاستباقي في النظام الخاص بك. لإعداد حساب في مركز تسلسل BaseSpace، راجع التعليمات عبر الإنترنت لمركز تسلسل BaseSpace.

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
2. بالنسبة لإعدادات مركز التسلسل BaseSpace والدعم الاستباقي، حدد أحد الخيارات التالية:

الخيار	الوصف والمتطلبات
* الدعم الاستباقي فقط	أرسل بيانات أداء الجهاز إلى Illumina لاستكشاف الأخطاء وإصلاحها بشكل أسرع. يتطلب اتصالاً بالإنترنت.
مراقبة عملية التشغيل والمراقبة الاستباقية	إرسال ملفات InterOp وملفات السجل إلى مركز التسلسل BaseSpace من أجل مراقبة التشغيل عن بعد. يعد هذا الخيار اقتراسياً. يتطلب إنشاء حساب بمركز تسلسل BaseSpace والاتصال بالإنترنت.
مراقبة عملية التشغيل والمراقبة الاستباقية والتخزين	إرسال ملفات InterOp، وملفات السجل، وبيانات عملية التشغيل إلى مركز التسلسل BaseSpace من أجل المراقبة وإجراء التحليل عن بعد. يتطلب إنشاء حساب بمركز تسلسل BaseSpace والاتصال بالإنترنت وورقة عينة.
None (لا شيء)	قم بقطع اتصال عمليات التشغيل من حسابات مركز تسلسل BaseSpace ولا ترسل بيانات أداء الجهاز للدعم الاستباقي لدى Illumina.

* حسب إصدار برنامج التحكم، قد يختلف اسم هذا الإعداد على واجهة البرنامج عن الاسم الموجود في هذا الدليل. عند تحديد أي خيار باستثناء "لا شيء"، يتم تمكين الدعم الاستباقي. تُعدّ هذه خدمة مجانية تُتيح لك عرض بيانات الأداء الخاصة بك على لوحة معلومات العملاء لدى MyIllumina وتُتيح لفرق الصيانة لدى Illumina استكشاف المشكلات وإصلاحها بصورة أسرع.

يتم تشغيل مراقبة عملية التشغيل والمراقبة الاستباقية اقتراسياً. لإلغاء الاشتراك في هذه الخدمة، حدد **None (لا شيء)**.

3. إذا قمت بتحديد **None (لا شيء)** في الخطوة رقم 2، فحدد **Save (حفظ)** للإبقاء. إذا فعلت ذلك، فتابع في الخطوة رقم 6.
4. من قائمة الموقع المضيف، حدد موقع خادم مركز التسلسل BaseSpace حيث يتم تحميل البيانات. تأكد من استخدام الموقع المضيف في منطقتك أو بالقرب منها.
5. إذا كان لديك اشتراك في المؤسسة، فأدخل اسم المجال (URL) المُستخدم في حساب مركز التسلسل BaseSpace الخاص بك. على سبيل المثال: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.

6. حدد **Save** (حفظ).**حدد موقع مجلد الإخراج الافتراضي**

استخدم التعليمات في هذا القسم لتحديد موقع مجلد الإخراج الافتراضي. يُمكنك تغيير مجلد الإخراج لكل عملية تشغيل خلال إعداد عملية التشغيل. يحفظ البرنامج ملفات الاستدعاء القاعدي المتسلسل¹ CBCL وبيانات التشغيل الأخرى بمجلد الإخراج. يلزم إنشاء مجلد الإخراج ما لم تتم تهيئة مركز التسلسل BaseSpace للمراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين. استخدم محرك شبكة أو محركًا خارجيًا بوصفه مجلد الإخراج الافتراضي. يؤثر مجلد الإخراج داخل الجهاز بشكل سلبي على عملية تشغيل التسلسل الخاصة بك.

حدد مجلد إخراج المحرك الخارجي

استخدم التعليمات التالية لتحديد محرك محمول خارجي بوصفه مجلد الإخراج الافتراضي. يُوصى بمحرك مدعوم بالطاقة ذاتيًا.

1. وصل محركًا محمولًا خارجيًا باستخدام منفذ USB 3.0 على الناحية الجانبية أو الخلفية من الجهاز. تأكد من أن المحرك المحمول الخارجي يسمح بكتابة الأذونات. إذا تم تعيينه إلى Read Only (القراءة فقط)، لن يتمكن برنامج التحكم من حفظ البيانات إليه.
2. قم بإنشاء مجلد جديد على محرك المحمول الخارجي. سيصبح هذا المجلد موقع مجلد الإخراج الافتراضي. يتطلب برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 مستويين من المجلدات المتداخلة على الأقل للتعرف على الموقع كمحرك محمول خارجي.
3. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
4. حدد مسار المجلد الحالي، أدنى مجلد الإخراج الافتراضي، وانتقل إلى المجلد الجديد على المحرك المحمول الخارجي.
5. **[اختياري] إذا حددت Online Run Setup (إعداد التشغيل عبر الإنترنت)** الذي يندرج أدنى Run Mode (وضع التشغيل)، وحدد أحد الخيارات من القائمة المنسدلة لموقع المضيف.
6. حدد **Save** (حفظ).

تحديد مجلد الإخراج الافتراضي لمحرك الشبكة

استخدم التعليمات التالية لتركيبة محرك شبكة دائم وحدد موقع مجلد الإخراج الافتراضي. يُمثل قالب رسائل الخادم (SMB)/نظام ملفات الإنترنت المشترك (CIFS) ونظام ملف الشبكة (NFS) الطرق المدعومة الوحيدة لتركيبة محرك شبكة على جهاز NextSeq 1000/2000 بشكل دائم.

تعليمات تركيب قالب رسائل الخادم (SMB)/نظام ملفات الإنترنت المشترك (CIFS)

1. إذا كان برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 مفتوحًا، فحدد **Minimize Application (تصغير التطبيق)**.
2. سجّل الدخول إلى ilmnadmin.
3. حدد **Applications (التطبيقات)**.
4. حدد **Terminal (محطة طرفية)** الذي يندرج أدنى Favorites (المفضلات).
5. أدخل `sudo touch /root/.smbcreds` ومن ثمّ حدد **Enter (إدخال)**.
6. أدخل `sudo gedit /root/.smbcreds` ومن ثمّ حدد **Enter (إدخال)** لفتح ملف النص المُسمّى `.smbcreds`.
7. عندما يفتح الملف النصي `.smbcreds`، أدخل بيانات اعتماد تسجيل الدخول الخاصة بك بالتنسيق التالي.

¹يحتوي على الاستدعاء القاعدي وسجل درجات جودة مُقترنة لكل عنقود في كل دورة تسلسل.

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

الأقواس غير مطلوبة لاسم المستخدم، وكلمة المرور وبيانات اعتماد المجال. بيانات اعتماد المجال ضرورية فقط في حال كان الحساب عن بُعد جزءاً من المجال.

8. حدد **Save (حفظ)** وأغلق الملف.
9. عرّف اسم الخادم واسم المجلد المشترك لخادم قالب رسائل الخادم (SMB)/نظام ملفات الإنترنت المشترك (CIFS) لديك. يجب ألا تتواجد مسافات في اسم الخادم واسم المجلد المشترك، على سبيل المثال:
اسم الخادم: 192.168.500.100 أو Myserver-myinstitute-03
اسم المجلد المشترك: share1/
10. في المحطة الطرفية، أدخل `sudo chmod 400 /root/.smbcreds` ومن ثمّ حدد **Enter (إدخال)** للتمكن من الحصول على حق الوصول إلى الملف النصي .smbcreds.
11. أدخل `sudo mkdir /mnt/<local name>`.
12. حدد **Enter (إدخال)**.
13. أدخل `sudo gedit /etc/fstab` ومن ثمّ حدد **Enter (إدخال)**.
14. عند فتح ملف fstab، أدخل ما يلي في أي مكان بالملف ومن ثمّ حدد **Enter (إدخال)**.
Server name>/<Share name> /mnt/<local name> cifs//
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
15. حدد **Save (حفظ)** وأغلق الملف.
16. في المحطة الطرفية، أدخل `sudo mount -a -vvv` ومن ثمّ حدد **Enter (إدخال)**.
مُحرك الشبكة مُثبّت الآن كـ /mnt/<local name>.
17. للتأكد مما إذا كان التثبيت صحيحاً، أدخل `df | grep <local name>` ومن ثمّ حدد **Enter (إدخال)**.
يجب أن يظهر اسم fileshare (ملف المشاركة).
18. قم بإنشاء <sub folder> جديد داخل مجلد <local name>. يُمثل المجلد الفرعي موقع مجلد الإخراج الافتراضي الخاص بك. يتطلب برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 مستويين من المجلدات المتداخلة على الأقل للتعرف على الموقع كمحرك شبكة مثبت.
19. أعد تشغيل الجهاز. راجع [إعادة تشغيل الجهاز على الصفحة 65](#).
20. عيّن محرك الشبكة المثبت الدائم كمجلد الإخراج الافتراضي. راجع [حدد محرك الشبكة الثابت بوصفه مجلد الإخراج الافتراضي على الصفحة 14](#).

تعليمات تركيب نظام ملفات الشبكة (NFS)

1. إذا كان برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 مفتوحاً، فحدد **Minimize Application (تصغير التطبيق)**.
2. سجّل الدخول إلى ilmadmin.
3. عرّف اسم الخادم لخادم نظام ملفات الشبكة (NFS) لديك. يجب ألا تتواجد مسافات في اسم الخادم، على سبيل المثال:
اسم الخادم: 192.168.500.100 أو Myserver-myinstitute-03

4. حدد **Applications (التطبيقات)**.
5. حدد **Terminal (محطة طرفية)** الذي يندرج أدنى Favorites (المفضلات).
6. أدخل `<sudo mkdir /mnt/<local name>` ومن ثم حدد **Enter (إدخال)**.
<local name> هو اسم الدليل الجديد في محرك الشبكة الخاص بك.
7. أدخل `sudo gedit /etc/fstab` ومن ثم حدد **Enter (إدخال)**.
8. عند فتح ملف `fstab`، أدخل ما يلي ومن ثم حدد **Enter (إدخال)**.
اسم الخادم: `share //mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0/`
9. حدد **Save (حفظ)** وأغلق الملف.
10. في المحطة الطرفية، أدخل `sudo mount -a -vvv` ومن ثم حدد **Enter (إدخال)**.
محرك الشبكة مثبت الآن في `/mnt/directory/<local name>`.
11. قم بإنشاء `<sub folder>` جديد داخل مجلد `<local name>`. يُمثل المجلد الفرعي موقع مجلد الإخراج الافتراضي الخاص بك.
يتطلب برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 مستويين من المجلدات المتداخلة على الأقل للتعرف على الموقع كمحرك شبكة مثبت.
12. أعد تشغيل الجهاز. راجع [إعادة تشغيل الجهاز على الصفحة 65](#).
13. عيّن محرك الشبكة المثبت الدائم كمجلد الإخراج الافتراضي. راجع [حدد محرك الشبكة الثابت بوصفه مجلد الإخراج الافتراضي على الصفحة 14](#).

حدد محرك الشبكة الثابت بوصفه مجلد الإخراج الافتراضي.

1. سجّل الدخول إلى `ilmnuser`.
2. من قائمة برنامج التحكم NextSeq 1000/2000، حدد **Settings (الإعدادات)**.
3. حدد محرك الشبكة الثابت الواقع في `<mnt/<local name>/<output directory>` الذي يندرج أدنى **Default Output Folder** (مجلد الإخراج الافتراضي).
4. **[اختياري]** إذا حددت **Online Run Setup (إعداد التشغيل عبر الإنترنت)** الذي يندرج أدنى **Run Mode** (وضع التشغيل)، فحدد أحد الخيارات من القائمة المنسدلة لموقع المضيف.
5. حدد **Save (حفظ)**.

استيراد الجينومات المرجعية المُخصصة

يُمكن استيراد الجينومات المرجعية المُخصصة الجديدة باستخدام حساب المسؤول فقط. للحصول على قائمة بجميع الجينومات المرجعية المتوافقة، تفضل بزيارة صفحة توافق المنتج NextSeq 1000/2000.

1. قم بإنشاء جينوم مرجعي باستخدام أداة الإنشاء المرجعية الخاصة بتطبيق مركز التسلسل BaseSpace لأجهزة Illumina. للاطلاع على المزيد من المعلومات، راجع التعليمات عبر الإنترنت لتطبيق أداة الإنشاء المرجعية لأجهزة Illumina إصدار `v1.0.0`.
2. سجّل الدخول إلى `ilmnadmin`.
3. حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثم حدد **Process Management (إدارة العملية)**.
4. تأكد من عدم وجود عمليات تشغيل التسلسل أو تحليل ثانوي بالجهاز قيد التقدّم.
5. حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثم حدد **DRAGEN**.
6. في قسم (الجينوم)، حدد **View Installed Genomes (عرض الجينومات المثبتة)** لعرض قائمة بجميع الجينومات المثبتة حاليًا لدى Illumina والمُخصصة.
7. أغلق النافذة الشرطية.

8. حدد **Choose** (اختيار) المُدرجة أدنى Import New Reference Genomes (استيراد الجينومات المرجعية الجديدة)، وانتقل إلى ملف الجينوم المرجعي (*tar.gz) على مُحرك الشبكة المحمول أو المثبت، ومن ثمّ حدد **Open** (فتح).
9. حدد **Import** (استيراد).

تهيئة وضع التشغيل

يسري وضع التشغيل على جميع عمليات التشغيل ويُحدد مكان إدخال مَعلَمة التشغيل وكيفية تحليل البيانات.

وضع السحابة أو وضع الهجين

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings** (الإعدادات).
2. حدد **Online Run Setup** (إعداد عملية التشغيل عبر الإنترنت) بموجب الدعم الاستباقي وخدمات مركز التسلسل BaseSpace.
3. قم بتهيئة الإعدادات الإضافية كما ينبغي من خلال تحديد ما يلي:
 - a. مراقبة عملية التشغيل والمراقبة الاستباقية أو مراقبة عملية التشغيل والمراقبة الاستباقية والتخزين.
 - b. القائمة المنسدلة الخاصة بالموقع المضيف.
 - c. [اختياري] أدخل اسم مجال خاصًا.
4. حدد **Save** (حفظ).

الوضع المحلي أو المستقل

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings** (الإعدادات).
2. حدد **Local Run Setup** (إعداد عملية التشغيل المحلية) بموجب الدعم الاستباقي وخدمات مركز التسلسل BaseSpace.
3. قم بتهيئة الإعدادات الإضافية كما ينبغي من خلال تحديد ما يلي:
 - a. الدعم الاستباقي فقط، أو المراقبة الاستباقية ومراقبة عملية التشغيل، أو المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين أو لا شيء.

سيُتيح لك مركز تسلسل BaseSpace وظيفة إعادة الترتيب فقط إذا تم تحديد **Proactive, Run Monitoring and**

Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين). في حال وجود ورقة عينة غير صالحة، سيُتيح لك ذلك

إجراء التصحيحات على ورقة العينة وإعادة ترتيب تحليل نظام موزع البيانات. بالنسبة لوظيفة إعادة الترتيب الموجودة بالجهاز،

راجع إعادة ترتيب عملية التشغيل على الصفحة 64.

b. القائمة المنسدلة الخاصة بالموقع المضيف.

c. [اختياري] أدخل اسم مجال خاصًا.

4. حدد **Save** (حفظ).

اعتبارات ورقة العينة في الوضع المحلي أو المستقل

يجب عليك استخدام تدسيق ملف الإصدار الثاني لورقة العينة للتحليل باستخدام خادم DRAGEN. يتوافق تدسيق ملف الإصدار الثاني لورقة العينة

كذلك مع تطبيقات مركز تسلسل BaseSpace التي لا تكون غير مُمكنة في خادم DRAGEN. للاطلاع على معلومات بشأن إنشاء ورقة عينة

بتدسيق ملف الإصدار الثاني، راجع إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة على الصفحة 68.

تخصيص الجهاز

يتضمن هذا القسم المعلومات بشأن تهيئة إعدادات التخصيص المتاحة. لتعيين مجلد الإخراج الافتراضي، راجع **حدد موقع مجلد الإخراج الافتراضي** على الصفحة 12.

تسمية الجهاز

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
2. حدد **Instrument Nickname** (اللقب الخاص بالجهاز)، وأدخل اسمًا مفضلًا للجهاز. يظهر الاسم في أعلى كل شاشة.
3. حدد **Save (حفظ)**.

تعيين تفضيلات تغيير الخواص والتخفيف

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
2. اختر ما إذا كان يجب تغيير خواص المكتبات وتخفيفها داخل الجهاز تلقائيًا. يُحدد الإعداد افتراضيًا على أساس الخيار المُحدد لعملية التشغيل السابقة.

- لتغيير خواص المكتبات وتخفيفها داخل الجهاز تلقائيًا، حدد مربع اختيار **Denature and Dilute On Board (تغيير الخواص وتخفيفها داخل الجهاز)**.
 - لتغيير خواص المكتبات وتخفيفها يدويًا، ألق تحديد مربع اختيار **Denature and Dilute On Board (تغيير الخواص وتخفيفها داخل الجهاز)**.
- راجع دليل تغيير خواص المكتبات وتخفيفها (المستند رقم 1000000139235) للاطلاع على التعليمات بشأن تغيير خواص المكتبات وتخفيفها يدويًا.

تعيين تفضيلات إزالة التلقائية للكاشف

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
 2. اختر ما إذا كان يجب على النظام إزالة الكواشف غير المستخدمة تلقائيًا إلى حجرة الكواشف المستعملة بعد كل عملية تشغيل لتيسير التخلص من مخلفات الكواشف بعد اكتمال عملية التشغيل:
 - للإزالة تلقائيًا، حدد مربع اختيار **Purge Reagent Cartridge (إزالة خرطوشة الكاشف)**.
 - لتخطي الإزالة التلقائية، ألق تحديد مربع اختيار **Purge Reagent Cartridge (إزالة خرطوشة الكاشف)** (يُعد هذا الإعداد الافتراضي).
 3. حدد **Save (حفظ)**.
- يُضيف إزالة الكواشف غير المستخدمة ساعتين إلى سير العمل.

تهيئة تحديثات البرنامج

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
2. اختر ما إذا كان النظام يقوم تلقائيًا بالتحقق من تحديثات البرامج:
 - للتحقق التلقائي، حدد خانة اختيار **Autocheck for software updates (التحقق التلقائي من تحديث البرامج)**.
 - للتحقق اليدوي، قم بإلغاء تحديد خانة اختيار **Autocheck for software updates (التحقق التلقائي من تحديث البرامج)**. يتطلب التحقق من تحديثات البرنامج تلقائيًا اتصالًا بالإنترنت. لمزيد من المعلومات حول تثبيت تحديثات البرامج، راجع [تحديثات البرنامج على الصفحة 58](#).
3. حدد **Save (حفظ)**.

تغيير إضاءة شاشة الكريستال السائلة LCD

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Settings (الإعدادات)**.
2. انقل شريط تمرير إضاءة شاشة الكريستال السائلة LCD إلى النسبة المرغوب بها.
3. حدد **Save (حفظ)**.

المستهلكات والمعدات

يُدرج هذا القسم كل العناصر التي تأتي في مجموعة الكاشف بالإضافة إلى ظروف التخزين. يُمكنك عرض المستهلكات والمعدات الإضافية التي يجب عليك شراؤها كذلك لإكمال البروتوكول وتنفيذ إجراءات الصيانة واستكشاف الأخطاء وإصلاحها.

مستهلكات التسلسل

يُطلب إجراء التسلسل على جهاز NextSeq 1000/2000 مجموعة كواشف واحدة NextSeq 1000/2000 P2 من Illumina تُستخدم لمرة واحدة أو مجموعة كواشف واحدة NextSeq 1000/2000 P3 من Illumina تُستخدم لمرة واحدة. مجموعة الكاشف NextSeq 1000/2000 P2 متاحة بثلاثة أحجام (100 دورة، و200 دورة و300 دورة) ومجموعة الكاشف NextSeq 1000/2000 P3 متاحة بأربعة أحجام (50 دورة، و100 دورة، و200 دورة و300 دورة).

يُعدّ جهاز التسلسل NextSeq 1000 متوافقًا مع مجموعة الكواشف NextSeq 1000/2000 P2 من Illumina فقط.

توفر مجموعة الكاشف الخرطوشة وخلية التدفق لإجراء التسلسل. عندما تحصل على كواشف NextSeq 1000/2000 P2 أو مجموعة الكاشف NextSeq 1000/2000 P3 من Illumina:

- قم بتخزين المكونات على الفور في درجات الحرارة المُشار إليها لضمان الأداء السليم.
- لا تفتح أيًا من أكياس الرقاقة المعدنية إلا إذا تلقيت تعليمات بذلك.
- خزّن الخرطوش في العبوة الخاصة بها لتجنّب تمزّق كيس الرقاقة المعدنية أو تعرّضها للثقب.
- خزّن الخرطوش بحيث تُشير الأسهم لأعلى.

⚠ إذا كان ملصق الخرطوشة غير مُوجّه لأعلى، فستتأثر بيانات التسلسل بشكل سلبي.

الجدول 2 مكونات المجموعة

المادة المستهلكة	الكمية	درجة حرارة التخزين	الأبعاد
خرطوشة	1	من -25 إلى -15 درجة مئوية	29.2 سم × 17.8 سم × 12.7 سم 11.5 بوصة × 7 بوصات × 5 بوصات
خلية التدفق	1	من درجتين مؤبّتين إلى 8 درجات مئوية*	21.6 سم × 12.7 سم × 1.9 سم (8.5 بوصة × 5 بوصات × 0.75 بوصة)
محلول إعادة التعليق المخفف RSB مع محلول Tween 20	1	من -25 إلى -15 درجة مئوية	4 سم × 6.6 سم × 5 سم (1.6 بوصة × 2.6 بوصة × 2 بوصة)

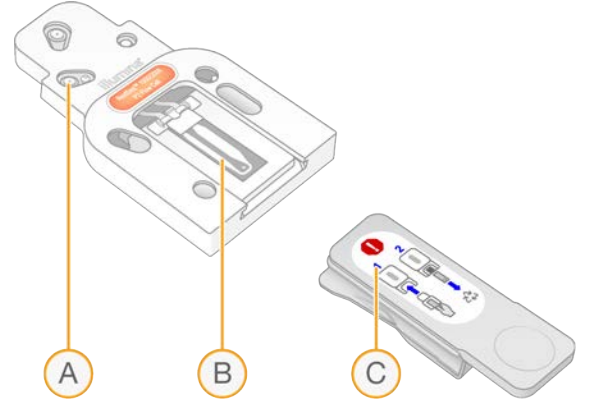
*يتم الشحن في درجة حرارة الغرفة.

تملك كل من المستهلكات معرّفات بغرض التعقب وضمان الامتثال. تستخدم الخرطوشة وخلية التدفق ميزة تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID).¹⁾

¹⁾ تحديد الهوية باستخدام الترددات الراديوية

خلية التدفق

خلية التدفق عبارة عن خلية تدفق نموذجية ذات ممر واحد. خرطوشة بلاستيكية تغلف خلية التدفق الزجاجية. يُغطي اللسان الرمادي خلية التدفق ويبرز منها لضمان التعامل الآمن.

