illumina®

NextSeq® 550 시스템 안내서

연구 전용. 진단 절차에는 사용할 수 없음.

ILLUMINA 소유권
카탈로그 번호 SY-415-9002DOC
자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR
2016년 3월

맞춤 프로토콜 선택기로 간단한 전체 작업흐름 안내서 사용자 지정
support.illumina.com/custom-protocol-selector.html

이 문서와 이 문서에 수록된 내용은 Illumina, Inc. 및 그 자회사("Illumina")의 재산이며 여기에 설명된 제품의 사용과 관련하여 전적으로 계약에 보증된 고객의 사용만을 위한 것이며 그 외의 목적으로는 사용할 수 없습니다. 이 문서와 이 문서에 수록된 내용은 다른 목적으로 사용되거나 배포될 수 없으며, Illumina로부터 사전 서면 승인 없이는 어떤 방식으로도 전달, 공개 또는 복제될 수 없습니다. Illumina에서는 이 문서를 통해 특허, 상표, 저작권 또는 관습법적 권한 또는 타사의 유사 권한에 따라 어떠한 라이선스도 양도하지 않습니다.

이 문서의 지침은 여기에 설명된 제품의 올바르고 안전한 사용을 위해 적절한 교육을 받은 자격을 갖춘 사람을 통해서 엄격하고 정확하게 준수되어야 합니다. 해당 제품을 사용하기에 앞서 이 문서의 모든 내용을 철저히 읽고 숙지해야 합니다.

여기에 포함된 모든 지침을 완전히 읽거나 정확하게 따르지 않을 경우 제품 손상, 사용자나 다른 사람의 인체 부상, 그리고 다른 재산에 대한 손해가 발생할 수 있습니다.

Illumina는 여기에 설명된 제품(그 부품이나 소프트웨어 포함)을 잘못 사용하여 발생하는 일에 대해 어떠한 책임도 지지 않습니다.

© 2016 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, **24sure**, **BaseSpace**, **BeadArray**, **BlueFish**, **BlueFuse**, **BlueGnome**, **cBot**, **CSPro**, **CytoChip**, **DesignStudio**, **Epicentre**, **ForenSeq**, **Genetic Energy**, **GenomeStudio**, **GoldenGate**, **HiScan**, **HiSeq**, **HiSeq X**, **Infinium**, **iScan**, **iSelect**, **MiniSeq**, **MiSeq**, **MiSeqDx**, **MiSeq FGx**, **NeoPrep**, **NextBio**, **Nextera**, **NextSeq**, **Powered by Illumina**, **SureMDA**, **TruGenome**, **TruSeq**, **TruSight**, **Understand Your Genome**, **UYG**, **VeraCode**, **verifi**, **VeriSeq**, 호박빛 주황색 및 하단 흐름 디자인은 미국 및/또는 다른 국가에서 Illumina, Inc. 및/또는 해당 자회사의 상표입니다. 여기에 포함된 그 밖의 모든 이름, 로고 및 기타 상표는 해당 소유자의 재산입니다.

개정 내역

문서	날짜	변경 내용 설명
자료 번호 20006831 문서 번호 15069765 v02	2016년 3월	인덱싱 고려사항이라는 제목의 섹션이 추가되었습니다. 플로우 셀 검사 단계가 제거되었습니다. 시약 카트리지에 라이브러리를 장착하는 단계에 장착 용량과 농도가 명시되었습니다.
자료 번호 20001843 문서 번호 15069765 v01	2015년 10월	권장 공급업체의 NaOCl에 해당하는 제품은 일반 실험실용 동급 제품이라고 명시되었습니다. 연례 예방 관리 서비스에 대한 권장사항이 추가되었습니다. 개요 및 시작 장의 정보가 재편되었습니다. 시스템 설정을 사용자 지정하기 위한 지침이 추가되었습니다. 문제 해결 장에서 Live Help(실시간 도움말) 지침이 제거되었습니다. 이 기능은 제어 소프트웨어에서 제거되었습니다.
15069765 B	2015년 5월	시약 카트리지의 예약된 저장소에 대한 설명이 수정되었습니다.
15069765 A	2015년 5월	최초 릴리스