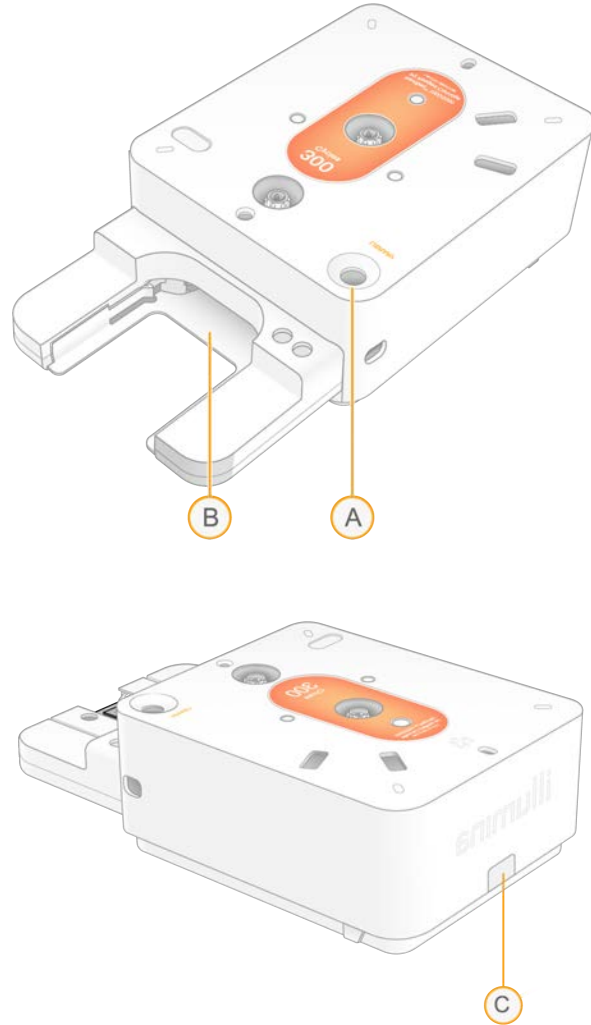


- A. الخرطوشة البلاستيكية
- B. خلية التدفق
- C. اللسان الرمادي

تغطي الملايين من مَجْمَعَات النانو سطح خلية التدفق. يتم إنشاء العناقيد في مجمعات النانو والتي يتم من خلالها بعد ذلك إجراء تفاعل التسلسل. يُزيد الترتيب النموذجي لمجمعات النانو من قراءات المخرجات والبيانات.

خرطوشة

يتم ملء خرطوشة المادة الكاشفة للتسلسل مسبقًا باستخدام العناقيد، والتسلسل، والقراءة مزدوجة الطرفين، والمواد الكاشفة للمؤشرات. يخصص الخزان محكم الغلق بالرقائق المعدنية للمكتبات، وتخصص الفتحة الموجودة في المقدمة لخلية التدفق.



- A. خزانة المكتبة
- B. فتحة خلية التدفق
- C. سدادة التصريف

تحتوي الخرطوشة على جميع مستهلكات عملية التشغيل: المواد الكاشفة، والمكتبة و خلية التدفق. يتم تحميل المكتبة و خلية التدفق في الخرطوشة المُدَابة، والتي يتم تحميلها بعد ذلك في الجهاز. بعد بدء عملية التشغيل، يتم نقل المواد الكاشفة والمكتبة تلقائيًا من الخرطوشة إلى خلية التدفق. تحتوي الخرطوشة على مضخات، وصمامات وجميع الاسوائليات من أجل الحفاظ على النظام، بما في ذلك خزان بالجانب السفلي لتجميع الكواشف المستخدمة. يتم التخلص من الخرطوشة بعد عملية التشغيل، لذلك لا تكون عمليات غسل الجهاز ضرورية.

عدد الدورات المدعومة


يُشير الملصق على الخرطوشة إلى عدد الدورات التي يجري تحليلها وليس إلى عدد الدورات التي يتم إجراؤها. تتوافق خلية التدفق مع أي عدد من الدورات ومع أي نوع من القراءات.

تتضمّن جميع الخرطوشة ذات 100 دورة وذات 200 دورة 38 دورة إضافية. تتضمّن الخرطوشة ذات 300 دورة 27 دورة إضافية. على سبيل المثال، توفر الخرطوشة ذات 300 دورة مواد كاشفة تفي بعدد يصل إلى 327 دورة من دورات التسلسل. للحصول على المزيد من المعلومات حول عدد الدورات التي يجب إجراء تسلسل لها، راجع [عدد الدورات في إحدى القراءات](#).

أوصاف الرموز

يصف الجدول التالي الرموز على المستهلكات أو مواد التغليف للمستهلكات.

الوصف	الرمز
التاريخ الذي تنتهي خلاله صلاحية المستهلكات. للحصول على أفضل النتائج، استخدم المستهلكات قبل هذا التاريخ.	
يشير إلى جهة التصنيع (Illumina).	
مُخصص للاستخدام البحثي فقط (RUO).	
يشير إلى رقم قطعة الغيار حتى يُمكن التعرف على المستهلكات ¹ .	
يشير إلى رمز الحزمة بغرض تحديدها أو تحديد المجموعة التي تم تصنيع المستهلكات ضمنها ¹ .	
يشير إلى الخطر الصحي.	

الوصف	الرمز
نطاق درجة حرارة التخزين بالدرجات المئوية. تُخزن المستهلكات ضمن النطاق المُشار إليه 2.	

المستهلكات الإضافية

قم بشراء المستهلكات التالية لإجراء التسلسل والصيانة.

مستهلكات التسلسل

الجدول 3 مستهلكات التسلسل

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
القفاضات الخالية من المساحيق والقابلة للاستعمال مرة واحدة	مورد المختبر العام	الغرض العام.
مجموعة الكواشف NextSeq 1000/2000 P2 (الإصدار الثالث)	illumina: كتالوج رقم 20046811 (100 دورة) كتالوج رقم 20046812 (200 دورة) كتالوج رقم 20046813 (300 دورة)	يوفر خرطوشة الكاشف، وخليبة التدفق، ومحلول إعادة التعليق المخفف RSB لجهاز NextSeq 1000/2000 مع محلول Tween 20 لعملية التشغيل المفردة. متوافق مع جهاز التسلسل NextSeq 1000 و2000
مجموعة الكواشف NextSeq 2000 P3	illumina: كتالوج رقم 20046810 (50 دورة) كتالوج رقم 20040559 (100 دورة) كتالوج رقم 20040560 (200 دورة) كتالوج رقم 20040561 (300 دورة)	يوفر خرطوشة الكاشف، وخليبة التدفق، ومحلول إعادة التعليق المخفف RSB لجهاز NextSeq 1000/2000 مع محلول Tween 20 لعملية التشغيل المفردة. متوافق مع NextSeq 2000 فقط.
أنابيب دقيقة، 1.5 مللي	Fisher Scientific، كتالوج رقم -14-222-158، أو ما يعادله من الأنابيب ذات خاصية ترابط المواد المنخفض	تخفيف المكتبات إلى تركيز التحميل.
أطراف الماصة، 10 ميكرولترات	مورد المختبر العام	تخفيف المكتبات.
أطراف الماصة، 20 ميكرولترًا	مورد المختبر العام	تخفيف المكتبات وتحميلها.
أطراف الماصة، 200 ميكرولتر	مورد المختبر العام	تخفيف المكتبات.
أطراف الماصة، 1000 ميكرولتر	مورد المختبر العام	ثقب الرقاقة المعدنية لخزانة المكتبة.

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
[اختياري] PhiX Control v3	Illumina، كتالوج رقم FC-110-3001	إجراء عملية تشغيل PhiX فقط أو الزيادة في PhiX control.
[اختياري] المناشف الورقية	مورد المختبر العام	تجفيف الخرطوشة بعد وضعها في حمام مياه.

المستهلكات للصيانة

الجدول 4 المستهلكات للصيانة

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
القفازات الخالية من المساحيق والقابلة للاستعمال مرة واحدة	مورد المختبر العام	الغرض العام.
استبدال مرشح هواء جهاز التسلسل *NextSeq 1000/2000	Illumina، كتالوج رقم 20029759	استبدال مرشح الهواء كل ستة أشهر.

*يتم شحن الجهاز ويزود بجهاز واحد مركب وآخر احتياطي. عندما لا يكون الجهاز مشمولاً بالضمان، يتم توفير البدائل من قبل المستخدم. أبق الجهاز في العبوة حتى الاستخدام.

المعدات الإضافية

قم بشراء المعدات التالية لأغراض التسلسل.

عنصر	مصدر	الغرض
حجرة التجميد، من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية	مورد المختبر العام	تخزين الخرطوشة.
دلو تلج	مورد المختبر العام	ضع المكتبات جانباً حتى إجراء التسلسل.
ماصة، 10 ميكرو لترات	مورد المختبر العام	تخفيف المكتبات إلى تركيز التحميل.
ماصة، 20 ميكرو لترًا	مورد المختبر العام	تخفيف المكتبات إلى تركيز التحميل وتحميل المكتبات في الخرطوشة.
ماصة، 200 ميكرو لتر	مورد المختبر العام	تخفيف المكتبات إلى تركيز التحميل.
ثلاجة، من 2 درجة مئوية إلى 8 درجات مئوية	مورد المختبر العام	تخزين خلية التدفق أو إذابة الخرطوشة.

الغرض	مصدر	عنصر
إذابة الخرطوشة.	<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Fisher Scientific، الكتالوج رقم TSCIR 35 • Shel Lab، كتالوج رقم SWBC22 	<p>[اختياري] أحد حمامات المياه التي يُمكن التحكم في درجة حرارتها أو ما يساويها:</p> <ul style="list-style-type: none"> • الدقة العلمية الحرارية، حمام مائي موزع بسعة 35 لترًا (يحمل 5 خراطيش في آن واحد) • SHEL LAB، حمام مائي موزع رقميًا بسعة 22 لترًا (يحمل 3 خراطيش في آن واحد)

البروتوكول

يُقدّم هذا القسم تعليمات خطوة بخطوة حول كيفية إعداد المستهلكات، وتخفيف المكتبات وإعداد عملية تشغيل التسلسل في أحد أوضاع التشغيل الأربعة (يستخدم وضع الاسحابية، والهجين والوضع المحلي خادم DRAGEN أو مركز تسلسل BaseSpace، بينما الوضع المستقل عبارة عن عملية تشغيل مستقلة مُصممة لإنشاء بيانات الاستدعاء القاعدي المتسلسل cBCL لعمليات سير عمل التحليل المُخصصة فقط). عند التعامل مع الكواشف والمواد الكيميائية الأخرى، ارتد نظارات السلامة، ومعطف المختبر والقفازات الخالية من المساحيق. تأكد من أن لديك المستهلكات والمعدات المطلوبة قبل بدء البروتوكول. راجع **المستهلكات والمعدات**. اتبع البروتوكولات حسب الترتيب الظاهر، باستخدام الكميات، ودرجات الحرارة والفترات الزمنية المحددة.

اعتبارات التسلسل

قبل بدء البروتوكول، راجع المعلومات التالية لإعداد المكتبات المُخففة وإعداد عملية التشغيل. تحقيق تركيز التحميل الأمثل أمر مهم للغاية لإجراء التسلسل والتحليل بنجاح. يُساعد إدخال عدد الدورات الصحيح في إحدى القراءات في ضمان إخراج البيانات بالشكل الأمثل.

حجم التحميل والتركيزات

حجم التحميل هو 20 ميكرولتراً. يختلف تركيز التحميل حسب نوع المكتبة:

نوع المكتبة	تركيز التحميل (بالبيكومول)
مكتبة AmpliSeq™ for Illumina Library PLUS	750
إعداد الحمض النووي DNA لدى Illumina	750
إعداد الحمض النووي DNA مع التخصيب لدى Illumina	1000
إجمالي أشرطة الحمض النووي الريبوزي RNA مع مجموعة Ribo-Zero Plus لدى Illumina	750
إعداد أشرطة الحمض النووي الريبوزي المرسل mRNA لدى Illumina	750
الحمض النووي DNA الخالي من تفاعل سلسلة البوليميرات (PCR) لدى Illumina	1000
PhiX % 100	650
TruSeq DNA Nano 350 (نانو الحمض النووي DNA 350 - TruSeq)	1200
TruSeq DNA Nano 550 (نانو الحمض النووي DNA 550 - TruSeq)	1500
أشرطة الحمض النووي الريبوزي المرسل mRNA - TruSeq	1000

بالنسبة لأنواع المكتبات الأخرى، يُوصى أن تكون نقطة البداية لتركيز التحميل هي 650 بيكومول. قم بتحسين هذا التركيز في عمليات التشغيل اللاحقة لتحديد تركيز التحميل الذي ينتج البيانات بصورة مستمرة والتي تستوفي المواصفات.

i لتحسين تركيز التحميل، استخدم مقياس تركيز التحميل % في ملف إخراج PrimaryAnalysisMetrics.csv المُتاح بعد اكتمال عملية التشغيل. إذا كانت نسبة تركيز التحميل > 95%، فافزح تركيز التحميل بزيادات قدرها 100 بيكومول عبر عمليات التشغيل اللاحقة.

عدد الدورات في إحدى القراءات

يساعد إدخال 26 دورة كحدّ أدنى و151 دورة كحدّ أقصى لكل قراءة على ضمان جودة البيانات. كما يعتمد العدد الدقيق للدورات على التجربة التي تقوم بها. يتطلب برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 دورة واحدة على الأقل للقراءة 1، لكنه يعرض تحذيرًا عندما يكون عدد الدورات في القراءة 1 أقل من 26.

لا يُمكن أن يزيد العدد الإجمالي للدورات في القراءة 1، والمؤشر 1، والمؤشر 2 والقراءة 2 عن عدد الدورات التي تدعمها المجموعة kit plus 38 للمجموعات ذات 100 دورة و200 دورة و27 دورة للمجموعات ذات 300 دورة. سيعرض برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 تحذيرًا عندما يكون المؤشر 1 والمؤشر 2 أقل من 6 دورات. لن يُعرض التحذير إذا كان المؤشر 1 أو المؤشر 2 يتضمّن 0 دورة.

يتضمن عدد دورات الحد الأدنى والحد الأقصى دورة إضافية. أضف دومًا دورة واحدة إلى طول القراءة المرغوب به لتصحيح آثار المطاوعة وما قبل المطاوعة. يعتبر طول القراءة هو عدد دورات التسلسل في القراءة رقم 1 والقراءة رقم 2، والتي تستبعد الدورات الإضافية ودورات المؤشرة.

للإطلاع على المزيد من المعلومات، راجع تصحيح المطاوعة في سير عمل التحليل في الوقت الفعلي على الصفحة 46.

مثال على إعداد التشغيل:

- للحصول على طول قراءة 35 (قراءة مفردة)، أدخل 36 في حقل القراءة رقم 1.
- للحصول على طول قراءة 150 لكل قراءة (ذات نهاية مقترنة)، أدخل 151 في حقل القراءة رقم 1، و151 في حقل القراءة رقم 2.

التخطيط لعملية تشغيل التسلسل في مركز تسلسل BaseSpace

استخدم إعداد عملية تشغيل الجهاز في مركز تسلسل BaseSpace لإنشاء إعدادات التشغيل الخاصة بك وتثبيتها. إذا قمت بإعداد عملية تشغيل في وضع السحابة أو الوضع الهجين، فأرسل تهيئة عملية التشغيل إلى قائمة عمليات التشغيل المُخطط لها بحساب مركز تسلسل BaseSpace في علامة تبويب Planned Runs (عمليات التشغيل المُخطط لها). تُعرض عمليات التشغيل المتاحة لإجراء التسلسل على أجهزة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 في علامة تبويب Planned Runs (عمليات التشغيل المُخطط لها). إذا قمت بإعداد عملية التشغيل في الوضع المحلي، فاستخدم إعداد عملية التشغيل لإنشاء ورقة العينة الخاصة بك وتصديرها بتنسيق ملف الإصدار الثاني v2. وبدلاً من ذلك، راجع إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة على الصفحة 68 لإنشاء ورقة عينة دون مركز تسلسل BaseSpace باستخدام القالب المُقدّم. لا يدعم إعداد تشغيل الجهاز لمركز تسلسل BaseSpace عدد 385 عينة أو ما يزيد عنها.

إعداد عملية تشغيل

1. انتقل إلى مركز التسلسل BaseSpace.
 2. أدخل عنوان البريد الإلكتروني الخاص بك وكلمة مرور مركز التسلسل BaseSpace، ومن ثمّ حدد **Sign In (تسجيل الدخول)**.
 3. حدد علامة التبويب **Runs (عمليات التشغيل)** ومن ثمّ حدد القائمة المنسدلة لـ **New Run (عملية تشغيل جديدة)**.
 4. حدد **NextSeq 1000/2000**.
 5. في حقل **Run Name (اسم عملية التشغيل)**، أدخل الاسم المميز الذي تريده لتحديد التشغيل الحالي.
 6. يمكن أن يحتوي اسم التشغيل على 225 من الأحرف الأبجدية الرقمية، والمسافات، والشرطات، والشرط السفلية كحدّ أقصى.
 6. حدد أحد مواقع التحليل التالية.
- **BaseSpace**—حلل بيانات التسلسل في السحابة.
 - **المحلي**—حلل بيانات التسلسل بالجهاز أو قم بإنشاء الإصدار الثاني لورقة العينة للوضع المحلي أو الهجين.
7. حدد نوع التحليل وإصداره.

للاطلاع على المزيد من المعلومات حول عمليات التحليل الثانوية، راجع ملفات إخراج التحليل الثانوي لـ **DRAGEN** على الصفحة 50 أو وثائق تطبيق مركز التسلسل BaseSpace. إذا حددت تحليل الحمض النووي الريبوزي للخلية المفردة بـ **DRAGEN**، فراجع صفحة المنتجات المتوافقة لمنصة DRAGEN Bio-IT للاطلاع على المعلومات حول توافق مجموعة إعداد مكتبة الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة.

i بالنسبة للتحليل داخل الجهاز، يجب أن يتطابق الإصدار المُحدد مع إصدار DRAGEN المُثبت على الجهاز. لتأكيد إصدار DRAGEN المُثبت على الجهاز، راجع **تحديثات الترخيص وأنابيب خادم DRAGEN** على الصفحة 60.

8. **[اختياري]** قم بإعداد مجموعات المؤشر المخصصة كما يلي.

إذا كنت تستخدم أكثر من مكتبة واحدة، يجب أن يكون لدى المكتبات أطوال قراءة المؤشر نفسها.

a. حدد خيار **Add Custom Index Adapter Kit (إضافة مجموعة محول المؤشر المخصص)** الذي يندرج أدنى القائمة المنسدلة لمجموعة محول المؤشر.

b. حدد نوع القالب وأدخل اسم المجموعة، وتسلسلات المحول، وإستراتيجيات المؤشر وتسلسلات المؤشر. تأكد من أن تسلسلات محول المؤشر الثاني (i5) في اتجاه أمامي.

c. حدد **Create New Kit (إنشاء مجموعة جديدة)**.

9. **[اختياري]** قم بإعداد مجموعة إعداد المكتبة المخصصة كما يلي.

a. حدد خيار **Add Custom Library Prep Kit (إضافة مجموعة إعداد المكتبة المخصصة)** الذي يندرج أدنى القائمة المنسدلة لمجموعة إعداد المكتبة.

b. أدخل الاسم، وأنواع القراءة، ودورات القراءة الافتراضية ومجموعات محول المؤشر المتوافقة لمجموعة إعداد المكتبة المخصصة لديك.

c. حدد **Create New Kit (إنشاء مجموعة جديدة)**.

10. حدد إعدادات الجهاز التالية. يتم تحديد الخيارات الموصى بها تلقائيًا حسب مجموعة إعداد المكتبة. بعض مجموعات إعداد المكتبة بها عدد ذو ترميز ثابت لقراءات المؤشرات وأنواع القراءة، والتي لا يُمكن تغييرها.

- مجموعة إعداد المكتبة
- مجموعة محول المؤشر
- عدد قراءات المؤشر
- نوع القراءة
- عدد دورات التسلسل لكل قراءة

i في حال اختيار (غير مُحدد) لمجموعة إعداد المكتبة، فلن يتم تحديث عدد قراءات الفهرس حتى يتم إدخال عمليات تسلسل المؤشر في قسم بيانات العينة.

11. أدخل معلومات العينة في جدول بيانات العينة باستخدام أحد الخيارات التالية. لتجميع العينات من أجل تجميع البيانات خلال تحليل المراحل النهائية، عيّن اسمًا للمجموعة في عمود المشروع.

- حدد **Import Data (استيراد البيانات)** ومن ثمّ حدد ورقة العينة الخاصة بك. تأكد من أن تسلسلات المؤشر المُحددة في قسم ورقة عينة **BCLConvert_Data** تُطابق مجموعة المؤشر المُحددة في **NextSeq 1000/2000** وأن ورقة العينة الخاصة بك تُلبي متطلبات التنسيق. راجع **إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة على الصفحة 68**. قد ينتج عن تغيير ورقة العينة الخاصة بك بعد عملية التحميل الأولية فشل التحميل.
- قم بلصق مُعرّفات العينة وإما مواقع المجمع للوحة المؤشر أو مؤشرات i7 و i5 من الملف الخارجي بشكل مباشر. قبل اللصق، أدخل عدد صفوف العينة في حقل **Rows (الصفوف)** ومن ثمّ حدد **+**. قد تحتوي مُعرّفات العينة على ما يصل إلى 20 حرفًا أبجديًا رقمي، ووصلات، وشرط سفلية.

تتطلب لوحات المؤشر للمخطط الثابت إدخالات لموقع المجمع. تتطلب المؤشرات التي لا تملك مخططًا ثابتًا إدخالات للمؤشرات i7 و i5. يجب إدخال مؤشرات i5 في الاتجاه الأمامي.

- أدخل معرفات العينة ومواقع المجمع أو المؤشرات المتوافقة. إذا اخترت Not Specified (غير مُحدد) لمجموعة إعداد المكتبة، أدخل تسلسلات المؤشر 2 (i5) في الاتجاه الأمامي.

12. حدد **Next** (التالي).

إعداد التحليل الثانوي

قم بتهيئة إعدادات نوع التحليل المُحدد لعملية التشغيل الخاصة بك.

تحويل ملفات الاستدعاء القاعدية لخادم DRAGEN لدى Illumina

استخدم الخطوات التالية لتهيئة تحليل تحويل ملفات الاستدعاء القاعدية لخادم DRAGEN لدى Illumina.

1. أدخل الإعدادات الاختيارية التالية.

الإعداد	الوصف
AdapterRead1	تسلسل المحول للقراءة رقم 1. عند استخدام مجموعة إعداد المكتبة لدى Illumina، اترك حقل AdapterRead1 فارغًا.
AdapterRead2	تسلسل المحول للقراءة رقم 2. عند استخدام مجموعة إعداد المكتبة لدى Illumina، اترك حقل AdapterRead2 فارغًا.
BarcodeMismatchesIndex1	عدد التفاوتات المسموح بها بين قراءة المؤشر الأولى وتسلسل المؤشر. القيمة الافتراضية 1. إذا كان الرمز الشريطي به 6 أزواج قاعدية، فالقيمة الموصى بها هي 0.
BarcodeMismatchesIndex2	عدد التفاوتات المسموح بها بين قراءة المؤشر الثانية وتسلسل المؤشر. القيمة الافتراضية 1. إذا كان الرمز الشريطي به 6 أزواج قاعدية، فالقيمة الموصى بها هي 0.
OverrideCycles	الشريط المستخدم لتحديد دورات المُعرّف الجزيئي الفريد UMI وإخفاء دورات القراءة. القيم التالية مسموح بها: <ul style="list-style-type: none"> • N—تُحدد الدورات التي يجب تجاهلها. • Y—تُحدد دورات التسلسل. • I—تُحدد دورات المؤشر. • U—تُحدد دورات المُعرّف الجزيئي الفريد UMI التي يجب تشذيبها. يفصل كل عنصر فواصل منقوطة. ما يلي هو أمثلة على إدخال OverrideCycles U8Y143; I8; I8; U8Y143 N10Y66; I6; N10Y66

2. حدد ما إذا كان يجب حفظ نسخة من ملفات FASTQ الخاصة بك. يتم إنشاء ملفات FASTQ إذا اخترت الاحتفاظ بملفات FASTQ فقط.

3. حدد أحد الخيارات التالية لتدقيق إخراج FASTQ:

- **gzip**—احفظ ملفات FASTQ بتدقيق gzip.

• **DRAGEN**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق .ora

4. أكمل تهيئة عملية التشغيل.

- لإرسال تهيئة عملية التشغيل إلى حساب مركز تسلسل BaseSpace الخاص بك، حدد **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. تظهر عمليات التشغيل المُرسلة إلى مركز تسلسل BaseSpace في قائمة عمليات التشغيل المُخطط لها كما أنها متاحة للأنظمة باستخدام وضع السحابة أو الوضع الهجين.
- لحفظ تهيئة عملية التشغيل كورقة عينة بتنسيق ملف الإصدار الثاني، حدد **Export Sample Sheet (تصدير ورقة العينة)** من القائمة المنسدلة لـ **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. ورقة العينة ضرورية لبدء عمليات التشغيل على الأنظمة باستخدام الوضع Local (المحلي). هذا الخيار مُتاح فقط إذا تم تحديد Local (المحلي) لموقع التحليل.

تخصيب خادم DRAGEN لدى Illumina

استخدم الخطوات التالية لتهيئة تحليل تخصيب خادم DRAGEN لدى Illumina.

1. حدد جينوم مرجعيًا.
استخدم الجينوم المرجعي مع alt aware إذا أمكن.
2. حدد ملفًا بصيغة *.bed يحتوي على المناطق التي تودّ استهدافها أو حمل ملفًا مُخصصًا جديدًا.
تأكد من أن الجينوم المرجعي لملف بصيغة BED يُطابق الجينوم المرجعي المُحدد في الخطوة رقم 1. بالنسبة إلى ملف مُخصص جديد بصيغة BED، استخدم تنسيق التسمية التالي: `name_of_panel_versionNumber.referencegenome.bed`.
- **الوضع المحلي—حدد (Select Custom File (Local (تحديد ملف مُخصص (محلي))** لتحميل عملية تشغيل مُفردة أو **(Upload Custom File (BaseSpace) (تحميل ملف مُخصص (BaseSpace))** للاستخدام المتكرر.
- **وضع السحابة أو الوضع الهجين—حدد (تحميل ملف مُخصص (BaseSpace))**. يتوفر ملف مُخصص بصيغة BED في مجموعة العمل التي تم تحميله إليها فقط.
3. حدد إما السلالة الجراثومية وإما مسؤول الاستدعاء المتغير الجسدي.
4. حدد تعيينًا/قم بمحاذاة لتنسيق الإخراج.
5. حدد ما إذا كان يجب حفظ نسخة من ملفات FASTQ الخاصة بك. يتم إنشاء ملفات FASTQ إذا اخترت الاحتفاظ بملفات FASTQ فقط.
6. حدد أحد الخيارات التالية لتنسيق إخراج FASTQ:

• **gzip**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق .gzip

• **DRAGEN**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق .ora

7. أكمل تهيئة عملية التشغيل.

- لإرسال تهيئة عملية التشغيل إلى حساب مركز تسلسل BaseSpace الخاص بك، حدد **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. تظهر عمليات التشغيل المُرسلة إلى مركز تسلسل BaseSpace في قائمة عمليات التشغيل المُخطط لها كما أنها متاحة للأنظمة باستخدام وضع السحابة أو الوضع الهجين.
- لحفظ تهيئة عملية التشغيل كورقة عينة بتنسيق ملف الإصدار الثاني، حدد **Export Sample Sheet (تصدير ورقة العينة)** من القائمة المنسدلة لـ **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. تم تنزيل ورقة العينة وملفات التحليل الداعمة الثانوية في مجلد بصيغة zip. كما أنها ضرورية لبدء عمليات التشغيل على الأنظمة باستخدام Local mode (الوضع المحلي). هذا الخيار مُتاح فقط إذا تم تحديد Local (المحلي) لموقع التحليل.

السلالة الجراثومية في خادم DRAGEN لدى Illumina

استخدم الخطوات التالية لتهيئة تحليل السلالة الجراثومية لخادم DRAGEN لدى Illumina.

1. حدد الجينوم المرجعي الخاص بك.
- استخدم الجينوم المرجعي مع alt aware إذا أمكن.
2. حدد تعيينًا/قم بمحاذاة لتنسيق الإخراج.
3. حدد ما إذا كان يجب حفظ نسخة من ملفات FASTQ الخاصة بك. يتم إنشاء ملفات FASTQ إذا اخترت الاحتفاظ بملفات FASTQ فقط.
4. حدد أحد الخيارات التالية لتنسيق إخراج FASTQ:

 - **gzip**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق gzip.
 - **DRAGEN**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق .ora.

5. أكمل تهيئة عملية التشغيل.

- لإرسال تهيئة عملية التشغيل إلى حساب مركز تسلسل BaseSpace الخاص بك، حدد **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. تظهر عمليات التشغيل المُرسلة إلى مركز تسلسل BaseSpace في قائمة عمليات التشغيل المُخطط لها كما أنها متاحة للأنظمة باستخدام وضع السحابة أو الوضع الهجين.
- لحفظ تهيئة عملية التشغيل كورقة عينة بتنسيق ملف الإصدار الثاني، حدد **Export Sample Sheet (تصدير ورقة العينة)** من القائمة المنسدلة لـ **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. تم تنزيل ورقة العينة وملفات التحليل الداعمة الثانوية في مجلد بصيغة zip. كما أنها ضرورية لبدء عمليات التشغيل على الأنظمة باستخدام Local mode (الوضع المحلي). هذا الخيار مُتاح فقط إذا تم تحديد Local (المحلي) لموقع التحليل.

الحمض النووي الريبوزي RNA لخادم DRAGEN لدى Illumina

استخدم الخطوات التالية لتهيئة تحليل الحمض النووي الريبوزي RNA لخادم DRAGEN لدى Illumina.

1. حدد الجينوم المرجعي الخاص بك.
- استخدم الجينوم المرجعي دون alt aware إذا أمكن.
2. حدد تعيينًا/قم بمحاذاة لتنسيق الإخراج لديك.
3. حدد ما إذا كان يجب حفظ نسخة من ملفات FASTQ الخاصة بك. يتم إنشاء ملفات FASTQ إذا اخترت الاحتفاظ بملفات FASTQ فقط.
4. حدد أحد الخيارات التالية لتنسيق إخراج FASTQ:

 - **gzip**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق gzip.
 - **DRAGEN**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق .ora.

5. **[اختياري]** قم بتحميل ملف الشرح التوضيحي للحمض النووي الريبوزي RNA بتنسيق النقل الجيني (GTF).

 - **الوضع المحلي**—حدد **Select Custom File (Local) (تحديد ملف مُخصص محلي)** لتحميل عملية تشغيل مُفردة أو **Upload Custom File (BaseSpace) (تحميل ملف مُخصص BaseSpace)** للاستخدام المتكرر.
 - **وضع السحابة أو الوضع الهجين**—حدد **(تحميل ملف مُخصص BaseSpace)**. يتوفر ملف بتنسيق النقل الجيني GTF في مجموعة العمل التي تم تحميله إليها فقط.

- بمجرد تحميل ملف تنسيق النقل الجيني GTF إلى مجموعة عمل مركز تسلسل BaseSpace، حدد ملف الشرح التوضيحي للحمض النووي الريبوزي RNA من القائمة المنسدلة.

6. أكمل تهيئة عملية التشغيل.

- لإرسال تهيئة عملية التشغيل إلى حساب مركز تسلسل BaseSpace الخاص بك، حدد **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. تظهر عمليات التشغيل المُرسلة إلى مركز تسلسل BaseSpace في قائمة عمليات التشغيل المُخطط لها كما أنها متاحة للأنظمة باستخدام وضع السحابة أو الوضع الهجين.
- لحفظ تهيئة عملية التشغيل كورقة عينة بتنسيق ملف الإصدار الثاني، حدد **Export Sample Sheet (تصدير ورقة العينة)** من القائمة المنسدلة لـ **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. يتم تنزيل ورقة العينة وملفات التحليل الداعمة الثانوية في مجلد بصيغة zip. في حال تم توفير ملف اختياري لتنسيق النقل الجيني GTF كما أنها ضرورية لبدء عمليات التشغيل على الأنظمة باستخدام Local mode (الوضع المحلي). هذا الخيار مُتاح فقط إذا تم تحديد Local (المحلي) لموقع التحليل.

الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة في خادم DRAGEN لدى Illumina

استخدم الخطوات التالية لتهيئة تحليل الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة في خادم DRAGEN لدى Illumina.

1. حدد الجينوم المرجعي الخاص بك.
2. استخدم الجينوم المرجعي دون alt aware إذا أمكن.
3. [اختياري] قم بتحميل ملف الشرح التوضيحي للحمض النووي الريبوزي RNA بتنسيق النقل الجيني (GTF).
4. **الوضع المحلي**—حدد **Select Custom File (Local)** (**تحديد ملف مُخصص (محلي)**) لتحميل عملية تشغيل مُفردة أو **Upload Custom File (BaseSpace)** (**تحميل ملف مُخصص (BaseSpace)**) للاستخدام المتكرر.
5. **وضع السحابة أو الوضع الهجين**—حدد **تحميل ملف مُخصص (BaseSpace)**. يتوفر ملف بتنسيق النقل الجيني GTF في مجموعة العمل التي تم تحميله إليها فقط.
6. بمجرد تحميل ملف تنسيق النقل الجيني GTF إلى مجموعة عمل مركز تسلسل BaseSpace، حدد ملف الشرح التوضيحي للحمض النووي الريبوزي RNA من القائمة المنسدلة.
7. حدد تعيينًا/قم بمحاذاة تنسيق الإخراج لديك.
8. حدد ما إذا كان يجب حفظ نسخة من ملفات FASTQ الخاصة بك. يتم إنشاء ملفات FASTQ إذا اخترت الاحتفاظ بملفات FASTQ فقط.
9. حدد أحد الخيارات التالية لتنسيق إخراج FASTQ:
 - **gzip**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق gzip.
 - **DRAGEN**—احفظ ملفات FASTQ بتنسيق ora.
10. حدد التهيئة المُطابقة لنوع مجموعة إعداد المكتبة لديك.
11. على سبيل المثال، إذا حددت مجموعة مكتبة الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة 1 بوصفها مجموعة إعداد المكتبة لديك، فحدد النوع 1 لنوع التهيئة.
12. حدد قراءة الرمز الشريطي.
13. [اختياري] عدّل عدد القواعد في الرموز الشريطية والمُعرّف الجزيئي الفريد UMI. يتم ملء القيم تلقائيًا بناءً على مجموعة إعداد المكتبة ونوع التهيئة التي حددتها.
14. حدد اتجاه الشريط.
15. [اختياري] حدد أحد الملفات الذي يحتوي على تسلسلات الرمز الشريطي أو حمّل ملفًا جديدًا مُخصصًا.
16. في حال استخدام نوع التهيئة المتقدمة/المُخصصة، أدخل قيم عدد دورات التجاوز، وموقع الرمز الشريطي وموقع المُعرّف الجزيئي الفريد UMI.

12. أكمل تهيئة عملية التشغيل.

- لإرسال تهيئة عملية التشغيل إلى حساب مركز تسلسل BaseSpace الخاص بك، حدد **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. تظهر عمليات التشغيل المُرسلة إلى مركز تسلسل BaseSpace في قائمة عمليات التشغيل المُخطط لها كما أنها متاحة للأنظمة باستخدام وضع الاسحابة أو الوضع الهجين.
- لحفظ تهيئة عملية التشغيل كورقة عينة بتنسيق ملف الإصدار الثاني، حدد **Export Sample Sheet (تصدير ورقة العينة)** من القائمة المنسدلة لـ **Submit Run (إرسال عملية التشغيل)**. يتم تنزيل ورقة العينة وملفات التحليل الداعمة الثانوية في مجلد بصيغة zip. في حال تم توفير ملف اختياري لتنسيق النقل الجيني GTF كما أنها ضرورية لبدء عمليات التشغيل على الأنظمة باستخدام Local mode (الوضع المحلي). هذا الخيار مُتاح فقط إذا تم تحديد Local (المحلي) لموقع التحليل.

إذابة الخراطيش المعبأة في أكياس وخلية التدفق

تعمل هذه الخطوة على إذابة الخرطوشة في الحقيبة غير المفتوحة وإعداد خلية التدفق. قم بإذابة الخرطوشة المعبأة في أكياس باستخدام واحدة من ثلاث طرق: حمام مائي يُمكن التحكم به، أو التلاجة أو درجة حرارة الغرفة. استخدم الخرطوشة بعد الإذابة في الحال، دون إعادة التجميد. إذا تعذر استخدام الخرطوشة بعد الإذابة في الحال، فراجع [أعد المستهلكات إلى التخزين على الصفحة 63](#).

الشكل 4 الخراطيش المعبأة في أكياس



إذابة الخرطوشة في حمام مائي يُمكن التحكم به

1. ارتد زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من الوبر وأزل الخرطوشة من التخزين.
2. أزل الخرطوشة من الصندوق، ولكن لا تفتح كيس الرقاقة المعدنية الفضية.

❗ قد ينتج عن إذابة حقيبة ممزقة أو مثقوبة في حمام مائي إلى فشل عملية التسلسل. قم بالإذابة في درجة الحرارة الغرفة أو في تلاجة بدلا من ذلك.

3. إذابة الخرطوشة المعبأة في أكياس في حمام مائي يُمكن التحكم به بدرجة 25 درجة سيليزية لمدة 6 ساعات:

- حافظ على المياه في عمق 9.5-10 سم على الأقل بغض النظر عن عدد الخراطيش التي تقوم بإذابتها.

- اضبط حمامًا مائيًا يُمكن التحكم في درجة حرارته عند 25 درجة سيليزية.
 - ضع الحقيبة بحيث يكون الملتصق موجهًا لأعلى وضعها في حمام مائي دون غمرها.
- ! لا تحاول وضع ثقل على الخرطوشة لغمرها. إذا كان ملتصق الحقيبة غير موجه لأعلى أو تعرّضت الخرطوشة للقلب خلال الإذابة، فستتأثر بيانات التسلسل بشكل سلبي.
- لا تتجاوز 8 ساعات في الحمام المائي.
 - لا تُذب خرطوش إضافية لا يدعمها الحمام المائي في آن واحد. من أجل حمامات مائية متوافقة، راجع [المعدات الإضافية على الصفحة 23](#).
 - لا تُكدس الخرطوش.
4. أزل الخرطوشة من الحمام المائي وجففها باستخدام المناشف الورقية.

إذابة الخرطوشة في الثلجة

1. ارتد زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من المساحيق.
 2. قبل يوم من عملية التشغيل المتوقعة، أزل الخرطوشة من التخزين في درجة حرارة من -25° إلى -15° سيليزية.
 3. أزل الخرطوشة من الصندوق، ولكن **لا تفتح كيس الرقاقة المعدنية الفضية**.
 4. ضع الخرطوشة في درجة حرارة الغرفة بحيث يكون الملتصق متجهًا لأعلى ويُمكن للهواء الدوران في النواحي الجانبية والناحية العليا.
- ! إذا كان ملتصق الحقيبة غير موجه لأعلى، فستتأثر بيانات التسلسل بشكل سلبي.
5. أذبها في درجة حرارة الغرفة لمدة 6 ساعات.
 6. ضع الخرطوشة في ثلجة في درجة حرارة من درجتين إلى 8 درجات سيليزية بحيث يكون الملتصق متجهًا لأعلى ويُمكن للهواء الدوران في الجوانب.

- ! إذا كان ملتصق الحقيبة غير موجه لأعلى، فستتأثر بيانات التسلسل بشكل سلبي.
7. قم بالإذابة في الثلجة لمدة 12 ساعة. لا تتجاوز 72 ساعة.

إذابة الخرطوشة في درجة حرارة الغرفة

1. ارتد زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من المساحيق.
 2. أخرج الخرطوشة المخزنة في درجة حرارة -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية.
 3. أزل الخرطوشة من الصندوق، ولكن **لا تفتح كيس الرقاقة المعدنية الفضية**.
 4. ضع الخرطوشة بحيث يكون الملتصق متجهًا لأعلى ويُمكن للهواء الدوران في النواحي الجانبية والناحية العليا.
- ! إذا كان ملتصق الحقيبة غير موجه لأعلى، فستتأثر بيانات التسلسل بشكل سلبي.
5. أذبها في درجة حرارة الغرفة لمدة 9 ساعات. لا تتجاوز 16 ساعة.

إعداد خلية التدفق والخرطوشة

1. قم بإعداد خلية التدفق على النحو التالي.
 - a. قم بإزالة خلية التدفق الجديدة من التخزين في درجة حرارة من درجتين إلى 8 درجات مئوية.
 - b. ضع الحزمة غير المفتوحة جانباً في درجة حرارة الغرفة لمدة من 10 إلى 15 دقيقة لمنع حدوث التكثيف عند إزالة خلية التدفق من العبوة. يضمن تحضير خلية التدفق على الفور وصولها إلى درجة حرارة الغرفة في الوقت المحدد.
2. عند استخدام طريقة الإذابة بالثلج:
 - a. أخرج الخرطوشة المذابة من التخزين في درجة حرارة من درجتين إلى 8 درجات مئوية.
 - b. ضع الخرطوشة غير المفتوحة جانباً في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة على الأقل قبل إجراء التسلسل. لا تتجاوز ساعة واحدة.

تخفيف المكتبات

عند استخدام خاصية تغيير الخواص والتخفيف داخل الجهاز، تعمل هذه الخطوة على تخفيف المكتبات إلى تركيز التحميل المعمول به. توفر زيادة PhiX^1 بنسبة 2% مقاييس إضافية، أو تنوعاً قاعدياً، أو تحكماً إيجابياً. يُمكن رفع نسبة زيادة PhiX للمكتبات ذات التنوع القاعدي الأقل. إذا تم تغيير خواص المكتبات وتخفيفها يدوياً، فاستخدم دليل المكتبات لتغيير خواص المكتبات وتخفيفها لجهاز NextSeq 1000 و2000 (المستند رقم 1000000139235). تنطبق هذه الخطوة على تغيير الخواص والتخفيف في الأجهزة فقط.

تخفيف المكتبة إلى 2 نانومول

1. [اختياري] أزل 10 نانومول من مخزون PhiX في درجة حرارة من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية. توجد حاجة لاستخدام PhiX فقط عند الزيادة الاختيارية أو تشغيل PhiX فقط.
2. [اختياري] قم بإذابة PhiX في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق، ومن ثم حدد الكمية باستخدام الطريقة المعتمدة على الكواشف الفلورية مثل Qubit لتأكيد تركيز PhiX . إذا تعذر تحديد الكمية، فتابع باستخدام تركيز 10 نانومول.
3. قم بإجراء حركة دوامية للمكتبة أو PhiX لفترة وجيزة، ومن ثم الطرد المركزي عند $280 \times g$ لمدة دقيقة واحدة.
4. باستخدام محلول إعادة التعليق المخفف (RSB) مع Tween 20 كمحلول تخفيف، قم بتحضير مكتبة بحجم 24 ميكرو لترًا وتركيز 2 نانومول على الأقل في أنابيب دقيقة ذات خاصية ترابط المواد المنخفض. للاطلاع على تعليمات زيادة PhiX ، راجع إضافة وحدة PhiX Control (اختياري) على الصفحة 35.
5. قم بإجراء حركة دوامية لفترة وجيزة، ومن ثم الطرد المركزي عند $280 \times g$ لمدة دقيقة واحدة.

تخفيف 2 نانومول من المكتبة إلى تركيز التحميل

1. قم بدمج الأحجام التالية في أنبوب دقيق ذي خاصية ترابط المواد المنخفض لإعداد 24 ميكرو لترًا من المكتبة المخففة لتركيز التحميل المناسب:

¹ PhiX هي إحدى مكتبات Illumina الصغيرة الجاهزة للاستخدام بتمثيل متوازن للنوكليوتيدات.

نوع المكتبة*	تركيز التحميل (بالببليكومول)	حجم مكتبة بتركيز 2 نانومول (بالميكرو لتر)	حجم محلول إعادة التعليق المخفف Tween 20 (RSB) مع محلول (بالميكرو لتر)
مكتبة Ampliseq for Illumina Library PLUS	750	9	15
إعداد الحمض النووي DNA لدى Illumina	750	9	15
إعداد الحمض النووي DNA مع التخصيب لدى Illumina	1000	12	12
إجمالي أشرطة الحمض النووي الريبوزي RNA مع مجموعة Ribo-Zero Plus لدى Illumina	750	9	15
إعداد أشرطة الحمض النووي الريبوزي المرسل mRNA لدى Illumina	750	9	15
الحمض النووي DNA الخالي من تفاعل سلسلة البوليميرات (PCR) لدى Illumina	1000	12	12
TruSeq DNA Nano 350 (نانو) الحمض النووي (TruSeq-DNA 350)	1200	14.4	9.6
TruSeq DNA Nano 550 (نانو) الحمض النووي (TruSeq-DNA 550)	1500	18	6
أشرطة الحمض النووي الريبوزي المرسل TruSeq-mRNA	1000	12	12
PhiX % 100	650	7.8	16.2

* بالنسبة لأنواع المكتبات غير المدرجة، ابدأ بتركيز تحميل 650 بيكومول وتعزيز عمليات التشغيل اللاحقة.

يقدم هذا الجدول مثالاً على تركيزات التحميل. يتوافق جهاز NextSeq 1000/2000 مع جميع مجموعات إعدادات مكتبة Illumina، إلا إن تحديد تركيز التحميل الأمثل يُمكن أن يتفاوت.

2. قم بإجراء حركة دوامية لفترة وجيزة، ومن ثم الطرد المركزي عند $g \times 280$ لمدة دقيقة واحدة.

3. ضع المكتبة المخففة جانباً في الثلج حتى تكون جاهزة من أجل إجراء التسلسل.

قم بإجراء التسلسل للمكتبات المخففة إلى تركيز التحميل في اليوم نفسه الذي يتم تخفيفها فيه.

4. تابع على النحو التالي.

• إذا أضفت PhiX، فراجع إضافة وحدة *PhiX Control* (اختياري) على الصفحة 35.

• إن لم تتم إضافة PhiX أو كنت تقوم بتشغيل PhiX فقط، فراجع تحميل المستهلكات في الخرطوشة على الصفحة 36.