자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR

목차

개정 내역 iii
목차 v

1장 개요 1

소개 2
추가 리소스 3
기기 컴포넌트 4
시퀀싱 소모품 개요 7

2장 시작 11

기기 시작 12
시스템 설정 사용자 지정 13
실행 설정 사용자 지정 14
사용자 공급 소모품 및 장비 15

3장 시퀀싱 17

소개 18
시퀀싱 작업흐름 19
시약 카트리지 준비 20
플로우 셀 준비 21
시퀀싱용 라이브러리 준비 22
시퀀싱 실행 설정 23
실행 진행률 모니터링 29
자동 실행 후 세척 31

4장 스캐닝 33

소개 34
스캔 작업흐름 35
DMAP 폴더 다운로드 36
어댑터에 BeadChip 장착 37
스캔 설정 38
스캔 진행률 모니터링 40

5장 관리 41

소개 42
수동 세척 수행 43
소프트웨어 업데이트 46
기기 종료 48

부록 A 문제 해결 49

소개 50
문제 해결 파일 51
자동 검사 오류 해결 53
폐시약 용기가 가득 참 55
재혼성화 작업흐름 56
BeadChip 및 스캔 오류 58
Custom 레시피 및 레시피 폴더 60
시스템 검사 61
RAID 오류 메시지 63
시스템 설정 구성 64

부록 B 실시간 분석 67
실시간 분석 개요 68
실시간 분석 작업흐름 70
부록 C 아웃풋 파일 및 폴더 73
시퀀싱 출력 파일 74
아웃풋 폴더 구조 시퀀싱 78
스캐닝 아웃풋 파일 79
스캐닝 아웃풋 폴더 구조 80
인덱스 81
기술 지원 85

개요

1장

소개 2
추가 리소스 3
기기 컴포넌트 4
시퀀싱 소모품 개요 7

소개

Illumina® NextSeq® 550 시스템은 고처리량 시퀀싱과 배열 스캐닝 사이를 원활하게 전환해 주는 단 하나의 솔루션입니다.

시퀀싱 기능

- **고처리량 시퀀싱**—NextSeq 550을 사용하여 엑솜, 전체 게놈, 전사체 시퀀싱을 수행하고 TruSeq® 및 Nextera® 라이브러리를 지원할 수 있습니다.
- **플로우 셀 유형**—플로우 셀은 높은 아웃풋 및 중간 아웃풋용 구성에서 사용할 수 있습니다. 각 플로우 셀 유형은 호환되는 사전 충전 시약 카트리지와 함께 키트로 제공됩니다.
- **RTA(실시간 분석)**—통합 분석 소프트웨어가 이미지 분석 및 base calls 등 기기 내 데이터 분석을 수행합니다. NextSeq는 차별화된 중요한 구성 및 기능을 갖춘 RTA v2라는 RTA 구현을 사용합니다. 자세한 내용은 67페이지의 *실시간 분석*을 참조하십시오.
- **BaseSpace® 통합**—데이터 분석, 저장 및 협업을 위한 Illumina 유전체학 컴퓨팅 환경인 BaseSpace와 시퀀싱 작업흐름이 통합되었습니다. BaseSpace용으로 구성된 기기의 경우 BaseSpace Prep(BaseSpace 준비) 탭에서 라이브러리 정보와 실행 매개변수를 지정합니다. BaseSpace에 설정된 실행은 실행을 설정하는 동안 기기 인터페이스에 표시됩니다. 실행이 진행되면 아웃풋 파일이 실시간으로 BaseSpace 또는 BaseSpace Onsite에 스트리밍됩니다.

배열 스캐닝 기능

- **제어 소프트웨어의 통합 배열 스캐닝**—NextSeq 550을 사용하면 동일한 제어 소프트웨어로 동일한 기기에서 배열 스캔과 고처리량 시퀀싱 사이를 전환할 수 있습니다.
- **확장 이미지 생성 기능**—NextSeq 550의 이미지 생성 시스템에는 BeadChip 스캐닝에 적합하도록 표면적이 더 큰 이미지를 생성할 수 있는 소프트웨어 및 대 수정 기능이 포함되어 있습니다.
- **BeadChip 유형**—호환되는 BeadChip 유형으로는 CytoSNP–12, CytoSNP–850K, Karyomap–12가 있습니다.
- **BeadChip 어댑터**—재사용 가능한 BeadChip 어댑터로 BeadChip을 기기에 쉽게 장착할 수 있습니다.
- **데이터 분석**—BlueFuse® Multi 소프트웨어를 사용하여 배열 데이터를 분석할 수 있습니다.

추가 리소스

다음 설명서는 Illumina 웹사이트에서 다운로드할 수 있습니다.

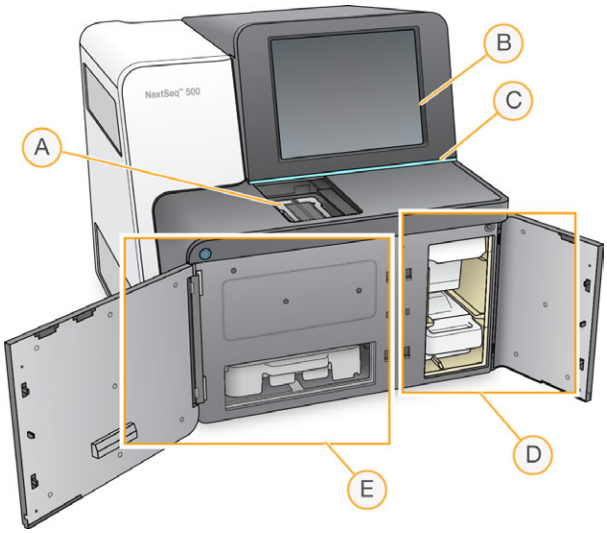
리소스	설명
NextSeq 시스템 현장 준비 안내서 (문서 번호 15045113)	실험실 공간, 전기적 요건 및 환경적 고려사항에 대한 내용을 담고 있습니다.
NextSeq 시스템 안전 및 규정 준수 안내서(문서 번호 15046564)	작업 안전 고려사항, 규정 준수 설명서, 기기 라벨 지정에 대한 내용을 담고 있습니다.
RFID 리더 – 모델 번호 TR–001–44 사용자 안내서(문서 번호 15041950)	기기의 RFID 리더, 규정 준수 인증 및 안전 고려사항에 대한 내용을 담고 있습니다.
NextSeq 시스템용 라이브러리 Denaturation 및 희석(문서 번호 15048776)	시퀀싱 실행 시 준비된 라이브러리를 Denaturation 및 희석하고 PhiX 컨트롤(선택사항)을 준비하기 위한 지침을 담고 있습니다. 이 단계는 대부분의 라이브러리 유형에 적용됩니다.
NextSeq Custom 프라이머 안내서(문서 번호 15057456)	Illumina 시퀀싱 프라이머 대신 Custom 시퀀싱 프라이머를 이용하는 방법에 대한 내용을 담고 있습니다.
BaseSpace 도움말 (help.basespace.illumina.com)	BaseSpace® 사용 정보와 제공되는 분석 옵션에 대한 내용을 담고 있습니다.

설명서, 소프트웨어 다운로드, 온라인 교육 및 자주 묻는 질문과 답변(FAQ) 등의 정보를 이용하려면 Illumina 웹사이트의 NextSeq 550 지원 페이지를 방문하시기 바랍니다.

기기 컴포넌트

NextSeq 550 시스템은 터치 스크린 모니터와 상태 표시줄, 세 가지 부분으로 구성됩니다.

그림 1 기기 컴포넌트



A **이미지 생성 부분**—시퀀싱용 플로우 셀 또는 스캐닝용 BeadChip 어댑터가 들어 있습니다.
B **터치 스크린 모니터**—제어 소프트웨어 인터페이스를 사용하여 기기 구성과 설정을 활성화합니다.
C **상태 표시줄**—처리 중(파란색), 기기를 살펴보아야 함(주황색), 시퀀싱 준비 완료(녹색), 다음 24시간 내에 세척 예정(노란색)으로 기기 상태를 나타냅니다.
D **완충제 부분**—완충제 카트리지와 폐시약 용기가 들어 있습니다.
E **시약 부분**—시약 카트리지가 들어 있습니다.