إضافة وحدة *PhiX Control* (اختياري)

1. قم بدمج الأحجام التالية في أنبوب دقيق ذي خاصية ترابط المواد المنخفض لإعداد PhiX بحجم 20 ميكرو لترًا وتركيز 1 نانومول:

• PhiX بتركيز 10 نانومول (2 ميكرو لتر)

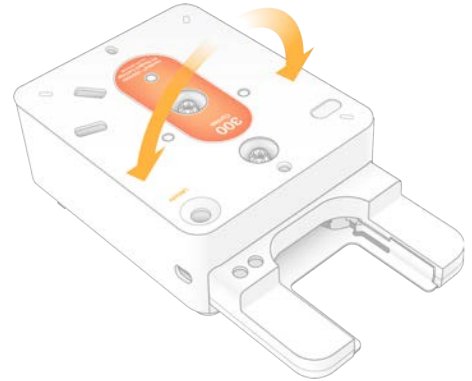
- محلول إعادة التعليق المخفف (18 RSB ميكرولتراً)
- 2. قم بإجراء حركة دوامية لفترة وجيزة، ومن ثم الطرد المركزي عند $g \times 280$ لمدة دقيقة واحدة.
- 3. أضف PhiX بحجم 1 ميكرولتر وتركيز 1 نانومول إلى مكتبة بحجم 24 ميكرولتر مُخففة إلى تركيز التحميل النهائي. هذه الأحجام تؤدي إلى زيادة PhiX بنسبة 2% تقريباً. تختلف النسبة المئوية الفعلية حسب جودة المكتبة وكميتها.
- 4. ضع المكتبة مع الزيادة في وحدة PhiX جانباً في الثلج حتى تكون جاهزة من أجل إجراء التسلسل. قم بإجراء تسلسل المكتبات مع الزيادة في PhiX في اليوم نفسه الذي تُخفف به.

تحميل المستهلكات في الخرطوشة

تُجهز هذه الخطوة الخرطوشة للتسلسل من خلال خلط الكواشف المملوءة مسبقاً وتحميل المكتبات المُخففة وخلية التدفق.

إعداد الخرطوشة

1. افتح حقيبة الخرطوشة من خلال تمزيقها أو قطعها باستخدام المقصات من الدرجة الأولى على كلا الجانبين.
2. أزل الخرطوشة من الحقيبة. تخلّص من الحقيبة والمجفف.
3. اقلب الخرطوشة 10 مرات لمزج المواد الكاشفة. يمكن للمكونات الداخلية أن تُصدر صوت خشخشة أثناء القلب، وهو أمر طبيعي.



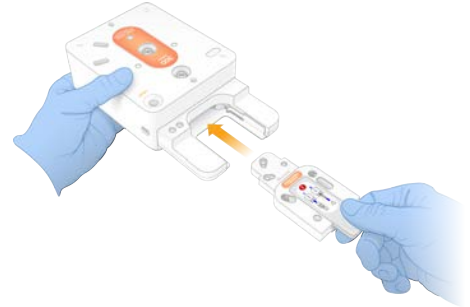
تحميل خلية التدفق

1. افتح حزمة الرقاقة المعدنية الفضية من خلال تمزيقها أو قطعها باستخدام المقصات عند الشق العلوي على كلا الجانبين. إذا تعذر استخدام خلية التدفق في الحال، فراجع [أعد المستهلكات إلى التخزين على الصفحة 63](#).

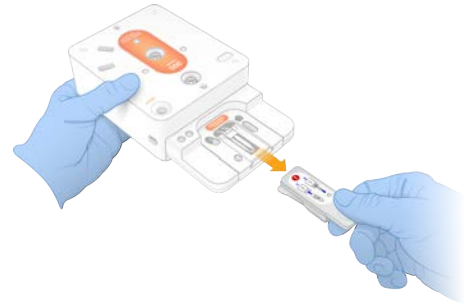
2. اسحب خلية التدفق لإخراجها من العبوة. ضع حزمة الرقاقة المعدنية والمجفف جانبًا في حال كنت بحاجة إلى إعادة خلية التدفق إلى التخزين. ستجد المجفف في جيب الجزء السفلي من حزمة الرقاقة المعدنية. تخلص منها عند بدء التسلسل.



3. أمسك خلية التدفق باستخدام اللسان الرمادي مع مراعاة أن يكون الملتصق على اللسان متجهًا لأعلى.
4. ادفع خلية التدفق لإدخالها في الفتحة الموجودة في مقدمة الخرطوشة. يشير صوت النقر المسموع إلى تثبيت خلية التدفق في موضعها الصحيح. ينبثق اللسان الرمادي من الخرطوشة عند تحميلها بشكل صحيح.



5. اسحب للخلف وأزل اللسان الرمادي لكشف خلية التدفق. أعد استعمال اللسان.



تحميل المكتبات

1. باستخدام طرف الماصة P1000 الجديد، اثقب خزانة المكتبة وادفع الرقاقة المعدنية إلى الحواف لتوسيع الفتحة.
2. تخلص من طرف الماصة لمنع التلوث.

3. أضيف 20 ميكرو لترًا من المكتبة المُخففة إلى الجزء السفلي من الخزان من خلال خفض طرف الماصة إلى الجزء السفلي من الخزان قبل التوزيع. تجنب لمس الرقاقة المعدنية.



بدء عملية تشغيل التسلسل

قد شرعت هذه الخطوة في عملية تشغيل التسلسل في أحد الأوضاع الأربعة:

- **وضع السحابة**—تم تحديد عملية التشغيل من إحدى قوائم عمليات التشغيل المُخطط لها في برنامج التحكم NextSeq 1000/2000. خلال عملية التسلسل، يجري تحميل بيانات الاستدعاء القاعدي المتسلسل cBCL إلى مركز تسلسل BaseSpace. بعد إجراء التسلسل، يبدأ خادم DRAGEN في مركز تسلسل BaseSpace تلقائيًا.
- **الوضع الهجين**—تم تحديد عملية التشغيل من إحدى قوائم عمليات التشغيل المُخطط لها في برنامج التحكم NextSeq 1000/2000. بعد إجراء التسلسل، يبدأ التحليل داخل الجهاز تلقائيًا. يُخزّن بيانات الاستدعاء القاعدي المتسلسل وخادم DRAGEN في مجلد الإخراج المُحدد.
- **الوضع المحلي**—يتم تصدير ورقة عينة بتنسيق ملف الإصدار الثاني إلى برنامج تحكم NextSeq 1000/2000 يدويًا. بعد إجراء التسلسل، يبدأ التحليل داخل الجهاز تلقائيًا. يُخزّن بيانات الاستدعاء القاعدي المتسلسل وخادم DRAGEN في مجلد الإخراج المُحدد. في حال تحديد عملية المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين، يُمكن كذلك الشروع في التحليل من خلال تطبيقات مركز التسلسل BaseSpace بعد اكتمال عملية التسلسل.
- **الوضع المستقل**—قم بإعداد عملية تشغيل مع اتباع التعليمات في برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 لإنشاء بيانات الاستدعاء القاعدي المتسلسل cBCL.

⚠ يمكن أن يتسبب فتح القناع خلال إجراء فحوصات ما قبل التشغيل أو خلال التشغيل بفشل عملية التشغيل.

⚠ أبعد يديك عن الجهاز خلال فتح القناع وإغلاقه لتجنب الإصابة.

بدء عملية تشغيل في وضع السحابة أو الوضع الهجين

1. قم بتهيئة وضع عملية التشغيل كما هو موصوف في تهيئة وضع التشغيل على الصفحة 15.

2. حدد **Start (بدء)**.
 3. أدخل بيانات اعتماد تسجيل الدخول الخاصة بك بمركز تسلسل BaseSpace، ثم حدد **Sign In (تسجيل الدخول)**.
 4. إذا حددت المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين، فحدد مجموعة العمل التي تحتوي على عملية التشغيل لديك التي أنشئت في إعداد عملية تشغيل الجهاز بمركز تسلسل BaseSpace.
- !** يلزم تحديد مجموعة العمل لتجنب الأخطاء. تأكد من تحديدك مجموعة العمل قبل المتابعة.
5. حدد **Next (التالي)**.
 6. حدد عملية التشغيل لديك.
 7. تأكد من مطابقة التحليل، وطول عملية التشغيل والتحليل الثانوي لعملية التشغيل الصحيحة.
 - يعرض التحليل Cloud_ (السحابة_) للإشارة إلى حدوث التحليل في مركز تسلسل BaseSpace.
 8. حدد **Review (مراجعة)**.
 9. **[اختياري]** أدخل مواقع مَشرع القراءة المُخصص ومَشرع المؤشر المُخصص. للاطلاع على معلومات حول إعداد المَشارع المُخصصة وإضاقتها، راجع دليل المَشارع المُخصصة لـ NextSeq 1000 و2000 (مستند رقم 1000000139569). تأكد من زيارة صفحة المنتجات المتوافقة لمجموعة إعداد المكتبة الخاصة بك للتحقق من ضرورة استخدام المَشرعات المُخصصة لدى Illumina.
 10. **[اختياري]** أرفق صيغة مُخصصة لتمكين تسلسل الدورة الداكنة. راجع **تسلسل الدورة الداكنة على الصفحة 77**.
 11. لتغيير خواص المكتبات وتخفيفها يدويًا، ألع تحديد مربع اختيار **Denature and Dilute On Board (تغيير الخواص وتخفيفها داخل الجهاز)**.
 - تمت تهيئة تحديد الإعداد الافتراضي في إعدادات برنامج التحكم NextSeq 1000/2000.
 12. **[اختياري]** لتغيير مجلد الإخراج، حدد حقل مجلد الإخراج وأدخل موقعًا جديدًا. يتم ملء حقل مجلد الإخراج تلقائيًا من إعداداتك الافتراضية كما أنه ضروري ما لم يتم تحديد **Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين)**.
 - إذا حددت Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين)، يُعرض خيار Save to BaseSpace Sequence Hub (الحفظ إلى مركز تسلسل BaseSpace) بوصفه مُمكنًا.
 - إذا حددت Proactive and Run Monitoring (المراقبة الاستباقية ومراقبة عملية التشغيل)، يُعرض خيار Save to BaseSpace Sequence Hub (الحفظ إلى مركز تسلسل BaseSpace) بوصفه مُعطلاً.
 13. راجع معلومات التشغيل الخاصة بك، ومن ثمَّ حدد **Prep (الإعداد)**.

بدء عملية تشغيل محلية

1. قم بتهيئة وضع عملية التشغيل كما هو موصوف في **تهيئة وضع التشغيل على الصفحة 15**.
2. حدد **Start (بدء)**.
3. إذا حددت Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين) أو Proactive and Run Monitoring (المراقبة الاستباقية ومراقبة عملية التشغيل)، فأدخل بيانات اعتماد تسجيل الدخول لمركز تسلسل BaseSpace ومن ثمَّ حدد **Sign In (تسجيل الدخول)**.
4. إذا حددت Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين)، فحدد مجموعة العمل مركز تسلسل BaseSpace لحفظ عملية التشغيل الخاصة بك بها، ومن ثمَّ حدد **Next (التالي)**.

❗ يلزم تحديد مجموعة العمل لتجنب الأخطاء. تأكد من تحديدك مجموعة العمل قبل المتابعة.

5. حدد اختيار... (**Choose**...) تدرج أدنى البدء بورقة العينة، وانتقل إلى ورقة العينة بتدقيق الإصدار الثاني على جهاز NextSeq 1000/2000، ومُحرك الأقراص المحمول أو محرك الشبكة المُنتب. لا يُمكن أن تحتوي أسماء ملف ورقة العينة على أحرف خاصة.

• **Instrument Run Setup Used (إعدادات التشغيل بالجهاز المستخدمة)**—حدد مجلد zip. الذي يتضمّن ملفات الإصدار الثاني لورقة العينة والملفات الداعمة إن وُجدت. وإلا فحدد الإصدار الثاني لورقة العينة.

• **Instrument Run Setup Not Used (إعدادات التشغيل بالجهاز غير المستخدمة)**—تأكد من وجود الملف الداعم للتحليل الثانوي في الدليل نفسه الموجود به الإصدار الثاني لورقة العينة.

i يجب أن تكون ورقة العينة المُحددة بتدقيق الإصدار الثاني. لإنشاء الإصدار الثاني لورقة العينة، قم بتنزيل ورقة العينة المُدشأة من إعدادات عملية التشغيل بالجهاز في مركز تسلسل BaseSpace أو عدّل قالب الإصدار الثاني لورقة العينة المتوقّر على صفحة الدعم لجهاز NextSeq 1000/2000. راجع **إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة على الصفحة 68** للاطلاع على المزيد من المعلومات حول تدقيق الإصدار الثاني لورقة العينة ومتطلباته. تأكد من وجود أي ملفات تمت الإشارة إليها في ورقة العينة في المجلد نفسه الذي توجد به ورقة العينة.

6. حدد **Review (مراجعة)**.

7. **[اختياري]** أدخل مواقع مَشرع القراءة المُخصص ومَشرع المؤشر المُخصص.

للاطلاع على معلومات حول إعدادات المَشارع المُخصصة وإضافتها، راجع دليل المَشارع المُخصصة لـ NextSeq 1000 و2000 (مستند رقم 1000000139569). تأكد من زيارة صفحة المنتجات المتوافقة لمجموعة إعداد المكتبة الخاصة بك للتحقق من ضرورة استخدام المَشرعات المُخصصة لدى Illumina.

8. **[اختياري]** أرفق صيغة مُخصصة لتمكين تسلسل الدورة الداكنة. راجع **تسلسل الدورة الداكنة على الصفحة 77**.

9. لتغيير خواص المكتبات وتخفيفها يدويًا، ألق تحديد مربع اختيار **Denature and Dilute On Board (تغيير الخواص وتخفيفها داخل الجهاز)**.

تمت تهيئة تحديد الإعداد الافتراضي في إعدادات برنامج التحكم NextSeq 1000/2000.

10. **[اختياري]** لتغيير مجلد الإخراج، حدد حقل مجلد الإخراج وأدخل موقعًا جديدًا.

يتم ملء حقل مجلد الإخراج تلقائيًا من إعداداتك الافتراضية كما أنه ضروري ما لم يتم تحديد Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين).

إذا حددت Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين)، يُعرض خيار Save to BaseSpace Sequence Hub (الحفظ إلى مركز تسلسل BaseSpace) بوصفه مُمكنًا.

إذا حددت Proactive and Run Monitoring (المراقبة الاستباقية ومراقبة عملية التشغيل)، يُعرض خيار Save to BaseSpace Sequence Hub (الحفظ إلى مركز تسلسل BaseSpace) بوصفه مُعطّلًا.

11. راجع معلومات التشغيل الخاصة بك، ومن ثمّ حدد **Prep (الإعداد)**.

بدء عملية تشغيل مستقلة

1. قم بتهيئة وضع عملية التشغيل كما هو موصوف في **تهيئة وضع التشغيل على الصفحة 15**.

2. حدد **Start (بدء)**.

3. إذا حددت Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين) أو Proactive and Run Monitoring (المراقبة الاستباقية ومراقبة عملية التشغيل)، فأدخل بيانات اعتماد تسجيل الدخول لمركز تسلسل BaseSpace ومن ثمّ حدد **Sign In (تسجيل الدخول)**.

4. إذا حددت Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين)، فحدد مجموعة العمل مركز تسلسل BaseSpace لحفظ عملية التشغيل الخاصة بك بها، ومن ثم حدد **Next (التالي)**.
5. حدد **Set Up New Run (إعداد عملية تشغيل جديدة)**.
6. في حقل Run Name (اسم عملية التشغيل)، أدخل الاسم المميز الذي تريده لتحديد التشغيل الحالي. يمكن أن يحتوي اسم التشغيل على أحرف أبجدية رقمية، وشرطات، ووصلات، وشرط سفلية.
7. بالنسبة إلى حقل Read Type (نوع القراءة)، حدد عدد عمليات قراءة التسلسل المطلوب تنفيذها:
- **قراءة مفردة**—قم بإجراء قراءة مفردة، وهي الخيار الأبسط والأسرع.
 - **قراءة ذات نهاية مقترنة**—قم بإجراء قراءتين، وهو التوافق الذي يؤدي إلى إنشاء بيانات ذات جودة أعلى وتوفير محاذاة أكثر دقة.
8. أدخل عدد الدورات التي يتم إجراؤها في كل قراءة: لا يوجد حد أقصى لعدد دورات المؤشر، إلا إن مجموع دورات القراءة ودورات المؤشر يجب أن يقل عن عدد الدورات المُشار إليه على مُلصق الخرطوشة 27 plus.
- قراءة رقم 1**—أدخل من **1 إلى 151** دورة.
- فهرس رقم 1**—أدخل عدد الدورات لمشروع المؤشر رقم 1 (i7). لتشغيل PhiX فقط، أدخل **0** في مجال المؤشر كليهما.
- فهرس رقم 2**—أدخل عدد الدورات لمشروع المؤشر رقم 2 (i5).
- قراءة رقم 2**—أدخل قيمة تصل إلى **151** دورة. عادةً ما تكون هذه القيمة هي قيمة القراءة رقم 1 نفسها..
9. إذا حددت Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين)، فحدد **...Choose (اختيار)** لاستيراد ورقة عينة.

- i** يجب أن تكون ورقة العينة المُحددة بتدقيق الإصدار الثاني. لإنشاء الإصدار الثاني لورقة العينة، قم بتنزيل ورقة العينة المُدشأة من إعداد عملية التشغيل بالجهاز في مركز تسلسل BaseSpace أو عدّل قالب الإصدار الثاني لورقة العينة المتوفر على صفحة الدعم لجهاز NextSeq 1000/2000. راجع **إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة على الصفحة 68** للاطلاع على المزيد من المعلومات حول تدقيق الإصدار الثاني لورقة العينة ومتطلباته. تأكد من وجود أي ملفات تمت الإشارة إليها في ورقة العينة في المجلد نفسه الذي توجد به ورقة العينة.
10. **[اختياري]** أدخل مواقع مَشروع القراءة المُخصص ومَشروع المؤشر المُخصص. للاطلاع على معلومات حول إعداد المَشارع المُخصصة وإضاقتها، راجع دليل المَشارع المُخصصة لـ NextSeq 1000 و2000 (مستند رقم 1000000139569). تأكد من زيارة صفحة المنتجات المتوافقة لمجموعة إعداد المكتبة الخاصة بك للتحقق من ضرورة استخدام المَشروعات المُخصصة لدى Illumina.
11. **[اختياري]** أرفق صيغة مُخصصة لتمكين تسلسل الدورة الذاكرة. راجع **تسلسل الدورة الذاكرة على الصفحة 77**.
12. لتغيير خواص المكتبات وتخفيفها يدويًا، أَلغ تحديد مربع اختيار **Denature and Dilute On Board (تغيير الخواص وتخفيفها داخل الجهاز)**. تمت تهيئة تحديد الإعداد الافتراضي في إعدادات برنامج التحكم NextSeq 1000/2000.
13. **[اختياري]** لتغيير مجلد الإخراج، حدد حقل مجلد الإخراج وأدخل موقعًا جديدًا. يتم ملء حقل مجلد الإخراج تلقائيًا من إعداداتك الافتراضية كما أنه ضروري ما لم يتم تحديد Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين).
14. حدد **Prep (تحضير)**.

تحميل المستهلكات في الجهاز

1. تأكد من إذابة الخرطوشة مسبقًا وقلبها 10 مرات للخلط قبل تحميل خلية التدفق (بعد إزالة اللسان الرمادي) والمكتبة المُخففة.

2. حدد **Load (تحميل)**.

يفتح برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 القناع الواقي ويُخرج الدرج.

3. ضع الخرطوشة في الدرج ليكون اتجاه الملتصق لأعلى وخلية التدفق موجودة داخل الجهاز. أدخل الخرطوشة حتى تستقر في موضعها بالكامل.

4. حدد **Close (إغلاق)** لسحب الخرطوشة وغلّق القناع.

يعرض برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 معلومات من المستهلكات التي أُجريت المسح الضوئي لها بعد مرور دقيقتين.

5. [اختياري] حدد **Eject Cartridge (إخراج الخرطوشة)** لإخراج الخرطوشة.

يفتح القناع بعد مرور دقيقة واحدة ويُخرج الخرطوشة.

6. حدد **Sequence (تسلسل)**.

فحوصات ما قبل التشغيل

تتضمّن فحوصات ما قبل التشغيل التحقق من الجهاز وبتبعتها التحقق من السوائل. يخرق فحص السوائل سدادات الخرطوشة، والذي سيُسبب في أن يُصدر الجهاز من 3 إلى 4 أصوات فرقة. هذا مُتوقّع. وهذا يعني اختراق الكاشف لخلية التدفق.

⚠ تتعدّد إعادة استخدام المستهلكات بمجرد بدء فحص السوائل.

1. انتظر حوالي 15 دقيقة لاستكمال فحوصات ما قبل التشغيل.

تبدأ عملية التشغيل تلقائيًا بعد نجاح اكتمال الفحوصات.

2. في حال حدث أي خطأ خلال فحوصات الجهاز، حدد **Retry (إعادة المحاولة)** لإعادة إجراء الفحص.

عندما يكون أحد الفحوصات قيد التقدم، ستجد الشريط الدائري لهذا الفحص متحركًا.

3. لاستكشاف الأخطاء المتكررة وإصلاحها، راجع [تحليل رسالة الخطأ على الصفحة 63](#).

مراقبة تقدّم التشغيل

1. راقب تقدّم التشغيل والمقاييس عند ظهورها على شاشة التسلسل.

- **اكتمال التشغيل المُقدّر**—التاريخ التقريبي، ووقت اكتمال التشغيل. يتطلب مقياس استكمال عملية التشغيل المُقدّر 10 عمليات تشغيل سابقة لحساب وقت اكتمال عملية التشغيل بدقة.
- **متوسط درجة الجودة %Q30**—متوسط النسبة المئوية للاستدعاءات الأساسية ذات درجة جودة ≤ 30 .
- **النتائج المتوقّعة**—العدد المتوقّع من الاستدعاءات الأساسية للتشغيل.

- إجمالي القراءات التي تمر من الفلتر—عدد العناقيد ذات النهاية المقترنة (إذا لزم الأمر).
 - أداة نظام موزع البيانات في الوقت الفعلي—حالة توزيع البيانات عند الشروع فيها في بداية القراءة رقم 2 بعد اكتمال دورات القراءة 1، والمؤشر 1 والمؤشر 2. سنعرض الحالة كمُكتملة حتى إذا لم تُجرَ دورات المؤشر. غير مُتاح لعمليات التشغيل في وضع السحابة.
 - المحاذاة في الوقت الفعلي—حالة محاذاة القراءة رقم 1 عند الشروع فيها في بداية القراءة رقم 2 بعد اكتمال دورات القراءة 1، والمؤشر 1 والمؤشر 2. غير مُتاح لعمليات التشغيل في وضع السحابة.
- تظهر درجة الجودة Q30 ومقاييس النواتج بعد الدورة رقم 26 (ما يقرب من 6 ساعات بعد بدء عملية التشغيل).
2. لمراقبة عمليات التشغيل، حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثم حدد **Process Management (إدارة العملية)**.
 3. لإلغاء إحدى عمليات التشغيل، حدد **End Run (إنهاء عملية التشغيل)**. راجع قسم **إلغاء عملية التشغيل على الصفحة 64** للاطلاع على المزيد من المعلومات حول إلغاء عمليات التشغيل.
 4. ألقِ تحميل المستهلكات من الجهاز. أخرج الخرطوشة من الجهاز في خلال 3 أيام.

تفريغ المستهلكات

1. عند اكتمال التسلسل، حدد **Eject Cartridge (إخراج الخرطوشة)**. يُخرج البرنامج الخرطوشة المستخدمة من الجهاز.
2. أزل الخرطوشة من الدرج.
3. أزل خلية التدفق من الخرطوشة.
4. تعليمات فكّ خلية التدفق لإعادة التدوير غير متاحة حاليًا.
4. تخلص من خلية التدفق، التي تحتوي على مكونات إلكترونية، وفقًا للمعايير المعمول بها في منطقتك.
5. **[اختياري]** أزل سداة الصرف أسفل شعاع Illumina على جانب الخرطوشة أعلى منطقة ملانمة (أي الحوض أو وعاء النفايات السائل الخطير) مع وضع السداة بصورة أفقية أو متجهة لأسفل بعيدًا عن وجهك. قم بتصريف الكواشف المُستعملة وفقًا للمعايير المعمول بها في منطقتك. يعتمد وقت التصريف على حجم الخرطوشة إذا لم يتم تمكين الإزالة التلقائية للخرطوشة.