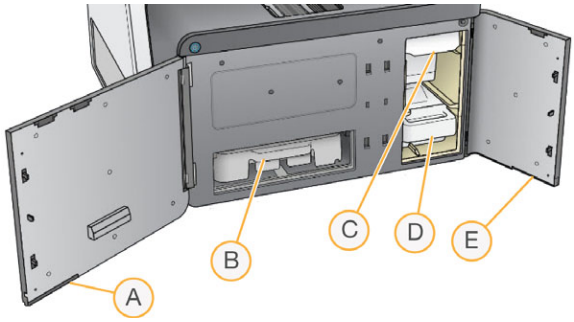
이미지 생성 부분

이미지 생성 부분에 있는 대에는 시퀀싱용 플로우 셀 또는 스캐닝용 BeadChip 어댑터를 배치하기 위한 배열 핀 3개가 포함되어 있습니다. 플로우 셀 또는 BeadChip 어댑터를 장착하면 이미지 생성 부분 도어가 자동으로 닫히고 컴포넌트가 제자리로 이동합니다.

시약 및 완충제 부분

NextSeq 550에서 시퀀싱 실행을 설정하려면 시약 부분과 완충제 부분에 접근하여 실행 소모품을 장착하고 폐시약 용기를 비워야 합니다.

그림 2 시약 및 완충제 부분



A **시약 부분 도어**—도어 오른쪽 하단 모서리의 걸쇠를 사용하여 시약 부분을 에워쌉니다. 시약 부분에는 시약 카트리지가 들어 있습니다. Sipper와 플루이딕 시스템을 통해 시약이 펌프되고 나서 플로우 셀에 펌프됩니다.
B **시약 카트리지**—사전 충전된 일회용 소모품입니다.
C **완충제 카트리지**—사전 충전된 일회용 소모품입니다.
D **폐시약 용기**—각 실행 후 폐기용 폐시약을 수집합니다.
E **완충제 부분 도어**—도어 왼쪽 하단 모서리의 걸쇠를 사용하여 완충제 부분을 에워쌉니다.

NextSeq 소프트웨어

기기 소프트웨어에는 시퀀싱 실행 또는 배열 스캐닝을 수행하는 통합 애플리케이션이 포함됩니다.

- **NCS(NextSeq 제어 소프트웨어)**—제어 소프트웨어는 시퀀싱 실행 또는 배열 스캐닝 설정 단계를 안내합니다.
- **RTA(실시간 분석) 소프트웨어**—시퀀싱 실행 시 RTA는 실행 중에 이미지 분석 및 base calls를 수행합니다. NextSeq 550은 이전 버전과 차별화된 중요한 구성 및 기능을 갖춘 RTA v2를 사용합니다. 자세한 내용은 67페이지의 *실시간 분석*을 참조하십시오.

상태 아이콘

제어 소프트웨어 인터페이스 화면의 상단 오른쪽 모서리에 있는 상태 아이콘은 실행 설정 또는 실행 중에 나타나는 상태 변경을 신호로 알립니다.

상태 아이콘	상태 이름	설명
	상태 양호	시스템이 정상입니다.
	처리 중	시스템이 처리 중입니다.
	경고	경고가 발생했습니다. 경고는 실행을 중지시키지 않으며 진행하기 전에 조치를 취할 필요가 없습니다.
	오류	오류가 발생했습니다. 오류가 발생하면 실행을 진행하기 전에 조치를 취해야 합니다.

상태가 변경되면 이를 알리기 위해 아이콘이 깜박입니다. 아이콘을 선택하면 상태에 대한 설명을 볼 수 있습니다. **Acknowledge(확인)**를 선택하여 메시지를 수락하고 **Close(닫기)**를 선택하여 대화상자를 닫습니다.

전원 버튼

NextSeq 전면의 전원 버튼으로 기기와 기기 컴퓨터의 전원을 켤 수 있습니다. 기기의 전원 상태에 따라 전원 버튼은 다음과 같은 동작을 수행합니다.