تحذير !

- تحتوي هذه المجموعة من الكواشف على مواد كيميائية يُحتمل أن تكون خطيرة. يمكن أن تحدث الإصابة الشخصية عن طريق استنشاق تلك المواد، وابتلاعها وملامستها للجلد والعين. ارتدِ معدات الحماية، بما في ذلك واقية العين، والقفازات، ومعطف المختبر المناسب لتجنب التعرض للمخاطر. تعامل مع الكواشف المستخدمة باعتبارها نفايات كيميائية وتخلص منها وفقًا للقوانين واللوائح الإقليمية، والوطنية، والمحلية المعمول بها. للحصول على المعلومات البيئية، والصحية، والمتعلقة بالسلامة، راجع ورقة بيانات السلامة (SDS) على support.illumina.com/sds.html.
6. تخلص من الخرطوشة، التي قد تحتوي على مواد كاشفة غير مستخدمة وفقًا للمعايير المعمول بها في منطقتك. تعليمات فكّ الخرطوشة لإعادة التدوير غير متاحة حاليًا.
 - لا يُعدّ إجراء الغسيل بعد التشغيل أمرًا ضروريًا نظرًا لأن السوائل يتم التخلص منها مع الخرطوشة.
 7. حدد **Close Door (إغلاق الباب)** لإعادة تحميل الصينية والعودة إلى الشاشة الرئيسية.
- يُعيد البرنامج تحميل الدرج تلقائيًا وتؤكد المستشعرات إزالة الخرطوشة.

إخراج التسلسل

يصف هذا القسم برنامج التحليل في الوقت الفعلي الذي يُجري الاستدعاء القاعدي، ويُعيّن درجات الجودة ويُخرج البيانات. تتعلم عن أنواع ملفات الإخراج المختلفة وكيفية تحديد موقعها بعد عملية التشغيل.

نظرة عامة على التحليل في الوقت الفعلي

يشغل جهاز التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)، وهو تطبيق لبرنامج تحليل الوقت الفعلي، وذلك باستخدام محرك حساب الجهاز (CE). يستخرج التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) الكثافات من الصور الواردة من الكاميرا، ويجري استدعاءً قاعدياً، ويعين درجة جودة الاستدعاءات القاعدية، ويحاذي PhiX، ويبلغ عن البيانات في ملفات InterOp لعرضها في برنامج التحكم بالجهاز.

لتحديد وقت المعالجة الملائم، يخزن RTA3 المعلومات في ذاكرة. إذا تم إنهاء تشغيل RTA3، فلا يتم استئناف المعالجة ويتم فقدان أي بيانات تشغيل تتم معالجتها في الذاكرة.

إدخالات RTA3

يتطلب RTA3 صور الشريحة المتضمنة في ذاكرة النظام المحلية لإجراء المعالجة. يتلقى برنامج التحليل في الوقت الفعلي (RTA3) معلومات التشغيل والأوامر من برنامج التحكم.

مخرجات RTA3

يتم نقل صور لكل قناة ملونة في الذاكرة إلى RTA3 على هيئة شرائح. من هذه الصور، تُخرج RTA3 مجموعة من ملفات الاستدعاء الأساسي وملفات الفلترة المسجلة بدرجات الجودة. تدعم جميع المخرجات الأخرى ملفات الإخراج.

نوع الملف	الوصف
ملفات الاستدعاء الأساسية	تندرج كل شريحة يتم تحليلها في ملف استدعاء أساسي متسلسل (*cbcl). يتم تجميع الشرائح التي يتمائل ممرها و سطحها في ملف *cbcl واحد لكل ممر و سطح.
ملفات الفلترة	تنتج كل شريحة ملف فلترة (*filter) الذي يحدد ما إذا كان العنقود يمر عبر الفلترة.
ملفات موقع العنقود	تتضمن ملفات موقع العنقود (*locs) الإحداثيات السينية والإحداثيات الصادي لكل عنقود في الشريحة. يتم إنشاء ملف موقع العنقود لكل عملية تشغيل.

تُستخدم ملفات الإخراج من أجل تحليل انتقال البيانات في خادم DRAGEN ومركز تسلسل BaseSpace.

معالجة الأخطاء

يقوم RTA3 بإنشاء ملفات السجل وكتابتها في مجلد السجلات. يتم تسجيل الأخطاء في ملف نصي بتنسيق ملف *log.

يتم نقل ملفات السجلات التالية إلى وجهة الإخراج النهائي في نهاية المعالجة:

يُلخّص log_000000.info أحداث التشغيل المهمة.

error_000000.log يسرد الأخطاء التي حدثت أثناء التشغيل.

warning_00000.log يسرد التحذيرات التي حدثت أثناء التشغيل.

شرائح حجرة التدفق

تُعد الشرائح مناطق تصوير صغيرة في حجرة التدفق. تلتقط الكاميرا صورة واحدة لكل شريحة. خلية التدفق NextSeq 1000/2000 P2 بها إجمالي 132 شريحة. خلية التدفق NextSeq 1000/2000 P3 بها إجمالي 264 شريحة.

الجدول 5 شرائح حجرة التدفق

الوصف	خلية التدفق NextSeq 1000/2000 P3	خلية التدفق NextSeq 1000/2000 P2	مكون حجرة التدفق
يُعد الممر قناةً ماديةً بها منافذ إدخال وإخراج.	2	1	الممرات
يتم تصوير خلايا التدفق P2، و P3 في السطحين: العلوي والسفلي. يتم تصوير السطح العلوي للشريحة أولاً.	2	2	الأسطح
القطاع عبارة عن عمود في ممر خلية التدفق.	6	6	القطاعات لكل ممر
تُعد الشريحة جزءاً من القطاع وتصف المنطقة المُصورة في حجرة التدفق.	11	11	الشرائح لكل قطاع
يساوي حاصل ضرب الممرات x الأسطح x القطاعات x الشرائح لكل قطاع العدد الإجمالي للشرائح.	264	132	مجموع الشرائح التي تم إنشاؤها

تسمية الشرائح

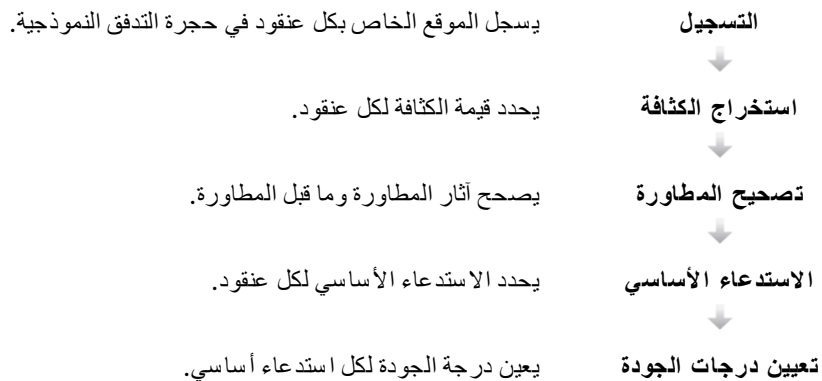
يتكون اسم الشريحة من 4 أرقام تمثل موقعها في خلية التدفق. على سبيل المثال، يشير اسم الشريحة 1205 إلى السطح العلوي، والقطاع رقم 2، والشريحة رقم 05.

يمثل الرقم الأول السطح: 1 لسطح العلوي أو 2 لسطح السفلي.

يمثل الرقم الثاني رقم القطاع: 1، أو 2، أو 3، أو 4، أو 5 أو 6.

يمثل الرقمان الأخيران رقم الشريحة. بالنسبة لأرقام القطاعات من 1 إلى 4، يبدأ الترقيم بالرقم 01 عند طرف الإخراج بخلية التدفق وحتى الرقم 11 عند طرف الإدخال. بالنسبة لأرقام القطاعات من 5 إلى 6، يبدأ الترقيم بالرقم 01 عند طرف الإدخال وحتى الرقم 11 عند طرف الإخراج.

سير عمل التحليل في الوقت الفعلي



التسجيل

يعمل التسجيل على محاذاة صورة مع مصفوفة مربعة دائرية من مجتمعات النانو في خلية التدفق النموذجية. ونظرًا للترتيب المنظم لمجمعات النانو، يتم تحديد الإحداثيين السيني والصادي مسبقًا لكل عنقود في شريحة. تتم كتابة مواقع العنقود لملف موقع العنقود (s.IOCs) لكل عملية تشغيل. في حال فشل التسجيل لأي صور موجودة في إحدى الدورات، لا يتم إنشاء استدعاءات أساسية لهذه الشريحة في تلك الدورة. استخدم عارض تحليل التسلسل للتعرف على الصور التي تعذر إنشاؤها.

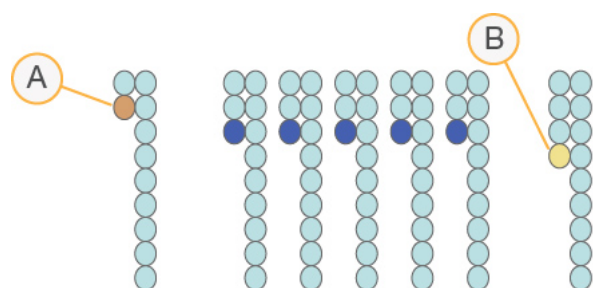
استخراج الكثافة

بعد إتمام التسجيل، يقوم استخراج الكثافة بحساب قيمة الكثافة لكل مجمع نانو في الصورة المحددة. في حال فشل التسجيل، لا يمكن استخراج الكثافة الخاصة بتلك الشريحة.

تصحيح المطاورة

أثناء تفاعل التسلسل، يمتد كل شريط من أشرطة الحمض النووي في أحد العناقيد بقاعدة واحدة لكل دورة. تحدث المطاورة وما قبل المطاورة عندما يخرج شريط من الطور خلال دورة الدمج الحالية. تحدث المطاورة عند تخلف إحدى القواعد. تحدث عملية ما قبل المطاورة عندما تتقدم إحدى القواعد.

الشكل 5 المطاوعة وما قبل المطاوعة



A. قراءة مع إحدى القواعد التي تمرّ بمرحلة المطاوعة.
B. قراءة مع إحدى القواعد التي تمرّ بمرحلة ما قبل المطاوعة.

يصحح RTA3 تأثيرات المطاوعة وما قبلها، ما يزيد من الحد الأقصى لجودة البيانات في كل دورة طوال عملية التشغيل.

الاستدعاء الأساسي

يحدد الاستدعاء الأساسي إحدى القواعد (A، أو C، أو G أو T) لكل عنقود في شريحة معينة بدائرة محددة. يستخدم نظاما التسلسل NextSeq 1000 و2000 تسلسلا ثنائي القناة، والذي يتطلب صورتين فقط لتشفير البيانات لأربعة من قواعد الحمض النووي (DNA)، وواحدة من القناة الخضراء، وواحدة من القناة الزرقاء.

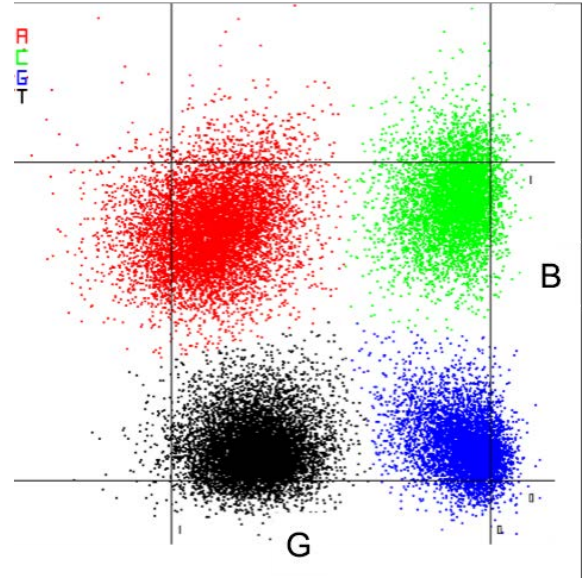
يتم التعرف على حالة عدم وجود استدعاء برمز N. ويحدث عدم وجود استدعاءات عندما لا يمر عنقود من الفلتر، أو عند فشل التسجيل، أو في حال نقل عنقود خارج الصورة.

يتم استخراج الكثافات لكل عنقود من الصور الخضراء والزرقاء ومقارنتها مع بعضها البعض، مما يؤدي إلى أربع جماهر مميزة. تتوافق كل جمهرة مع قاعدة ما. تحدد عملية الاستدعاء الأساسي الجمهرة التي ينتمي إليها كل عنقود.

الجدول 6 الاستدعاءات الأساسية في التسلسل ذي القناتين

القاعدة	القناة الخضراء	القناة الزرقاء	النتيجة
A	1 (موجودة)	1 (موجودة)	العناقيد التي تُظهر الكثافة في كل من القناة الخضراء والزرقاء.
C	0 (غير موجودة)	1 (موجودة)	العناقيد التي تُظهر الكثافة في القناة الزرقاء فقط.
G	0 (غير موجودة)	0 (غير موجودة)	العناقيد التي تُظهر عدم وجود كثافة في موقع عنقود معروف.
T	1 (موجودة)	0 (غير موجودة)	العناقيد التي تُظهر الكثافة في القناة الخضراء فقط.

الشكل 6 تصوّر الكثافات العنقودية



يرتبط لون كل عنقود بمخططات القاعدة % في عارض تحليل التسلسل (SAV) وبيانات عملية التشغيل بمركز التسلسل BaseSpace حسب الدورة ولا يُعنى بها الترابط بالقناة الخضراء والزرقاء.

مرور العناقيد من الفلتر

يقوم RTA3 بفلتر البيانات الأولية أثناء التشغيل لإزالة القراءات التي لا تتطابق مع مستوى جودة البيانات. تتم إزالة العناقيد المتداخلة والعناقيد ذات الجودة المنخفضة.

فيما يتعلق بالتحليل ثنائي القناة، يستخدم RTA3 نظامًا قائمًا على الجمهرة لتحديد نقاء (قياس نقاء الكثافة) الاستدعاء الأساسي. تمر العناقيد من الفلتر (PF) عندما لا يوجد أكثر من استدعاء أساسي واحد في أول 25 دورة يتميز بنقاء أقل من الحد الأدنى الثابت. تُجرى محاذاة PhiX، عند تضمينها، في الدورة رقم 26 على مجموعة فرعية من الشرائح للعناقيد التي تمر من الفلتر. لن تكون العناقيد التي لا تمر من الفلتر ذات استدعاء قاعدي ولن تتم محاذاتها.

درجات الجودة

درجة الجودة (سجل الجودة) هي توقع لاحتمالية وجود استدعاء أساسي غير صحيح. تُشير درجة الجودة الأعلى إلى أن أحد الاستدعاءات الأساسية أعلى في الجودة واحتمالية صحتها أكبر. بعد تحديد درجة الجودة، يتم تسجيل النتائج في ملفات الاستدعاء الأساسي (*cbcl). تنقل درجة الجودة احتماليات الأخطاء الطفيفة باختصار. يتم تمثيل درجات الجودة بالعلامة Q(X)، إذ تشير X إلى الدرجة. يبين الجدول التالي العلاقة بين درجة الجودة واحتمالية الخطأ.

درجات الجودة Q(X)	احتمالية الخطأ
Q40	0.0001 (1 في 10000)
Q30	0.001 (1 في 1000)
Q20	0.01 (1 في 100)
Q10	0.1 (1 في 10)

تعيين درجات الجودة وإعداد التقارير حولها

يحسب تعيين درجات الجودة مجموعة من مؤشرات التوقع لكل استدعاء أساسي، ثم يستخدم القيم المتوقعة للبحث عن درجة الجودة في جدول الجودة. يتم إنشاء جداول الجودة لتقديم توقعات مثالية ذات جودة دقيقة لعمليات التشغيل التي تم إنشاؤها عن طريق تهيئة محددة لنظام التسلسل الأساسي والإصدار الكيميائي.

يستند تعيين درجات الجودة على نسخة مُعدّلة من خوارزمية فريد.



لإنشاء جدول درجات الجودة لأجهزة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000، تم تحديد ثلاث مجموعات من الاستدعاءات القاعدية بناءً على إنشاء المجموعات من تلك الميزات التنبؤية المحددة. بعد إنشاء مجموعات تضم الاستدعاءات القاعدية، تم حساب متوسط معدل الخطأ عملياً لكل مجموعة من الثلاث مجموعات، وتم تسجيل نقاط الجودة المتوافقة في جدول درجات الجودة إلى جانب الميزات التنبؤية المرتبطة بتلك المجموعة. وعلى هذا النحو، توجد ثلاث درجات جودة فقط محتملة باستخدام التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) وتُمثل درجات الجودة تلك متوسط معدل الخطأ للمجموعة (الشكل 7). وبشكل عام، ينتج عن ذلك درجة جودة مُبسطة لكنها عالية الدقة. تتوافق المجموعات الثلاث في جدول الجودة مع الاستدعاءات القاعدية ذات درجة الجودة الضئيلة ($Q15 >$)، والمتوسطة ($Q20 \sim$) وعالية الجودة ($Q30 <$)، كما يُعيّن إليها الدرجات المُحددة وهي 12، و23 و37 على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، تُعيّن الدرجة الملغاة 2 إلى عدم وجود أي استدعاءات. يقلل نموذج تقارير درجة الجودة من مساحة التخزين ومتطلبات عرض النطاق دون التأثير على الدقة أو الأداء.

الشكل 7 درجة الجودة المبسطة باستخدام برنامج التحليل الفعلي 3 (RTA3)

التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)

تسلسل البيانات

```
CAGAACCTGACCCGAACCTGACC
TTGGCATTCCATTGGCATTTCCTCA
TAGCATCATGGATTAGCATCATGGAT
GAGTCAACATCAGAGTCAACAGTCA
```

جدول الجودة

مقياس 5	مقياس 4	مقياس 3	مقياس 2	مقياس 1
0	3.2	3	1	0
0	0.9	0.5	915	862
1	0.06	0.05	2178	2125
1	0.07	0.05	3309	3256

درجات الجودة

37 | 23 | 12 | 2

ملفات الإخراج للتسلسل

نوع الملف	وصف الملف، والموقع، والاسم
ملفات الاستدعاء القاعدي المتسلسل	يوجد كل عنقود تم تحليله في ملف استدعاء أساسي متسلسل، ويتم جمعه في ملف واحد وفقاً للدورة، والممر، والسطح. يحتوي الملف المجمع على الاستدعاء القاعدي المتسلسل وسجل جودة مشفر لكل عنقود. يتم استخدام ملفات الاستدعاء القاعدي المتسلسل بواسطة مركز تسلسل BaseSpace أو bcl2fastq2. Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L001_1.cbcl على سبيل المثال L[lane]_[surface].cbcl
ملفات موقع العنقود	يحتوي ملف موقع العنقود الثنائي على الإحداثيات السينية والإحداثيات الصادية للعناقيد الموجودة في شريحة، وذلك لكل حجرة تدفق. يحدد المخطط السداسي الذي يطابق مخطط مجمع النانو الخاص بحجرة التدفق الإحداثيات مسبقاً. البيانات/الكثافات s_[lane].locs
ملفات الفلتر	يُحدد ملف الفلتر إذا ما كان العنقود يمر عبر الفلتر أو لا. يتم إنشاء ملفات الفلتر في الدورة 26 باستخدام 25 دورة من البيانات. يتم إنشاء ملف فلتر واحد لكل شريحة. Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter
ملفات InterOp	يُمكن عرض ملفات إعداد التقارير الثنائية بالجهاز باستخدام برنامج التحكم بالجهاز أو خارج الجهاز في عارض تحليل التسلسل (SAV) أو مركز BaseSpace. يتم تحديث ملفات InterOp خلال التشغيل. مجلد InterOp
ملف معلومات التشغيل	يسرد اسم التشغيل، وعدد الدورات لكل قراءة - إذا كانت القراءة هي قراءة فهرس - وعدد القطاعات والشرائح في حجرة التدفق. يتم إنشاء ملف معلومات التشغيل عند بداية التشغيل. Root folder]،RunInfo.xml]

ملفات إخراج التحليل الثانوي لخادم DRAGEN

تُحلل منصة DRAGEN Bio-IT إخراج التسلسل الخاص بك بالجهاز بشكل أكبر من خلال استخدام أحد أنابيب التحليل التالية.

- تطبيق برنامج BCL Convert
- Germline
- الحمض النووي الريبوزي RNA
- التخصيب
- الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة

يُقدّم هذا القسم المعلومات حول كل من أنابيب DRAGEN، بما في ذلك معلومات ملف الإخراج. بالإضافة إلى إنشاء الملفات المُخصصة لكل أنبوب، يوفر خادم DRAGEN المقاييس من التحليل في ملف <sample_name>.metrics.json والتقارير الموصوفة في [أنابيب تطبيق BCL Convert لخادم DRAGEN على الصفحة 53](#).

اعتبارات ملف الإخراج:

- بالنسبة إلى أنابيب السلالة الجرثومية، والحمض النووي الريبوزي RNA والتخصيب التي تعمل على التحليل داخل الجهاز، فلن يتم تحميل ملفات BAM إلى مركز تسلسل BaseSpace في حال تم تحديد Proactive, Run Monitoring and Storage (المراقبة الاستباقية، ومراقبة عملية التشغيل والتخزين).

أنابيب التخصيب ل خادم DRAGEN

تدعم أنابيب التخصيب ل خادم DRAGEN الاستدعاء المتغير الصغير والاستدعاء المتغير البنيوي. لإجراء استدعاء المتغيرات، يجب تضمين ملف *bed.** في ورقة العينة أو تحديده في إعداد عملية التشغيل بالجهاز أو مركز تسلسل BaseSpace. يتم إنشاء الاستدعاء المتغير البنيوي للقراءات ذات النهاية المقترنة ووضع السلالة الجرثومية فقط. يعمل الأنبوب على إنشاء ملفات الإخراج التالية.

المكوّن	النوع	اسم ملف الإخراج
التعيين/المحاذاة	BAM أو CRAM	• <sample_name>.bam • <sample_name>.cram
الاستدعاء المتغير الصغير	VCF و gVCF	• <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
الاستدعاء المتغير البنيوي	تدقيق VCF	• <sample_name>.sv.vcf.gz

أنابيب السلالة الجرثومية ل خادم DRAGEN

تدعم أنابيب السلالة الجرثومية ل خادم DRAGEN الميزات التالية:

- الاستدعاء المتغير الصغير
 - الاستدعاء المتغير البنيوي للقراءات مقترنة الطرفين
 - الاستدعاء المتغير لعدد نسخ الجينومات البشرية
 - توسعات تكرار الجينومات البشرية
 - مناطق الزيجوتية المتماثلة للجينومات البشرية
- يتم إنشاء الاستدعاء المتغير البنيوي للقراءات ذات النهاية المزدوجة فقط. يعمل الأنبوب على إنشاء ملفات الإخراج التالية.