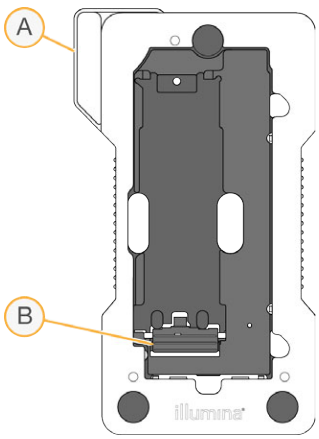
전원 상태	동작
기기의 전원이 꺼짐	버튼을 짧게 누르면 전원이 켜집니다.
기기의 전원이 켜짐	버튼을 짧게 누르면 전원이 꺼집니다. 정상적인 기기 종료를 확인하는 대화상자가 화면에 표시됩니다.
기기의 전원이 켜짐	전원 버튼을 10초간 누르고 있으면 기기와 기기 컴퓨터가 강제 종료됩니다. 기기가 응답하지 않는 경우에만 이 방법으로 기기의 전원을 끕니다.

참고
시퀀싱 실행 중에 기기의 전원을 끄면 실행이 즉시 종료됩니다. 실행 종료는 최종 명령입니다. 실행 소모품은 다시 사용할 수 없으며, 실행의 시퀀싱 데이터는 저장되지 않습니다.

재사용 가능 BeadChip 어댑터 개요

재사용 가능 BeadChip 어댑터는 스캐닝 중에 BeadChip을 수용합니다. BeadChip은 고정 클립으로 어댑터의 오목한 선반에 고정됩니다. 그러면 BeadChip 어댑터가 이미지 생성 부분의 대에 장착됩니다.

그림 3 재사용 가능 BeadChip 어댑터



A BeadChip 어댑터
B 고정 클립

시퀀싱 소모품 개요

NextSeq 550에서 시퀀싱 실행을 수행하려면 일회용 NextSeq 500/550 키트가 필요합니다. 각 키트에는 시퀀싱 실행에 필요한 시약과 플로우 셀 1개가 들어 있습니다.

플로우 셀과 시약 카트리지, 완충제 카트리지는 정확한 소모품 추적 기능과 호환성을 지원하기 위해 RFID(무선 주파수 식별)를 사용합니다.

키트 호환성 라벨 지정

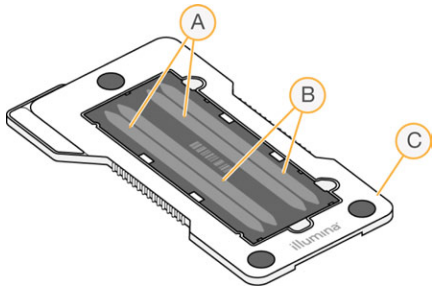
키트 컴포넌트는 플로우 셀과 시약 카트리지 간의 호환성을 표시하기 위해 색상으로 구분된 표시기로 라벨이 지정되어 있습니다. 항상 호환되는 시약 카트리지와 플로우 셀을 사용하십시오. 완충제 카트리지가 일반적으로 사용됩니다.

각 플로우 셀과 시약 카트리지에는 **High**(높음) 또는 **Mid**(중간)라는 라벨이 붙어 있습니다. 실행용 소모품을 준비할 때 항상 라벨을 확인하십시오.

키트 유형	라벨에 표시된 내용
High Output 키트 컴포넌트	HIGH
Mid Output 키트 컴포넌트	MID

플로우 셀 개요

그림 4 플로우 셀 카트리지



A 레인 쌍 A—레인 1과 3
B 레인 쌍 B—레인 2와 4
C 플로우 셀 카트리지 프레임

플로우 셀은 유리 기반 기질로, 클러스터가 생성되고 시퀀싱 반응이 일어납니다. 플로우 셀은 플로우 셀 카트리지에 들어 있습니다.

플로우 셀에는 쌍으로 이미지가 생성되는 레인 4개가 들어 있습니다.

- 레인 1과 3(레인 쌍 A)은 동시에 이미지가 생성됩니다.
- 레인 2와 4(레인 쌍 B)는 레인 쌍 A의 이미지 생성이 완료되면 이미지가 생성됩니다.

플로우 셀에는 레인 4개가 들어 있지만 하나의 라이브러리 또는 일련의 라이브러리 풀만 플로우 셀에서 시퀀싱됩니다. 라이브러리는 단일 저장소의 시약 카트리지에 장착되며 플로우 셀의 모든 레인 4개에 자동 전달됩니다.

각 레인의 이미지는 타일이라는 작은 이미지 생성 구역에 생성됩니다. 자세한 내용은 75페이지의 *플로우 셀 타일*을 참조하십시오.

시약 카트리지 개요

시약 카트리지는 클러스터링 및 시퀀싱 시약으로 미리 채워져 있으며 알루미늄 포장지에 싸인 저장소와 RFID 추적으로 구성된 일회용 소모품입니다.

그림 5 시약 카트리지

시약 카트리지에는 준비된 라이브러리를 장착할 수 있는 지정된 저장소가 포함되어 있습니다. 실행이 시작되면 라이브러리가 저장소에서 플로우 셀로 자동 전달됩니다.

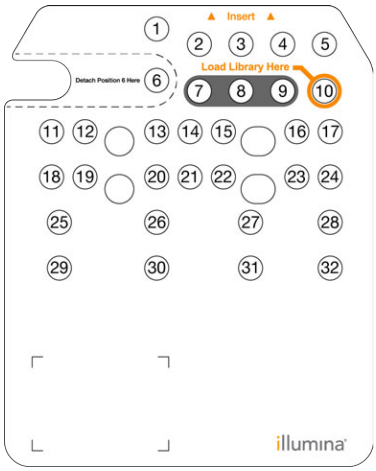
여러 저장소가 자동 실행 후 세척용으로 예약됩니다. 세척액은 완충제 카트리지에서 예약된 저장소로 펌프되어 시스템을 통과한 다음 폐시약 용기로 펌프됩니다.

경고

이 시약에는 생식계에 영향을 미칠 수 있는 독성 지방족 아마이드인 포름아마이드가 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 현지 정부 안전 표준에 따라 폐기하시기 바랍니다. 환경, 건강 및 안전 정보는 support.illumina.com/sds.html에서 본 키트에 관한 SDS를 참조하십시오.

준비된 저장소

그림 6 숫자가 매겨진 저장소



위치	설명
7, 8, 9	Custom 프라이머(선택사항)용으로 예약됨
10	**라이브러리 장착**

Custom 프라이머에 대한 내용은 *NextSeq Custom 프라이머 안내서(문서 번호 15057456)*를 참조하십시오.

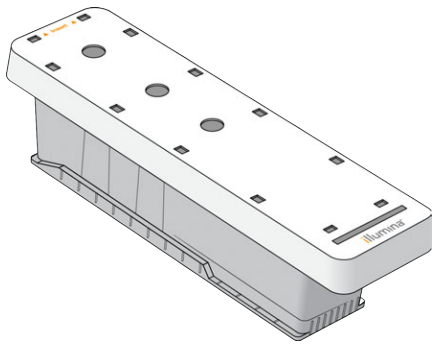
위치 6번에서 제거 가능한 저장소

사전 충전 시약 카트리지에는 포름아마이드가 함유된 denaturation 시약이 위치 6번에 들어 있습니다. 시퀀싱 실행 후 사용되지 않는 시약을 안전하게 폐기할 수 있도록 위치 6번의 저장소를 꺼낼 수 있습니다. 자세한 내용은 25페이지의 *위치 6번에서 사용한 저장소 제거*를 참조하십시오.

완충제 카트리지 개요

완충제 카트리지는 완충제와 세척액으로 사전 충전된 저장소 세 개로 구성되어 있는 일회용 소모품입니다. 완충제 카트리지의 내용물은 하나의 플로우 셀을 시퀀싱하기에 충분합니다.

그림 7 완충제 카트리지



자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR

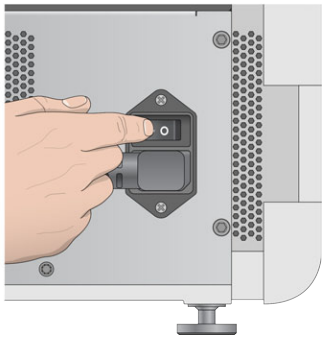
시작

기기 시작 12
시스템 설정 사용자 지정 13
실행 설정 사용자 지정 14
사용자 공급 소모품 및 장비 15

기기 시작

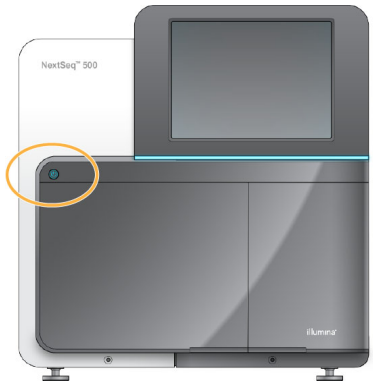
전원 스위치를 I(켜짐) 위치로 전환합니다.