المكوّن	النوع	اسم ملف الإخراج
التعيين/المحاذاة	BAM أو CRAM	• <sample_name>.bam • <sample_name>.cram
الاستدعاء المتغير الصغير	VCF و gVCF	• <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
أداة الاستدعاء المتغير البنيوي	تدقيق VCF	• <sample_name>.sv.vcf.gz
متغيرات عدد النسخ	تدقيق VCF	• <sample_name>.cnv.vcf.gz
توسع التكرار	تدقيق VCF	• <sample_name>.repeats.vcf.gz
مناطق الزيجوتية	تدقيق CSV و BED	• <sample_name>.roh.metrics.csv • <sample_name>.roh.bed

أنابيب الحمض النووي الريبوزي RNA لخادم DRAGEN

تدعم أنابيب الحمض النووي الريبوزي RNA لخادم DRAGEN الكشف عن الدمج الجيني وتحديد كمية النسخ. لإنشاء ملفات الإخراج، حدد ملفًا بتسويق النقل الجيني GTF في ورقة العينة أو تأكد من وجود genes.gtf.gz الافتراضي مع الجينوم المرجعي. يعمل الأنبوب على إنشاء ملفات الإخراج التالية.

المكوّن	النوع	اسم ملف الإخراج	الوصف
التعيين/المحاذاة	BAM أو CRAM	• <sample_name>.bam أو • <sample_name>.cram	إخراج المحاذاة يُلبى مواصفات تسويق تعيين/محاذاة التسلسل .SAM
اكتشاف الدمج الجيني	نص عادي	• sample_>.fusion_candidates.preliminary • sample_>.fusion_candidates.final	• يسري عناصر ترشيح الدمج قبل تطبيق المُرشحات. • يسري عناصر ترشيح الدمج بعد تطبيق المُرشحات.
تحديد كمية النسخ	نص عادي	• sample_name.quant.genes.sf • sample_name.quant.sf	• نتائج تحديد كمية النسخ عند المستوى الجيني. • جميع نتائج تحديد كمية النسخ.

أنابيب الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة في خادم DRAGEN

يدعم خادم DRAGEN تصنيف الخلية والجينات. لإنشاء ملفات الإخراج، حدد ملفًا بتسويق النقل الجيني GTF في ورقة العينة أو تأكد من وجود genes.gtf.gz الافتراضي مع الجينوم المرجعي. يعمل الأنبوب على إنشاء ملفات الإخراج التالية.

المكوّن	النوع	اسم ملف الإخراج
التعيين/المحاذاة	BAM أو CRAM	• <sample_name>.bam • <sample_name>.cram
تصنيف الخلية/الجين	صيغة TSV، و CSV، و MTX	• <sample_name>.scRNA.barcodeSummary.tsv • <sample_name>.scRNA.genes.tsv • <sample_name>.scRNA.matrix.mtx
تقارير التحليل	HTML	• <sample_name>.dragen.scrna-report.*.html

أنابيب تطبيق BCL Convert لخدم DRAGEN

تستخدم أنابيب تطبيق BCL Convert لخدم DRAGEN بيانات الاستدعاء القاعدي التي تم إنشاؤها من معلومات ورقة العينة و عملية تشغيل التسلسل الخاصة بك لإخراج ملف FASTQ لكل عينة. اسم ملف FASTQ هو <code>sample_name>.fastq.gz</code>. يعمل الأنبوب على إنشاء التقارير التالية.

المكوّن	النوع	اسم ملف الإخراج
نظام موزّع البيانات	تنسيق CSV	Demultiplex_Stats.csv •
مقاييس المحوّل	تنسيق CSV	Adapter_Metrics.csv •
قفز المؤشر	تنسيق CSV	Index_Hopping_Counts.csv •
أهم الرموز الشريطية غير المعروفة	تنسيق CSV	Top_Unknown_Barcodes.csv •

تقرير إحصائيات نظام موزّع البيانات

يتضمّن تقرير إحصائيات نظام موزّع البيانات المعلومات حول عدد القراءات التي تمرّ من الفلتر المُعيّنة إلى كل عينة في ورقة العينة. تُصنّف جميع القراءات غير المُرتبطة بإحدى العينات بوضوح بوصفها غير مُقررة. يتضمّن التقرير كذلك المعلومات حول درجات الجودة للقواعد في القراءات التي تمر من الفلتر (PF) المُعيّنة لكل عينة. تُضمن المعلومات التالية.

المقياس	الوصف
الممر	ممر خلية التدفق التي تم إجراء تسلسل العينة به.
SampleID	مُعرّف العينة من ورقة العينة. إذا لم تتوافق القراءة مع العينة، يعرض الحقل <code>undetermined</code> (غير مُقرر).
المؤشر	تسلسل قراءة المؤشر 1 وقراءة المؤشر 2 من ورقة العينة التي يفصلها وصلات. إذا لم تتوافق القراءة مع العينة، يعرض الحقل <code>undetermined</code> (غير مُقرر).
عدد القراءات	عدد القراءات التي تمرّ من الفلتر التي تم توزيع بياناتها للعينة في الممر المحدد.
عدد قراءات المؤشر المثلى	عدد القراءات ذات التطابق الأمثل لتسلسلات المؤشر المُدمجة المحددة في ورقة العينة.
# عدم تطابق قراءات فهرس واحد	عدد القراءات ذات الخطأ الواحد في تسلسلات المؤشر المُدمجة المحددة في ورقة العينة.
# عدد القواعد $Q30 \leq$ (نسبة المرور من الفلتر)	عدد القواعد، بما في ذلك المحولات، التي تتوافق مع القراءات التي تمر من عتبة الجودة Q30.
متوسط درجة الجودة (PF)	متوسط درجة الجودة للقراءات التي تتوافق مع العينة في الممر المحدد. تتضمّن القيمة قواعد المحوّل.

تقارير مقاييس المحوّل

يتضمّن ملف مقاييس المحوّل عدد قواعد المحوّل والعينة المرتبطة بكل قراءة. تُضمن المعلومات التالية.

المقياس	الوصف
الممر	ممر خلية التدفق التي تم إجراء تسلسل العينة به.
Sample_ID	مُعرّف العينة من ورقة العينة. إذا لم تتوافق القراءة مع العينة، يعرض الحقل undetermined (غير مُقرر).
المؤشر	تسلسل index1 من ورقة العينة. الحقل فارغ إذا لم يتم تحديد المؤشر في ورقة العينة أو أن قيمة معرف العينة غير مُقررة.
index2	تسلسل index2 من ورقة العينة. الحقل فارغ إذا لم يتم تحديد index2 في ورقة العينة أو أن قيمة معرف العينة غير مُقررة.
R1_AdapterBases	عدد القواعد التي تتوافق مع AdapterRead1 في ورقة العينة.
R1_SampleBases	عدد القواعد التي تم إخفاؤها أو تشذيبها من القراءة رقم 1 للممر والعينة المتوافقين.
R2_AdapterBases	عدد القواعد التي تتوافق مع AdapterRead2 في ورقة العينة.
R2_SampleBases	عدد القواعد التي تم إخفاؤها أو تشذيبها من القراءة رقم 2 للممر والعينة المتوافقين.
عدد القراءات	عدد قراءات العينة في الممر المحدد.

تقرير حسابات قفز المؤشر

يتضمّن تقرير حسابات قفز المؤشر عدد القراءات لكل مؤشر مُتوقع وقابل للقفز لعمليات تشغيل المؤشر المزدوجة. يتضمّن التقرير مؤشرات مزدوجة فريدة لكل ممر حيث لا يوجد تعارض في الرمز الشريطي في أي من المؤشرات. لإنشاء مقاييس قفز المؤشر لأحد الممرات، يجب أن يكون لكل زوج من الإدخالات داخل كل مؤشر مسافة هامينج تُقدّر بـ $2N + 1$ على الأقل، حيث تُمثل N عدم تطابق الرمز الشريطي المسموح به المُحدد للفهرس.

تُضمن المعلومات التالية.

بالنسبة إلى عمليات التشغيل غير المرتبطة بمؤشر، أو عمليات التشغيل المرتبطة بمؤشر فردي أو الممرات التي لا تتضمّن مؤشرات مزدوجة فريدة، يتضمّن الملف العناوين فقط.

المقياس	الوصف
الممر	ممر خلية التدفق التي تم إجراء تسلسل العينة به.
عدد القراءات	عدد قراءات العينة في الممر المحدد.
SampleID	مُعرّف العينة من ورقة العينة. إذا لم تتوافق القراءة مع العينة، يعرض الحقل undetermined (غير مُقرر).
المؤشر	تسلسل index1 من ورقة العينة. الحقل فارغ إذا كانت القراءة ذات نهاية فردية أو قيمة مُعرّف العينة غير مُقررة.
index2	تسلسل index2 من ورقة العينة. الحقل فارغ إذا كانت القراءة ذات نهاية فردية أو قيمة مُعرّف العينة غير مُقررة.

تقرير بأهم الرموز الشريطية غير المعروفة

يتضمن تقرير بأهم الرموز الشريطية غير المعروفة أهم 100 مؤشر أو أزواج مؤشر لكل ممر التي لم تكن مُحددة في ورقة العينة وفقًا لعدد عدم التطابقات المسموح به. إذا كان هناك العديد من قيم المؤشر الموضوع في المركز الـ 100 لأعلى إدخال لعدد المؤشر، فإن جميع قيم المؤشر ذات العدد نفسه ستُخرج كإدخال في المركز الـ 100.

تُضمن المعلومات التالية:

المقياس	الوصف
الممر	ممر خلية التدفق التي تم إجراء تسلسل العينة به.
المؤشر	تسلسل كل مؤشر غير معروف في المؤشر Read1. الحقل فارغ إذا لم يتم العثور على مؤشرات غير معروفة.
index2	تسلسل كل مؤشر غير معروف في المؤشر Read 2. إذا كانت عملية التشغيل ذات قراءة مفردة أو لم يتم العثور على مؤشرات غير معروفة، يكون الحقل فارغًا.
عدد القراءات	عدد قراءات العينة في الممر المحدد.

تقارير الجودة لخاصة DRAGEN لدى Illumina

بالنسبة إلى جميع الأنابيب، يعمل DRAGEN FastQC على إنشاء مخططات التحكم بالجودة افتراضيًا. تُخزن نتائج التحكم بالجودة المُجمعة في مجلد AggregatedFastqcMetrics وتُخزن نتائج كل عينة في مجلد <sample_name>. يتم تقديم مخططات التحكم بالجودة التالية.

مخطط التحكم بالجودة	الوصف
adapter_content	نسبة عمليات التسلسل لكل زوج قاعدي.
positional_mean_quality	متوسط درجة الجودة القاعدية على مقياس فريد لكل موقع قراءة.
gc_content	نسبة محتوى الجوانين والسيبوزين GC لكل قراءة تسلسل.
positional_quality.read_1	متوسط قيمة جودة القواعد على مقياس فريد مع نيوكليوتيدات معينة وفي موقع محدد في القراءة 1.
gc_quality	
positional_quality.read_2	متوسط قيمة جودة القواعد على مقياس فريد مع نيوكليوتيدات معينة وفي موقع محدد في القراءة 2.
n_content	
read_length	طول التسلسل لكل قراءة.
positional_base_content.read_1	عدد القواعد لكل نيوكليوتيد محدد في مواقع معينة في القراءة 1.
read_quality	متوسط درجة الجودة على مقياس فريد لكل قراءة تسلسل.
positional_base_content.read_2	عدد القواعد لكل نيوكليوتيد محدد في مواقع معينة في القراءة 2.

بنية مجلد إخراج التحليل الثانوي لخاصة DRAGEN.

يعمل خادم DRAGEN على إنشاء ملفات الإخراج في مجلد الإخراج المُحدد في علامة تبويب Settings (الإعدادات) افتراضيًا.

Data 📁

AggregateFastQCPlots 📁

png.* 📄

stderr_.txt* 📄

stdout_.txt* 📄

dragen_prev_24_hrs.log 📄

SampleSheet.csv 📄

(Run input files (eg, BED, GTF files) 📄

sample_name 📁

enrich_caller , germline_seq, or rna_seq 📁

sample_name 📁

png.* 📄

dragen_*.log 📄

sample_name.*.metrics.csv 📄

DNA] sample_name.*.vcf.gz] 📄

DNA] sample_name.*.gvcf.gz] 📄
 .DRAGEN Bio-IT غير مُتاح لأنابيب تخصيص منصة

sample_name.*.bam or sample_name.*.cram 📄

Logs 📄

RNA] sample_name.fusion_candidates.filter_info] 📄

RNA] sample_name.fusion_candidates.final] 📄

RNA] sample_name.quant.genes.sf] 📄

RNA] sample_name.quant.sf] 📄

sample_name.metrics.json 📄

scRNA] sample_dragen-scrna-report.*.html] 📄

scRNA] sample_name.scRNA.barcodeSummary.tsv] 📄

sample_name.fastqc_metrics.csv 📄

sample_name.trimmer_metrics.csv 📄

logs 📁

txt.* 📄

csv.* 📄

fastq 📁 —مُتاح إذا تم تعيين KeepFastq إلى صحيح فقط.

fastq.gz.*

ora_fastq —مُنَاح إذا تم تعيين FastqCompressionFormat إلى dragen فقط.

fastq.ora.*

RunInstrumentAnalyticsMetrics

0001

dataset.json

0002

dataset.json

Adapter_Metrics.csv

Demultiplex_Stats.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Reports

Demultiplex_Stats.csv

RunInfo.xml

Trim_Metrics.csv

fastq_list.csv

SampleSheet.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Top_Unknown_Barcodes.csv

Read1InstrumentAnalyticsMetrics —للقراءات ذات النهاية المُقرنة فقط.

0001

dataset.json

0002

dataset.json

Adapter_Metrics.csv

Demultiplex_Stats.csv

Index_Hopping_Counts.csv

Read1Metrics —للقراءات ذات النهاية المُقرنة فقط.

Adapter_Metrics.csv

Trim_Metrics.csv

Index_Hopping_Counts.csv

الصيانة

يصف هذا القسم الإجراءات اللازمة للحفاظ على النظام الصحي. تعلم كيفية تثبيت تحديثات البرنامج، وتغيير مُرشح الهواء والشروع في إجراءات الصيانة الدورية الأخرى. يضمن الحفاظ على برنامج التحكم مُحدثاً أن يكون لدى النظام الخاص بك أحدث والميزات المُتنبئة للتمتع بالأداء بالشكل الأمثل.

مسح مساحة القرص الصلب

تتطلب عملية تشغيل التسلسل حوالي 200 جيجابايت من مساحة القرص الصلب المحلي. يُعرض إشعار التحذير عندما تكون المساحة منخفضة. استخدم الخطوات التالية لمسح المساحة من خلال حذف عمليات التشغيل المُكتملة والجينومات المرجعية المثبتة.

⚠️ احذف عمليات التشغيل باستخدام برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 بدلاً من استخدام نظام التشغيل يدوياً. قد يؤثر حذف عمليات التشغيل يدوياً على برنامج التحكم.

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Disk Management (إدارة القرص)**.
- تظهر شاشة **Disk Management (إدارة القرص)** مع قائمة بعمليات التشغيل والجينومات المرجعية المحفوظة على القرص الصلب المحلي.
2. بالنسبة لعملية التشغيل التي تريد حذفها، حدد **Delete Run (حذف عملية التشغيل)**.
- يؤدي حذف عملية التشغيل إلى حذف مجلد التشغيل المحلي. يتم الاحتفاظ بمجلد الإخراج الذي يُعدّ نسخة من مجلد التشغيل.
3. في مربع الحوار، حدد **Yes, Delete Run (نعم، حذف عملية التشغيل)** لتأكيد حذف عملية التشغيل.
4. كرر الخطوات 2 و3 لكل عملية تشغيل تريد حذفها.
5. بالنسبة للجينوم الذي تريد حذفه، حدد **Delete Genome (حذف الجينوم)**.
6. في مربع الحوار، حدد **Yes, Delete Genome (نعم، حذف الجينوم)**.
7. كرر الخطوات 5 و6 لكل جينوم تريد حذفه.
8. عند الانتهاء، أغلق **Disk Management (إدارة القرص)** للعودة إلى الشاشة الرئيسية.

تحديثات البرنامج

يضمن تحديث البرنامج أن النظام الخاص بك لديه أحدث الميزات والإصلاحات. يتم تجميع تحديثات البرنامج في مجموعة النظام، والتي تتضمن البرنامج التالي:

- برنامج التحكم NextSeq 1000/2000.
- صيغ NextSeq 1000/2000
- خدمة النسخ العالمية
- التحليل في الوقت الفعلي

ⓘ نماذج خادم DRAGEN غير مُضمنة في مجموعة النظام. قم بتثبيتها بصورة منفصلة حسب الحاجة. قم بالوصول إلى برنامج نماذج DRAGEN من صفحات الدعم.

تتم تهيئة النظام بحيث يقوم بتنزيل تحديثات البرامج تلقائيًا أو يدويًا:

- **التحديثات التلقائية**—يتم تنزيل التحديثات تلقائيًا من مركز التسلسل BaseSpace حتى يُمكنك تثبيتها. يتطلب هذا الخيار الاتصال بالإنترنت إلا إنه لا يتطلب إنشاء أحد الحسابات على مركز التسلسل BaseSpace.
- **التحديثات اليدوية**—يتم تنزيل التحديثات يدويًا من الويب، ويتم حفظها محليًا أو على محرك محمول; ويتم تثبيتها من الموقع الذي تم حفظها داخله. لا يتطلب هذا الخيار اتصالًا بالإنترنت للجهاز.

تثبيت تحديث البرنامج التلقائي

1. سجّل الدخول إلى ilmadmin.
 2. تأكد من عدم وجود عمليات تشغيل التسلسل أو تحليل ثانوي بالجهاز قيد التقدّم.
 3. حدد **Software Update (تحديث البرنامج)** من قائمة برنامج التحكم. تعرض الأنظمة التي تمت تهيئتها لإجراء تحديثات تلقائية تنبيهًا عند توفر أحد تحديثات البرامج.
 4. للتحقق من أحد التحديثات، حدد **Check Online for Software Update (التحقق من تحديث البرنامج عبر الإنترنت)**.
 5. حدد **Update Now (التحديث الآن)** لتنزيل الإصدار الجديد من البرنامج. عند اكتمال التنزيل، يتم إغلاق برنامج التحكم ويظهر معالج التثبيت. يُعيد برنامج التحكم التشغيل تلقائيًا. يتم إجراء أي تحديث للبرامج الثابتة تلقائيًا بعد إعادة التشغيل.
- i** يؤدي إلغاء أحد التحديثات قبل اكتمال التثبيت إلى توقف التحديث عند النقطة الحالية. أي تغييرات تم إجراؤها على نقطة الإلغاء يتم إرجاعها إلى الإصدار السابق أو لا يتم تثبيتها.

تثبيت تحديث البرنامج يدويًا

1. سجّل الدخول إلى ilmadmin.
 2. تأكد من عدم وجود عمليات تشغيل التسلسل أو تحليل ثانوي بالجهاز قيد التقدّم.
 3. عندما يكون تحديث البرنامج متاحًا، قم بتنزيل مثبت الحزمة (*tar.gz) من [صفحة دعم أجهزة التسلسل NextSeq وNextSeq 1000](#) 2000. احفظ المثبت بمحرك ذاكرة محمولة أو محلية.
 4. إذا قمت بحفظ المثبت بمحرك الذاكرة المحمولة، فقم بتوصيل المحرك بمنفذ USB 3.0 الموجود في كل من الناحية الجانبية والخلفية من الجهاز.
 5. في برنامج التحكم، حدد **Software Update (تحديث البرنامج)** من قائمة برنامج التحكم.
 6. حدد **Choose ... (اختيار...)** للانتقال إلى المثبت.
 7. حدد **Update Now (تحديث الآن)** لبدء التثبيت. يعرض برنامج التحكم مؤشرًا نشطًا خلال عملية التثبيت. يُعيد برنامج التحكم التشغيل تلقائيًا. يتم إجراء أي تحديث للبرامج الثابتة تلقائيًا بعد إعادة التشغيل.
- i** يؤدي إلغاء أحد التحديثات قبل اكتمال التثبيت إلى توقف التحديث عند النقطة الحالية. أي تغييرات تم إجراؤها على نقطة الإلغاء يتم إرجاعها إلى الإصدار السابق أو لا يتم تثبيتها.

تحديثات الترخيص وأنابيب خادم DRAGEN

يُمكن لمسؤولي النظام فقط تحديث أنابيب DRAGEN وتجديد رخصة DRAGEN.

تجديد ترخيص DRAGEN عبر الإنترنت

إذا كانت أجهزة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 متصلة بشبكة الإنترنت، فحدِّث ترخيص منصة DRAGEN Bio-IT الخاصة بك كما يلي.

1. تواصل مع الدعم الفني لشركة Illumina للحصول على مفتاح ترخيص جديد.
2. انتظر 24 ساعة حتى يتم تحديث الترخيص تلقائيًا أو حدِّث الترخيص في الحال كما يلي.
 - a. حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثمَّ حدد **DRAGEN**.
 - b. حدد **Check Online (التحقق عبر الإنترنت)** للتحقق مما إذا كان هناك مفتاح ترخيص جديد لخادم DRAGEN متاحًا.
 - c. إذا كان متاحًا، فحدد **Update (تحديث)**.

تجديد ترخيص DRAGEN في وضع عدم الاتصال

إذا كانت أجهزة التسلسل NextSeq 1000 وNextSeq 2000 غير متصلة بشبكة الإنترنت، فحدِّث ترخيص منصة DRAGEN Bio-IT الخاصة بك كما يلي.

1. تواصل مع الدعم الفني لشركة Illumina للحصول على مفتاح ترخيص جديد. احفظ ملف `license.zip` إلى محرك محلي أو محمول.
2. إذا قمت بحفظ ملف `*.zip` إلى محرك الذاكرة المحمولة، فقم بتوصيل المحرك بمنفذ USB 3.0 الموجود في كل من الناحية الجانبية والخلفية من الجهاز. حرك الجهاز برفق حسب الحاجة للوصول إلى الخلف.
3. حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثمَّ حدد **DRAGEN**.
4. حدد **Choose (اختيار)** للانتقال إلى ملف `*.zip`، ومن ثمَّ حدد **Open (فتح)**.

تنصيب تحديثات الأنبوب

1. عند توفر تحديث الأنبوب، قم بتنزيل أداة التنصيب (`*.tar.gz`) من **صفحة دعم DRAGEN**. احفظ المثبت بمحرك ذاكرة محمولة أو محلية.
2. إذا قمت بحفظ المثبت بمحرك الذاكرة المحمولة، فقم بتوصيل المحرك بمنفذ USB 3.0 الموجود في كل من الناحية الجانبية والخلفية من الجهاز. حرك الجهاز برفق حسب الحاجة للوصول إلى الخلف.
3. حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثمَّ حدد **Process Management (إدارة العملية)**.
4. تأكد من عدم وجود عمليات تشغيل التسلسل أو تحليل ثانوي بالجهاز قيد التقدّم.
5. حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثمَّ حدد **DRAGEN**.
6. حدد **Browse for New Version (تصفح إصدارًا جديدًا)** الذي يندرج أدنى Version (إصدار)، للانتقال إلى أداة التنصيب، .
7. حدد **Install (التنصيب)** لبدء التنصيب.
8. أدخل `ilmnadmin` في كلمة مرور النظام، ومن ثمَّ حدد **Authenticate (تصديق)**.

استبدال مُرشِّح الهواء

اتبع التعليمات التالية لاستبدال مُرشِّح الهواء منتهي الصلاحية كل 6 أشهر.

مُرشّح الهواء هو خرطوشة مستطيلة الشكل قابلة للاستخدام مرة واحدة وتُغطّي المروحة في الجانب الأيمن من الجهاز. كما يضمن التبريد الملائم ويمنع المخلفات من دخول النظام. يتم شحن الجهاز ويزود بمُرشّح هواء واحد مركب وآخر احتياطي. تُرفق قطع الغيار الإضافية مع عقد صيانة صالح للجهاز أو يُمكن شراؤها بشكل منفصل من Illumina.