그림 8 기기 뒷면의 전원 스위치



1 시약 부분 위에 있는 전원 버튼을 누릅니다. 전원 버튼을 누르면 기기의 전원이 켜지고 통합 기기 컴퓨터 및 소프트웨어가 시작됩니다.

그림 9 기기 전면의 전원 버튼



2 운영 체제의 로드가 완료될 때까지 기다립니다.
NCS(NextSeq 제어 소프트웨어)가 시작되고 시스템이 자동으로 초기화됩니다. 초기화 단계가 완료되면 Home(홈) 화면이 열립니다.

3 로그인 자격 증명을 입력하도록 시스템이 구성된 경우 다음과 같은 기본값 사용자 이름과 암호를 사용하여 로그인합니다.
- 사용자 이름: **sbsuser**
- 암호: **sbs123**

그렇지 않으면 사이트에 지정된 자격 증명을 사용하여 로그인합니다.

시스템 설정 사용자 지정

제어 소프트웨어에는 시작 옵션, 입력 기본 설정, 오디오 설정 및 기기 이름에 대한 사용자 지정 가능 시스템 설정이 포함되어 있습니다.

시작 옵션 선택

1. Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Customization**(시스템 사용자 지정)을 선택합니다.
2. 다음과 같은 시작 옵션 중에서 선택합니다.
   - 제어 소프트웨어 인터페이스를 전체 화면으로 사용하려면 **Kiosk Mode**(키오스크 모드)를 선택합니다.
   - 기기 컴퓨터의 Windows에 액세스하도록 허용하려면 **Windows Mode**(Windows 모드)를 선택합니다. 이 모드에서는 버튼 위치와 같은 소프트웨어 인터페이스와의 상호 작용이 변경될 수 있습니다.
3. **Save**(저장)를 선택하여 설정을 저장하고 다음 화면으로 이동합니다.

입력 옵션 및 오디오 표시기 설정

1. Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Customization**(시스템 사용자 지정)을 선택합니다.
2. 기기에 입력하기 위해 화상 키보드를 활성화하려면 **Use on-screen keyboard**(화상 키보드 사용) 체크박스를 선택합니다.
3. 다음과 같은 경우에 오디오 표시기를 켜려면 **Play audio**(오디오 재생) 체크박스를 선택합니다.
   - 기기를 초기화할 때
   - 실행이 시작될 때
   - 특정 오류가 발생할 때
   - 사용자 상호 작용이 필요할 때
   - 실행이 완료되었을 때
4. **Save**(저장)를 선택하여 설정을 저장하고 다음 화면으로 이동합니다.

기기 ID 사용자 지정

1. Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Customization**(시스템 사용자 지정)을 선택합니다.
2. 기기의 기본 설정 이미지를 지정하려면 **Browse**(찾아보기)를 선택하고 해당 이미지를 지정합니다.
3. Nick Name(별칭) 필드에 기기의 기본 설정 이름을 입력합니다.
4. **Save**(저장)를 선택하여 설정을 저장하고 다음 화면으로 이동합니다.
   이미지와 이름이 각 화면의 왼쪽 상단 모서리에 표시됩니다.

실행 설정 사용자 지정

제어 소프트웨어에는 실행 설정 기본 설정과 사용하지 않은 시약 제거에 필요한 사용자 지정 가능 설정이 포함되어 있습니다.

실행 설정 옵션 지정

1 Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Customization**(시스템 사용자 지정)을 선택합니다.

2 **Save**(저장)를 선택하여 Run Customization(실행 사용자 지정)으로 이동합니다.

3 **Use Advanced Load Consumables**(고급 소모품 장착 사용) 체크박스를 선택하여 한 화면에서 모든 실행 소모품을 장착할 수 있는 옵션을 활성화합니다.