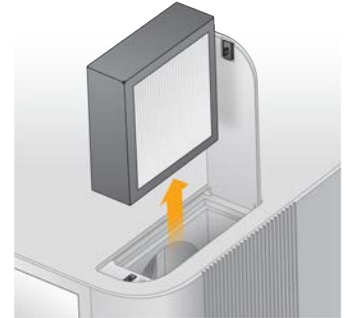
1. على الجانب العلوي من الجهاز، اضغط على الجانب الأيمن من اللوحة العلوية لفصلها كما يظهر في الرسم التوضيحي التالي.



2. افتح اللوحة.



3. اضغط لإزالة خرطوشة مرشّح الهواء، وانزعها من وسط اللوحة وتخلّص منها.



4. قم بإدخال مُرشّح هواء جديد داخل المقبس واضغط عليه لتثبيته.

5. أغلق اللوحة العلوية واضغط لتستقر في مكانها.



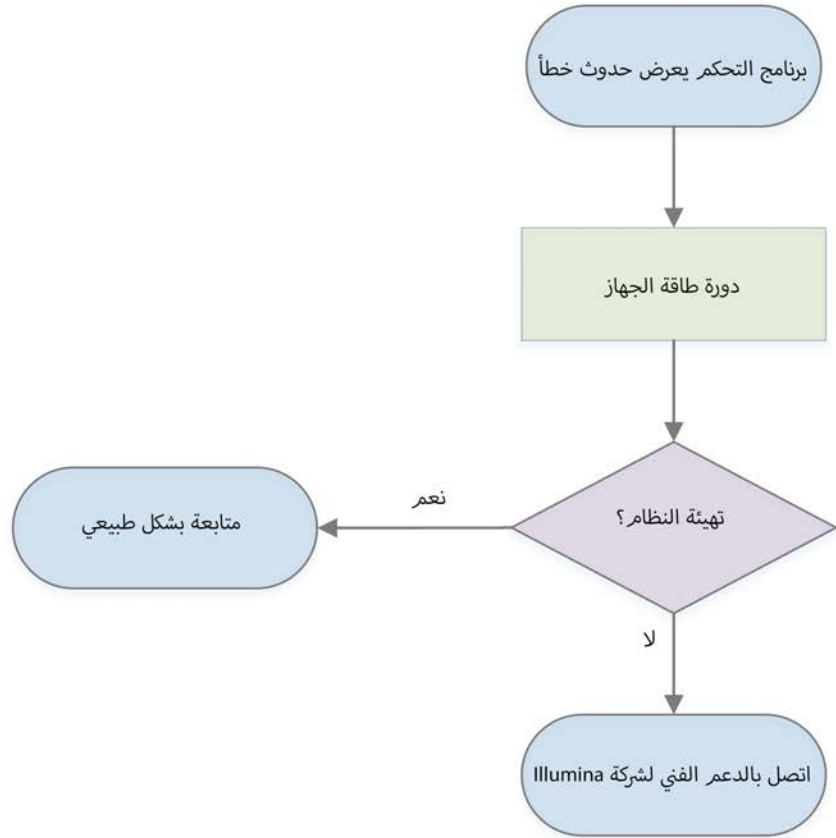
6. أعد الجهاز إلى موضعه الأصلي.

استكشاف الأخطاء وإصلاحها

يُقدّم هذا القسم تعليمات خطوة بخطوة حول إلغاء عملية التشغيل، ودورة طاقة الجهاز، والإجراءات الأخرى لاستكشاف الأخطاء وإصلاحها.

تحليل رسالة الخطأ

يقدم هذا الملحق تعليمات مفصلة حول الخطوات المتنوعة لاستكشاف الأخطاء وإصلاحها. يقدم مخطط السير التالي نظرة عامة على استكشاف رسائل الخطأ وإصلاحها التي تظهر خلال التهيئة، أو إعداد التشغيل، أو التسلسل، والتي لا يتم حلها من خلال إعادة المحاولة. يُمكن حل العديد من الأخطاء من خلال دورة الطاقة: إيقاف تشغيل الجهاز ومن ثمّ إعادة تشغيله.



أعد المستهلكات إلى التخزين

استخدم التعليمات التالية لتخزين الخرطوشة المذابة وخلية التدفق في حال وجود خطأ بالجهاز خلال فحص ما قبل عملية التشغيل بالجهاز قبل فحص السوائل.

1. افصل خلية التدفق عن الخرطوشة.
 2. أزل المكتبة المُخففة من الخزان وتخلص منها (ما يصل إلى 18 ميكرو لترًا تقريبًا).
- ❗ قم بإعداد محلول تخفيف حديث للمكتبة نفسها من أجل عملية التشغيل التالية لتجنب انتقال تلوّث العينة للمكتبة المتبقية في الخزان.

3. ضع الخرطوشة في درجة حرارة تخزين من درجتين إلى 8 درجات سيليزية بحيث يكون الملصق متجهًا لأعلى ويُمكن للهواء الدوران في جميع الجوانب.
- لا تتجاوز 72 ساعة. إذا تمت إذابة الخرطوشة في الثلاجة لمدة 12 ساعة طوال الليل، فلا تتجاوز 60 ساعة.
4. أعد خلية التدفق إلى عبوة الرقاقة المعدنية الفضية الأصلية مع مادة التجفيف.
5. أغلق عبوة الرقاقة المعدنية بالشرط اللاصق وخرنّها في درجة حرارة من درجتين إلى 8 درجات سيليزية.
- لا تتجاوز 72 ساعة.

إلغاء عملية التشغيل

1. حدد **End Run (إنهاء التشغيل)**.
2. لإزالة خرطوشة الكاشف تلقائيًا، حدد مربع اختيار **Purge Reagent Cartridge (إزالة خرطوشة الكاشف)**.
تمت تهيئة تحديد الإعداد الافتراضي في إعدادات برنامج التحكم NextSeq 1000/2000.
3. حدد **Yes, end the sequencing run (نعم، إنهاء عملية التشغيل)**.
إلغاء عملية التشغيل أمر نهائي. لا يمكن للبرنامج استئناف عملية التشغيل ولا يمكن إعادة استخدام المستهلكات بعد فحص الجهاز لجزء من فحوصات ما قبل عملية التشغيل.
4. حدد **Eject Cartridge (إخراج الخرطوشة)** لفتح القناع وإخراج الدرج.
5. أزل الخرطوشة من الدرج.
6. قم بتخزين الخرطوشة أو التخلص منها حسب وقت حدوث الإلغاء:

الحالة	مثال
قد أُلغيت قبل إجراء فحوصات ما قبل التشغيل بالجهاز أو خلالها وترغب في إعادة استخدام المستهلكات.	راجع أعد المستهلكات إلى التخزين على الصفحة 63 .
جميع الظروف الأخرى.	راجع تفريغ المستهلكات على الصفحة 43 .

7. حدد **Close Door (إغلاق الباب)** لإعادة تحميل الدرج والعودة إلى الشاشة الرئيسية.
تؤكد أجهزة الاستشعار إزالة الخرطوشة.

إعادة ترتيب عملية التشغيل

- إذا تم عرض خطأ ما لحالة التحليل الثانوية في **Process Management (إدارة العملية)**، يُمكنك إعادة ترتيب عملية التشغيل لإجراء التحليل لخدّام DRAGEN بالجهاز مرةً أخرى على ملفات الاستدعاء الأساسي المتسلسل cBCL التي تم إنشاؤها. يجب أن يكون مجلد عملية التشغيل الأصلي متواجدًا في الجهاز لتنفيذ وظيفة إعادة الترتيب. لا ينتج عن استخدام وظيفة إعادة الترتيب تلك إعادة ترتيب عمليات التشغيل في مركز تسلسل BaseSpace. لإعادة الترتيب في مركز تسلسل BaseSpace، راجع إصلاح ورقة العينة في مركز تعليمات مركز التسلسل BaseSpace.
1. حدِّث الإصدار الثاني من ورقة العينة لديك، ومن ثمّ احفظ ورقة العينة إلى محرك شبكة محمول أو مثبت.
 2. إذا قمت بحفظ ورقة العينة بمحرك الذاكرة المحمولة، فقم بتوصيل المحرك بمنفذ USB 3.0 الموجود في كل من الناحية الجانبية والخلفية من الجهاز. حرك الجهاز برفق حسب الحاجة للوصول إلى الخلف.
 3. حدد قائمة برنامج التحكم، ومن ثمّ حدد **Process Management (إدارة العملية)**.
 4. تأكد من عدم وجود عمليات تشغيل التسلسل أو تحليل ثانوي بالجهاز قيد التقدّم.
 5. حدد **Requeue (إعادة الترتيب)** بجوار عملية التشغيل المكتملة لإعادة الترتيب.

6. حدد **Choose** (اختيار) للانتقال إلى ورقة العينة المُحدثة، ومن ثم حدد **Open** (فتح).
7. حدد **Start Requeue** (بدء إعادة الترتيب).

إعادة تشغيل الجهاز

تعمل دورة طاقة الجهاز على إغلاق النظام وإعادة تشغيله بشكل سليم لاستعادة الاتصال المفقود، أو محاذاة المواصفات أو حل مشكلة فشل التهيئة. تشير رسائل البرنامج إلى توقيت دورة الطاقة لحل خطأ أو تحذير.

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **Shut Down Instrument** (إغلاق الجهاز).
2. في حال كان النظام لا يستجيب لأمر الإغلاق، اضغط مع الاستمرار على زر الطاقة على الجانب الأيمن من الجهاز حتى يخفت الضوء تدريجياً.
3. عندما ينبض زر الطاقة، اضغط على زر الإغلاق على الجانب (O) من مفتاح الفصل الكهربائي الموجود باللوحة الخلفية. قد يستمر زر الطاقة في النبض بعد إيقاف تشغيل الطاقة.

الشكل 8 موقع مفتاح الفصل الكهربائي



4. انتظر لمدة 30 ثانية.
5. اضغط على زر الطاقة على الجانب (I) من مفتاح الفصل الكهربائي.
6. عندما ينبض زر الطاقة، اضغط عليه.

الشكل 9 موقع زر الطاقة



7. انتظر حوالي 5 دقائق حتى يتم تحميل نظام التشغيل. عندما يتم تحميل نظام التشغيل، قم بتسجيل الدخول إلى النظام. يجري تشغيل برنامج التحكم وتهيئة النظام. انتظر حوالي 5 دقائق لبدء النظام. تظهر الشاشة الرئيسية عند اكتمال التهيئة.

إجراء فحص النظام

التحقق من النظام ليس ضروريًا للعمليات العادية أو صيانة الجهاز. ومع ذلك، قد يطلب منك ممثل الدعم الفني لشركة Illumina أن تقوم بإجراء فحص للنظام بهدف استكشاف الأخطاء وإصلاحها. تستغرق فحوصات النظام الفرعي الأربعة 58 دقيقة لاستكشاف أخطاء فحص ما قبل التشغيل والمشكلات الأخرى وإصلاحها. تؤكد الاختبارات ما إذا كانت العناصر تمت محادتها وتؤدي وظيفتها بشكل صحيح. تُعدّ نتائج الاختبار إخراجًا لمجلد فحص النظام الموجود في `usr/local/illumina/system-check/`. تشغيل فحص النظام

1. من قائمة برنامج التحكم، حدد **System Checks (فحوصات النظام)**.
2. حدد مربع الاختيار لأي من فحوصات النظام التالية التي تودّ إجراءها.
 - **Network Connectivity (الاتصال بالشبكة)**—للتحقق من حالة الاتصال بالشبكة وأدائه.
 - **Enclosure (الإغلاق)**—للتحقق من أداء النظام الحراري وآلية رفع القناع.
 - **Motion (الحركة)**—للتحقق من حدود الانتقال والأداء للطور Z والطور XY.
 - **Optics (البصريّات)**—للتحقق من أداء وحدة التصوير.
3. حدد **Start (بدء)**.

استعادة إعدادات المصنع

استعد إعدادات المصنع الافتراضية للنظام من أجل خفض درجة إصدار البرنامج، أو تعافي النظام من تهيئة غير مرغوب فيها. يجب استخدام هذه الميزة من خلال أحد ممثلي Illumina فقط.

التقاط الصورة المثبتة

التقط صورة النظام لإجراء نسخ احتياطي من تثبيت برنامج يعمل بنجاح. يُمكن استعادة صورة النظام تلك في وقت لاحق مناسب. يُوصى بالتقاط صورة النظام في الحال بعد استكمال عملية التثبيت الأولية وتغيير كلمة المرور الخاصة بك مع أحد ممثلي Illumina.

1. أعد تشغيل Linux.
2. عند المطالبة باختيار نظام تشغيل، حدد **Capture Installed Image (التقاط صورة مثبتة)**. تظهر خيارات نظام التشغيل للحظات سريعة قبل متابعة تشغيل برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 تلقائيًا.  بما أنه يتم الاحتفاظ بصورة واحدة فقط في الذاكرة، سيؤدي هذا إلى إلغاء الصورة السابقة المُلتقطة.
3. انتظر لمدة 30 دقيقة حتى يتمكن النظام من التقاط الصورة المثبتة حاليًا. يُمكن أن يشمل الالتقاط عمليات إعادة تشغيل عديدة. عند اكتمالها، يُعيد النظام التشغيل باستخدام الصورة المثبتة حاليًا المخزنة في الذاكرة.

استعادة الصورة الملتقطة

- أعد النظام إلى الصورة الملتقطة السابقة للخروج من عملية تهيئة غير مرغوب فيها.
1. أعد تشغيل Linux.
 2. عند المطالبة باختيار نظام تشغيل، حدد **Restore Installed Image (استعادة صورة مثبتة)**. تظهر خيارات نظام التشغيل للحظات سريعة قبل متابعة تشغيل برنامج التحكم NextSeq 1000/2000 تلقائيًا.

- i** تُعدّ كلمات المرور مرتبطة بصورة النظام. بعد الاستعادة، استخدم كلمة مرور الصورة المُستعادة لتسجيل الدخول في النظام.
3. انتظر حوالي 30 دقيقة حتى اكتمال الاستعادة.
- يُمكن أن تشمل الاستعادة عمليات إعادة تشغيل عديدة. عند اكتمالها، يُعيد النظام التشغيل باستخدام الصورة المُستعادة.

المصادر والمراجع

إعدادات الإصدار الثاني لورقة العينة

إذا كنت تتبع الوضع المحلي، يُمكنك استخدام تسيق ملف الإصدار الثاني لورقة العينة لتهيئة إعدادات التشغيل الخاصة بك. قم بإنشاء ورقة العينة في إعداد عملية تشغيل الجهاز أو من خلال تعديل قالب الإصدار الثاني لورقة العينة الخاصة بجهاز التسلسل *NextSeq 1000* و *NextSeq 2000*. عند تعديل ورقة العينة، تأكد من أن الأقسام والحقول التالية مُضمنة في الطلب المُدرج وتُلبي المتطلبات. بعد إجراء التعديل، استخدم محرك الشبكة المحمول أو المثبت لنقل ورقة العينة إلى أجهزة التسلسل *NextSeq 1000* و *NextSeq 2000*. عند الانتقال إلى ورقة العينة في برنامج التحكم، سيتم نسخها إلى مجلد ما قبل عملية التشغيل على الجهاز بحيث يُمكن إزالة المحرك المحمول.

إذا كنت تستخدم خادم DRAGEN، فأنت بحاجة إلى تهيئة الإعدادات الإضافية. للاطلاع على المزيد من المعلومات، راجع *إعدادات ورقة العينة لخادم DRAGEN على الصفحة 70*

قم بتنزيل قالب الإصدار الثاني لورقة العينة من ملفات المنتج على صفحة الدعم الخاصة بأجهزة التسلسل *NextSeq 1000* و *NextSeq 2000*. إذا قمت بإنشاء ورقة عينة باستخدام إعداد عملية تشغيل الجهاز، فقد ينتج عن تغيير ورقة العينة بعد التنزيل الأولي فشل التحليل. يُمكن أن تحتوي أسماء الملف على أحرف خاصة.

متطلبات [Header]

يتضمّن قسم [Header] إجمالي المعلومات حول عملية التشغيل الخاصة بك. ما يلي هي حقول وأوصاف [Header] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
FileFormatVersion	نعم	إصدار ورقة العينة. أدخل 2 في القيمة.
RunName	لا	اسم عملية التشغيل المميز الذي تريده. يمكن أن يحتوي حقل RunName (اسم عملية التشغيل) على أحرف أبجدية رقمية، وشرطات سفلية، وشرطات ونقاط. إذا كان حقل RunName (اسم عملية التشغيل) يتضمّن مسافات أو أحرفاً خاصة، ستفشل عملية التحليل.
RunDescription	لا	وصف عملية التشغيل.
InstrumentPlatform	لا	NextSeq 1000/2000
InstrumentType	لا	NextSeq 1000/2000

متطلبات [Reads]

يصف قسم [Reads] عدد دورات التسلسل المستخدمة لجينومات وقراءة المؤشر رقم 1 وقراءة المؤشر رقم 2. ما يلي هو حقول وأوصاف [Reads] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
Read1Cycles	نعم	عدد الدورات في القراءة الأولى. يجب أن تكون القيمة عددًا صحيحًا أكبر من صفر.
Read2Cycles	لا	عدد الدورات في القراءة الثانية.
Index1Cycles	لا	عدد الدورات في قراءة المؤشر الأولى. كما أنها ضرورية عند إجراء التسلسل لأكثر من عينة واحدة. الحد الأقصى هو 10 دورات.
Index2Cycles	لا	عدد الدورات في قراءة المؤشر الثانية. الحد الأقصى هو 10 دورات.

متطلبات تطبيق BCL Convert

توفر أقسام تطبيق BCL convert المعلومات حول تحويل بياناتك من تنسيق BCL إلى FASTQ. تتضمن خيارات تطبيق BCL convert قسمين منفصلين: [BCLConvert_Settings] و [BCLConvert_Data]. تتطلب أقسام تطبيق BCL convert المعلومات حول تسلسلات محول المؤشر. لتحديد تسلسل المحول المتوافق لكل قراءة ومؤشر، راجع تسلسلات محول Illumina (المستند رقم 1000000002694). ما يلي هي حقول وأوصاف [BCLConvert_Settings] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
SoftwareVersion	نعم	إصدار برنامج DRAGEN مُنْبَت حاليًا على النظام. استخدم الأعداد الصحيحة الثلاثة جميعها المُضمنة في اسم الإصدار. على سبيل المثال، 3.5.7.
BarcodeMismatchesIndex1	لا	عدد التفاوتات المسموح بها بين قراءة الفهرس الأولى وتسلسل الفهرس. يُمكن أن تكون القيم إما 0، وإما 1 وإما 2. القيمة الافتراضية هي 1.
BarcodeMismatchesIndex2	لا	عدد التفاوتات المسموح بها بين قراءة الفهرس الثانية وتسلسل الفهرس. يُمكن أن تكون القيم إما 0، وإما 1 وإما 2. القيمة الافتراضية هي 1.
FastqCompressionFormat	لا	إخراج ملفات بتنسيق FASTQ كملف *.gz، أدخل *.gzip. لحفظ الملفات بتنسيق FASTQ كملف *.ora، والاستخدام مع برنامج DRAGEN Decompression، أدخل *.dragen.

الحقل	مطلوب	الوصف
AdapterRead1	لا	التسلسل للتشذيب من نهاية القراءة 1 أو إخفائها. تسلسل محوّل القراءة 1 الذي يتضمّن A، أو C، أو G أو T. يعمل AdapterRead1 على تشذيب الدورات افتراضياً.
AdapterRead2	لا	التسلسل للتشذيب من نهاية القراءة 2 أو إخفائها. تسلسل محوّل القراءة 2 الذي يتضمّن A، أو C، أو G أو T. يعمل AdapterRead2 على تشذيب الدورات افتراضياً.
OverrideCycles	لا	الاشريط المُستخدم لتحديد دورات المُعرّف الجزيئي الفريد UMI وإخفاء دورات القراءة. القيم التالية مسموح بها: <ul style="list-style-type: none"> • N—تُحدد الدورات التي يجب تجاهلها. • Y—تُحدد دورات التسلسل. • I—تُحدد دورات الفهرس. • U—تُحدد دورات المُعرّف الجزيئي الفريد UMI التي يجب تشذيبها. يفصل كل عنصر فواصل منقوطة. ما يلي هو أمثلة على إدخال OverrideCycles U8Y143; I8; I8; U8Y143 N10Y66; I6; N10Y66

ما يلي هي حقول وأوصاف [BCLConvert_Data] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
Sample_ID	نعم	مُعرّف العينة. قد يحتوي مُعرّف العينة على ما يصل إلى 20 حرفاً أبجدياً رقمياً، ووصلات، وشرط سفلية. المُعرّف حساس لحالة الأحرف. افصل كل مُعرّف باستخدام شرطة أو شرطة سفلية. على سبيل المثال، -Sample1.DQB1-022515.
الفهرس	لا	تسلسل المؤشر المرتبط بالعينة. قواعد A، C، و T و G مسموح بها. كما أنها ضرورية عند إجراء التسلسل لأكثر من عينة واحدة.
Index2	لا	تسلسل المؤشر الثاني المرتبط بالعينة. قواعد A، C، و T و G مسموح بها. تأكد من أن تسلسلات محوّل المؤشر الثاني (i5) في اتجاه أمامي. يعمل خادم DRAGEN على عكس مؤشرات i5 خلال التحليل الثانوي.
الممر	لا	ممر خلية التدفق. تُمثل الممرات من خلال قيمة عدد صحيح واحدة.

إعدادات ورقة العينة لخادم DRAGEN

يصف هذا القسم متطلبات ورقة العينة لكل خط أنابيب لخادم DRAGEN. أضيف إعدادات خط أنابيب خادم DRAGEN بوصفه القسم الأخير على ورقة العينة الخاصة بك. يُمكنك استخدام خط أنابيب واحد فقط لخادم DRAGEN. يتضمّن خط أنابيب خادم DRAGEN أقساماً منفصلة للإعدادات والبيانات.

متطلبات خط أنابيب السلالة الجرثومية لـ DRAGEN.

ما يلي هي حقول وأوصاف [DragenGermline_Settings] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
SoftwareVersion	نعم	إصدار برنامج DRAGEN مثبت حاليًا على النظام. استخدم الأعداد الصحيحة الثلاثة جميعها المضمنة في اسم الإصدار. على سبيل المثال، 3.5.7. يجب أن يُطابق إصدار البرنامج الإصدار المُحدد في قسم .BCLConvert_Settings
ReferenceGenomeDir	نعم	اسم الجينوم المرجعي. على سبيل المثال، hg19_alt_aware. استخدم اسم الجينوم المرجعي الموجود في usr/local/illumina/genomes/ مرجعي مُخصص، راجع التعليمات عبر الإنترنت لتطبيق أداة الإنشاء المرجعية لأجهزة Illumina إصدار 1.0.0.
MapAlignOutFormat	لا	تتسيق ملف الإخراج. القيم المسموح بها هي bam أو cram. إذا لم يتم تحديد قيمة، فسكنون القيمة الافتراضية "لا شيء".
KeepFastq	لا	لحفظ ملفات إخراج FASTQ، أدخل true (حقيقي). لحذف ملفات إخراج FASTQ، أدخل false (خطأ).

ما يلي هي حقول وأوصاف [DragenGermline_Data] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
Sample_ID	نعم	مُعرّف العينة. قد يحتوي مُعرّف العينة على ما يصل إلى 20 حرفًا أبجديًا رقميًا. المُعرّف حساس لحالة الأحرف. افصل كل مُعرّف باستخدام شرطة. على سبيل المثال، Sample1-DQB1-022515. يجب أن تتطابق مُعرّفات العينة مع المُعرّفات المُحددة في قسم .BCLConvert_Data

متطلبات خط أنابيب الحمض النووي الريبوزي RNA لخادم DRAGEN

ما يلي هي حقول وأوصاف [DrogenRNA_Settings] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
SoftwareVersion	نعم	إصدار برنامج DRAGEN مثبت حاليًا على النظام. استخدم الأعداد الصحيحة الثلاثة جميعها المُضمنة في اسم الإصدار. على سبيل المثال، 3.5.7. يجب أن يُطابق إصدار البرنامج الإصدار المُحدد في قسم .BCLConvert_Settings
ReferenceGenomeDir	نعم	اسم الجينوم المرجعي. على سبيل المثال، hg38_noalt_with_decoy. استخدم اسم الجينوم المرجعي الموجود في .usr/local/illumina/genomes/ لاستخدام جينوم مرجعي مُخصص، راجع التعليمات عبر الإنترنت لتطبيق أداة الإنشاء المرجعية لأجهزة Illumina إصدار 1.0.0.
RnaGeneAnnotationFile	لا	يحتوي الملف على شروحات توضيحية لجينات الحمض النووي الريبوزي RNA. يُسمح بأحرف الأبجدية الرقمية فقط. إذا لم يتم توفيرها، يُستخدم ملف الشرح التوضيحي الافتراضي المُضمن في الجينوم المرجعي المُحدد.
MapAlignOutFormat	لا	تنسيق ملف الإخراج. القيم المسموح بها هي bam أو cram. إذا لم يتم تحديد قيمة، فسكنون القيمة الافتراضية "لا شيء".
KeepFastq	لا	لحفظ ملفات إخراج FASTQ، أدخل true (حقيقي). لحذف ملفات إخراج FASTQ، أدخل false (خطأ).

ما يلي هي حقول وأوصاف [DrogenRna_Data] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
Sample_ID	نعم	مُعرّف العينة. قد يحتوي مُعرّف العينة على ما يصل إلى 20 حرفًا أبجديًا رقميًا. المُعرّف حساس لحالة الأحرف. افصل كل مُعرّف باستخدام شرطة. على سبيل المثال، Sample1-DQB1-022515. يجب أن تتطابق مُعرّفات العينة مع المُعرّفات المُحددة في قسم .BCLConvert_Data

متطلبات أنابيب التخصيب لـ DRAGEN

ما يلي هي حقول وأوصاف [DraGenEnrichment_Settings] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
SoftwareVersion	نعم	إصدار برنامج DRAGEN مثبت حاليًا على النظام. استخدم الأعداد الصحيحة الثلاثة جميعها المُضمنة في اسم الإصدار. على سبيل المثال، 3.5.7. يجب أن يُطابق إصدار البرنامج الإصدار المُحدد في قسم .BCLConvert_Settings
ReferenceGenomeDir	نعم	اسم الجينوم المرجعي. على سبيل المثال، hg38_alt_aware. تقع الجينومات المرجعية في usr/local/illumina/genomes/ مرجعي مُخصص، راجع التعليمات عبر الإنترنت لتطبيق أداة الإنشاء المرجعية لأجهزة Illumina إصدار 1.0.0.
BedFile	نعم	ملف بصيغة bed الذي يتضمّن المناطق التي يجب استهدافها.
GermlineOrSomatic	نعم	لإجراء تحليل السلالة الجرثومية للتخصيب، أدخل germline (السلالة الجرثومية). لإجراء التحليل الجسدي للتخصيب، أدخل somatic (الجسدي).
KeepFastq	لا	لحفظ ملفات إخراج FASTQ، أدخل true (حقيقي). لحذف ملفات إخراج FASTQ، أدخل false (خطأ).
MapAlignOutFormat	لا	تتسيق ملف الإخراج. القيم المسموح بها هي bam أو cram. إذا لم يتم تحديد قيمة، فستكون القيمة الافتراضية "لا شيء".

ما يلي هي حقول وأوصاف [DraGenEnrichment_Data] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
Sample_ID	نعم	مُعرّف العينة. قد يحتوي مُعرّف العينة على ما يصل إلى 20 حرفًا أبجديًا رقميًا. المُعرّف حساس لحالة الأحرف. افصل كل مُعرّف باستخدام شرطة. على سبيل المثال، Sample1-DQB1-022515. يجب أن تتطابق مُعرّفات العينة مع المُعرّفات المُحددة في قسم .BCLConvert_Data

متطلبات أنابيب الحمض النووي الريبوزي RNA للخلية المفردة في خادم DRAGEN

ما يلي هي حقول وأوصاف [DragenSingleCellRNA_Settings] المتاحة. للاطلاع على المزيد من المعلومات حول توافق المجموعة التابعة لطرف آخر، راجع صفحة الدعم الخاصة بتوافق منتج منصة DRAGEN Bio-IT.

مجموعة مكتبة الخلية المفردة 1—5

تسري إعدادات ورقة العينة التالية على مجموعات إعداد المكتبة ذات البنية الجينية نفسها مثل مجموعات مكتبة الخلية المفردة 1—5 لخادم DRAGEN. استخدم صفحة الدعم الخاصة بتوافق منتج منصة DRAGEN Bio-IT لتأكيد البنية الجينية لمجموعتك.

الحقل	مطلوب	الوصف
SoftwareVersion	نعم	إصدار برنامج DRAGEN مُنَبِّت حاليًا على النظام. استخدم الأعداد الصحيحة الثلاثة جميعها المُضمنة في اسم الإصدار. على سبيل المثال، 3.5.7. يجب أن يُطابق إصدار البرنامج الإصدار المُحدد في قسم BCLConvert_Settings.
ReferenceGenomeDir	نعم	اسم الجينوم المرجعي. على سبيل المثال، hg38_alt_aware. تقع الجينومات المرجعية في <code>usr/local/illumina/genomes/</code> . لاستخدام جينوم مرجعي مُخصص، راجع التعليمات عبر الإنترنت لتطبيق أداة الإنشاء المرجعية لأجهزة Illumina إصدار 1.0.0.
RnaLibraryType	لا	أدخل إحدى القيم التالية: • SF—ممتدة للأمام. SF هي القيمة الافتراضية. • SR—ممتدة للخلف. • U—غير ممتدة.
RnaGeneAnnotationFile	لا	يحتوي الملف على شروحات توضيحية لجينات الحمض النووي الريبوزي RNA. يُسمح بأحرف الأبجدية الرقمية فقط. إذا لم يتم توفيرها، يُستخدم ملف الشرح التوضيحي الافتراضي المُضمن في الجينوم المرجعي المُحدد.
BarcodeRead	لا	الموقع داخل عملية تشغيل التسلسل لقراءة الرمز الشريطي، والتي تتضمن كلاً من الرمز الشريطي والمُعَرَّف الجزيئي الفريد UMI. قد تتضمن القيم Read1 أو Read2. القيمة الافتراضية هي Read1.
BarcodePosition	نعم	موقع القواعد التي تتوافق مع الرمز الشريطي في نطاق القيمة المُدخلة لـ BarcodeRead. تُفهرس مواقع القاعدة بدءاً من نقطة الصفر. أدخل قيمة BarcodePosition بالتنسيق التالي: <barcode end position>_0 على سبيل المثال، إذا كان الرمز الشريطي يتضمّن 16 قاعدة، فستكون القيمة 15_0.

الحقل	مطلوب	الوصف
UmiPosition	نعم	موقع القواعد التي تتوافق مع المُعرّف الجزيئي الفريد UMI في نطاق القيمة المُدخلة لـ BarcodeRead. أدخل قيمة UmiPosition بالتدقيق التالي: UMI start position>_<UMI end> <position على سبيل المثال، إذا كان المُعرّف الجزيئي الفريد UMI يتضمّن 10 قواعد ويتضمّن الرمز الشريطي 16، تكون القيمة 16_25.
BarcodeSequenceWhitelist	لا	اسم الملف الذي يتضمّن تسلسل الرمز الشريطي لحفظه بالقائمة البيضاء. يمكن أن يحتوي اسم الملف على أحرف أبجدية رقمية، وشرطات، وشرط سفلية ونقاط.
KeepFastq	لا	لحفظ ملفات إخراج FASTQ، أدخل true (حقيقي). لحذف ملفات إخراج FASTQ، أدخل false (خطأ).
MapAlignOutFormat	لا	تدقيق ملف الإخراج. القيم المسموح بها هي bam أو cram. إذا لم يتم تحديد قيمة، فستكون القيمة الافتراضية "لا شيء".

ما يلي هي حقول وأوصاف [DragenSingleCellRNA_Data] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
Sample_ID	نعم	مُعرّف العينة. قد يحتوي مُعرّف العينة على ما يصل إلى 20 حرفاً أبجدياً رقمياً. المُعرّف حساس لحالة الأحرف. افصل كل مُعرّف باستخدام شرطة. على سبيل المثال، -Sample1-DQB1-022515. يجب أن تتطابق مُعرّفات العينة مع المُعرّفات المُحددة في قسم BCLConvert_Data.

مجموعة مكتبة الخلية المفردة 6

تسري إعدادات ورقة العينة التالية على مجموعات إعداد المكتبة ذات البنية الجينية نفسها مثل مجموعات مكتبة الخلية المفردة لـ DRAGEN 1—DRAGEN 1.5. استخدم صفحة الدعم الخاصة بتوافق منتج منصة DRAGEN Bio-IT لتأكيد البنية الجينية لمجموعتك.

الحقل	مطلوب	الوصف
SoftwareVersion	نعم	إصدار برنامج DRAGEN مُنبت حالياً على النظام. استخدم الأعداد الصحيحة الثلاثة جميعها المُضمنة في اسم الإصدار. على سبيل المثال، 3.5.7. يجب أن يُطابق إصدار البرنامج الإصدار المُحدد في قسم BCLConvert_Settings.

الحقل	مطلوب	الوصف
ReferenceGenomeDir	نعم	اسم الجينوم المرجعي. على سبيل المثال، hg38_alt_aware. تقع الجينومات المرجعية في <code>usr/local/illumina/genomes/</code> . لاستخدام جينوم مرجعي مُخصص، راجع التعليمات عبر الإنترنت لتطبيق أداة الإنشاء المرجعية لأجهزة Illumina إصدار v1.0.0.
RnaLibraryType	لا	أدخل إحدى القيم التالية: <ul style="list-style-type: none"> SF—ممتدة للأمام. SR—ممتدة للخلف. U—غير ممتدة.
RnaGeneAnnotationFile	لا	يحتوي الملف على شروحات توضيحية لجينات الحمض النووي الريبوزي RNA. يُسمح بأحرف الأبجدية الرقمية فقط. إذا لم يتم توفيرها، يُستخدم ملف الشرح التوضيحي الافتراضي المُضمن في الجينوم المرجعي المُحدد.
BarcodeRead	لا	الموقع داخل عملية تشغيل التسلسل لقراءة الرمز الشريطي، والتي تتضمن كلا من الرمز الشريطي والمُعَرَف الجزئي الفريد UMI. قد تتضمن القيم Read1 أو Read2. القيمة الافتراضية هي Read1.
BarcodePosition	نعم	موقع القواعد التي تتوافق مع الرموز الشريطية في نطاق القيمة المُدخلة لـ BarcodeRead. تُفهرس مواقع القاعدة بدءاً من نقطة الصفر. أدخل قيمة BarcodePosition بالتدقيق التالي: <pre>first barcode end position>+<second>_0 barcode start position><second barcode end position>+<third barcode start position>_<third barcode end <position على سبيل المثال، سينتج عن البنية التالية القيمة 29+43_8+21_0_51:</pre> <ul style="list-style-type: none"> 9 قواعد في الرمز الشريطي الأول (8_0). 12 قاعدة بين الرمزين الشريطيين الأول والثاني. 9 قواعد في الرمز الشريطي الثاني (29_21). 13 قاعدة بين الرمزين الشريطيين الثاني والثالث. 9 قواعد في الرمز الشريطي الثالث (51_43).

الحقل	مطلوب	الوصف
UmiPosition	نعم	موقع القواعد التي تتوافق مع المُعرّف الجزيئي الفريد UMI في نطاق قيمة BarcodeRead المُحددة. أدخل السلسلة بالتنسيق التالي: UMI start position>_<UMI end> <position على سبيل المثال، إذا كان المُعرّف الجزيئي الفريد UMI يحتوي على 8 قواعد و عدد القواعد قبل المُعرّف الجزيئي الفريد UMI يصل إلى إجمالي 51، فإن القيمة هي 51_52.
BarcodeSequenceWhitelist	لا	اسم الملف الذي يتضمّن تسلسل الرمز الشريطي لحفظه بالقائمة البيضاء. يمكن أن يحتوي اسم الملف على أحرف أبجدية رقمية، وشرطات، وشرط سفلية ونقاط.
KeepFastq	لا	لحفظ ملفات إخراج FASTQ، أدخل true (حقيقي). لحذف ملفات إخراج FASTQ، أدخل false (خطأ).
MapAlignOutFormat	لا	تنسيق ملف الإخراج. القيم المسموح بها هي bam أو cram. إذا لم يتم تحديد قيمة، فستكون القيمة الافتراضية "لا شيء".

ما يلي هي حقول وأوصاف [DragenSingleCellRNA_Data] المتاحة.

الحقل	مطلوب	الوصف
Sample_ID	نعم	مُعرّف العينة. قد يحتوي مُعرّف العينة على ما يصل إلى 20 حرفاً أبجدياً رقمياً. المُعرّف حساس لحالة الأحرف. افصل كل مُعرّف باستخدام شرطة. على سبيل المثال، -Sample1-DQB1-022515. يجب أن تتطابق مُعرّفات العينة مع المُعرّفات المُحددة في قسم BCLConvert_Data.

تسلسل الدورة الذاكرة

يصف هذا القسم كيفية استخدام تسلسل الدورة الذاكرة في الصيغة.

يُستخدم تسلسل الدورة الذاكرة لإكمال الخطوات الكيميائية لدورة التسلسل فقط. تحقق من صفحة المنتجات المتوافقة لمجموعة إعداد المكتبة الخاصة بك على موقع دعم Illumina لمعرفة ما إذا كان يلزم إجراء تسلسل الدورة الذاكرة.

استخدم الخطوات التالية لتسلسل الدورة الذاكرة.

تعديل ملف الصيغة

1. قم بتنزيل ملف الصيغة XML من موقع دعم Illumina.

2. عدّل ملف الصيغة XML.

a. عرّف قسم البروتوكول الملائم حسب تهيئة القراءة وتسلسل المؤشر لديك. يوجد ستة بروتوكولات مختلفة محتملة لكل صيغة مُخصصة يُمكن تعديلها.

على سبيل المثال، بروتوكول القراءة المفردة رقم 1 مع تهيئة التسلسل من دون فهرس سيكون <Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index">.

b. قبل </"ReadRef ReadName="Read 1"> و</"ReadRef ReadName="Read 2">، أدخل خطوة الدورة التالية في خط جديد.

</ "DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base">

c. أدخل خطوة الدورة الداكنة في سطر جديد لكل دورة داكنة.

3. احفظ ملف الصيغة XML.

ما يلي هو صيغة عينة مع دورة داكنة:

```
< "Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index">
  ChemistryRef ChemistryName="Start" />>
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
    <ChemistryRef ChemistryName="BIX Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
    <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Transfer" />
    <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
<Obdd ChemistryName="Library Denaturation and Dilution" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
    <Obcg ChemistryName="Cluster Generation" />
      <ChemistryRef ChemistryName="SBS Prime" />
      <ChemistryRef ChemistryName="Read Prep" />
<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />
  <ReadRef ReadName="Read 1" />
</ "<SetThermalZoneTemp Enable="false" Zone="FlowCellHeater
  <Protocol/>
  < "Protocol Name="1 Read 1 Index" ProtocolType="1Read1Index">
    ChemistryRef ChemistryName="Start" />>
    </ "<ChemistryRef ChemistryName="2min 60C Vacuum Hold
      ...
```

إرفاق الصيغة بعملية التشغيل

4. في إعداد عملية التشغيل في برنامج التحكم، حدد **Choose** (اختيار) أسفل الصيغة المخصصة.

5. انتقل إلى ملف صيغة XML المُحدَّث.

6. حدد **Open** (فتح).

7. غُد إلى بدء عملية تشغيل التسلسل على الصفحة 38.

الفهرس

الأجزاء المكوّنة للصيغة 5	%
الأخطاء 65,5	
الاحتمالية 48-49	48 PF%
الرسائل 63	
الاستدعاء القاعدي 5	B
الإعداد لأول مرة 66	
الإعداد لأول مرة 60	44 bcl2fastq2
الإعدادات الافتراضية للمصنع 66	
الإغلاق 65	C
البرنامج	
التثبيت 58	44 CE
خفض درجة الإصدار 66	
التحديثات التلقائية 58	P
التحذيرات 65,5	
التحليل	23 PhiX
الطرق 8	المحاذاة 44
التحليل القائم على السحابة 1	22 PhiX Control v3
التحليل المحلي 1	
التسلسل ثنائي القناة 47	R
التسمية 5	
اسم الجهاز 16	50 RunInfo.xml
التصوير 44-45	
التعليمات، الفنية 83	W
التنبيهات 58	
التهيئة 65	65 Windows
الفاشل 65	
الرموز 5	
الأشرايح 44	
الصور 44	اتصال الإنترنت 11
الصيغ 58	إدارة العملية 58
الضمان 23	أرقام الدورات 26
القرص الصلب 58	أرقام الكتلوج 22
القطاعات 45	اسم جهاز الكمبيوتر 5
القناة الحمراء 47	اشتراك الشركة 11
القناة الخضراء 47	إعادة التشغيل 66
الكاميرات 45	إعداد التشغيل
اللبادات 23	أمثلة 26
اللقب 16	إعدادات الصوت 16
الماوس 4	إعدادات الملف الصوتي 16
المجال الخاص 11	الأبواب
المجالات 11	إغلاق 41
المحرك D 58	الاتصالات المفقودة 65

<p>ق</p> <p>قراءة ذات نهاية مقترنة 41</p> <p>قراءة مفردة 41</p> <p>قطع الغيار 60</p> <p>قيم الكثافة 46</p> <p>ك</p> <p>كيل إيثرنت 4</p> <p>كثافات العنقود 46</p> <p>ل</p> <p>لا توجد استدعاءات 47</p> <p>لوحات المفاتيح 4</p> <p>م</p> <p>مُثبِت مجموعة البرامج 58</p> <p>مجلد الإخراج 58</p> <p>مجلد الإخراج 41</p> <p>مجلد الإخراج الافتراضي 41</p> <p>مجلد عملية التشغيل 58</p> <p>مجمعات النانو 46</p> <p>مجموعات 22</p> <p>أرقام الكتلوج 23</p> <p>مجموعة اختبار 23</p> <p>مجموعة البرامج 1, 5</p> <p>محاذاة المواصفات 65</p> <p>محرك الحساب 44</p> <p>محرك القرص الثابت 6</p> <p>محلول إعادة التعليق المخفف 22</p> <p>مدير التشغيل المحلي 5</p> <p>مرشحات الهواء</p> <p>قطع الغيار 23</p> <p>مُرشحات الهواء</p> <p>الموقع 60</p> <p>مركز التسلسل BaseSpace 1</p> <p>المستندات 11</p> <p>مركز تسلسل BaseSpace</p> <p>الإعدادات 11</p> <p>مساحة القرص 6, 58</p>	<p>ز</p> <p>زر الطاقة 3, 65</p> <p>س</p> <p>سجلات الخطأ 44</p> <p>سلك الطاقة 4</p> <p>ش</p> <p>شاشة مراقبة 3</p> <p>شريط الحالة 3</p> <p>شريط الضوء 3</p> <p>ص</p> <p>صفحات الدعم 58</p> <p>صور مصغرة 50</p> <p>صينية التقطير</p> <p>الليبادات 23</p> <p>ط</p> <p>طاقة التيار المتردد</p> <p>مدخل 4</p> <p>طول القراءة 26</p> <p>ع</p> <p>عارض تحليل التسلسل 44, 46</p> <p>عدم وجود استدعاءات 46</p> <p>عمليات التشغيل</p> <p>مقاييس 44</p> <p>عنوان IP 5</p> <p>ف</p> <p>فحوصات النظام 63</p> <p>فلتر التنقية 48</p> <p>فلتر العناقيد 48</p>
---	--

- مساوات اصطلاح التسمية العالمي ((UNC 41
معلومات التشغيل
التعديل 41
مفتاح الفصل الكهربائي 4, 65
مكان الخادم 11
ملفات CBCL 48
ملفات InterOp 44, 50
ملفات الاستدعاء الأساسي 44, 50
ملفات الاستدعاء القاعدية 8
ملفات الاستدعاء القاعدية ((BCL 6
ملفات السجل 44
ملفات الفلتر 44, 50
مناديل المبيض 23
منافذ USB 4
منفذ إيثرنت 4
مواصفات الثلجة 23
مواصفات حجرة التجميد 23
مواقع العنقود 44, 50

ن

- نظام التشغيل 65

المساعدة الفنية

للمساعدة الفنية، اتصل بمسؤولي الدعم الفني لدى شركة Illumina.

www.illumina.com

الموقع الإلكتروني:

techsupport@illumina.com

عنوان البريد الإلكتروني:

أرقام هواتف مسؤولي الدعم الفني لدى شركة Illumina

المنطقة	الرقم المجاني	دولياً
إسبانيا	143 300 800 34+	417 899 911 34+
أستراليا	688 775 1800 61+	
الدنمارك	83 01 82 80 45+	56 11 87 89 45+
السويد	00883979 2 46+	50619671 8 46+
الصين		5835 066 400 86+
الفلبين	180016510798 63+	
ألمانيا	4940 101 800 49+	5677 3803 89 49+
المملكة المتحدة	6019 012 800 44+	7197 7305 20 44+
النرويج	836 16 800 47+	93 96 93 21 47+
النمسا	+43 006249 800	9286540 1 43+
الهند	8006500375 91+	
الولايات المتحدة	4566 809 800 1+	4566 202 858 1+
اليابان	5011 111 0800 81+	
إندونيسيا		0078036510048
أيرلندا	936608 1800 353+	0506 695 353 1+
إيطاليا	+39 985513 800	+39 236003759
بلجيكا	160 77 800 32+	73 29 400 3 32+
تايوان	304 011 1800 66+	
تايوان، الصين	06651752 8 886+	
سنغافورة	745 5792 800 1	
سويسرا	442 200 800 41+	00 00 580 56 41+
فرنسا	93 21 10 05 8 33+	46 04 77 70 1 33+
فنلندا	363 918 800 358+	0110 7479 9 358+

المنطقة	الرقم المجاني	دولياً
فيتنام	+84 1206 5263	
كندا	+1 800 809 4566	
كوريا الجنوبية	+82 80 234 5300	
ماليزيا	+60 1800 80 6789	
نيوزيلندا	+64 800 451 650	
هولندا	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
هونغ كونج، الصين	+852 800 960 230	

ورق بيانات السلامة (SDS)—متوفرة على موقع شركة Illumina | support.illumina.com/sds.html.

مستندات المنتج—متوفرة للتنزيل من خلال support.illumina.com.



Illumina

Illumina Way 5200

.San Diego, California 92122 U.S.A

(ILMN 4566.1.800.809+

1.858.202.4566+ (خارج أمريكا الشمالية)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

illumina®

للاستخدام في المجال البحثي فقط. غير مُخصص للاستخدام في الإجراءات التشخيصية.
حقوق الطبع والنشر © لعام 2020 محفوظة لصالح شركة Illumina, Inc. جميع الحقوق محفوظة.