4 자동 검사를 성공적으로 완료한 후에 시퀀싱 또는 스캐닝을 자동으로 시작하려면 **Skip Pre-Run Check Confirmation**(실행 전 검사 확인 건너뛰기) 체크박스를 선택합니다.

5 **Save**(저장)를 선택하여 설정을 저장하고 화면을 종료합니다.

자동 제거 옵션 설정

1 Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Customization**(시스템 사용자 지정)을 선택합니다.

2 **Save**(저장)를 선택하여 Run Customization(실행 사용자 지정)으로 이동합니다.

3 **Purge Consumables at End of Run**(실행 종료 시 소모품 제거) 체크박스를 선택하여 각 실행 후 사용되지 않은 시약을 시약 카트리지에서 폐시약 용기로 자동으로 옮깁니다.

참고
소모품을 제거하면 작업흐름에 시간이 자동으로 추가됩니다.

4 **Save**(저장)를 선택하여 설정을 저장하고 화면을 종료합니다.

사용자 공급 소모품 및 장비

NextSeq 550에서 사용되는 소모품과 장비는 다음과 같습니다.

시퀀싱 실행용 사용자 공급 소모품

소모품	공급업체	용도
1N NaOH (수산화나트륨)	일반 실험용품 공급업체	라이브러리 Denaturation(0.2N로 희석)
200mM Tris–HCl, pH7	일반 실험용품 공급업체	라이브러리 Denaturation
알코올 천, 70% 이소프로필 또는 에탄올, 70%	VWR, 카탈로그 번호 95041–714 (또는 동급) 일반 실험용품 공급업체	플로우 셀 세척 및 일반 용도
일회용 장갑, 비분말성(powder–free)	일반 실험용품 공급업체	일반 용도
보풀이 적게 이는 실험실용 티슈	VWR, 카탈로그 번호 21905–026 (또는 동급)	플로우 셀 세척

기기 관리용 사용자 공급 소모품

소모품	공급업체	용도
NaOCl, 5% (차아염소산나트륨)	Sigma–Aldrich, 카탈로그 번호 239305 (또는 일반 실험실용 동급)	수동 실행 후 세척을 사용하여 기기 세척(0.12%로 희석)
트윈 20	Sigma–Aldrich, 카탈로그 번호 P7949	수동 세척 옵션을 사용하여 기기 세척(0.05%로 희석)
물, 일반 실험실용 순수	일반 실험용품 공급업체	기기 세척(수동 세척)

일반 실험실용 순수 지침

항상 일반 실험실용 순수 또는 탈이온수를 사용하여 기기 절차를 수행합니다. 수돗물을 사용해서는 안 됩니다. 사용 가능한 물 등급 또는 동급의 물은 다음과 같습니다.

- 탈이온수
- Illumina PW1
- 18메그옴(MΩ) 수
- Milli–Q 수
- Super–Q 수
- 분자 생물 실험용 순수

사용자 공급 장비

품목	공급원
냉동고, –25℃~–15℃, 성에 방지형	일반 실험용품 공급업체
얼음통	일반 실험용품 공급업체
냉장고, 2℃~8℃	일반 실험용품 공급업체

자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR

시퀀싱

3장

소개 18
시퀀싱 작업흐름 19
시약 카트리지 준비 20
플로우 셀 준비 21
시퀀싱용 라이브러리 준비 22
시퀀싱 실행 설정 23
실행 진행률 모니터링 29
자동 실행 후 세척 31

소개

NextSeq 550에서 시퀀싱 실행을 수행하려면, 시약 카트리지 및 플로우 셀을 준비한 다음, 소프트웨어의 메시지에 따라 실행을 설정하고 시작합니다. 클러스터 생성 및 시퀀싱이 기기 내에서 수행됩니다. 실행 이후 기기에 이미 장착된 컴포넌트를 사용하여 기기 세척이 자동으로 시작됩니다.

클러스터 생성

클러스터 생성 중에 단일 DNA 분자는 플로우 셀 표면에 매여 있다가 증폭을 거쳐 클러스터를 형성합니다.

시퀀싱

클러스터에서는 형광 라벨이 붙은 각 사슬 종결자별 필터 조합과 2채널 시퀀싱 화학 반응을 사용하여 이미지가 생성됩니다. 플로우 셀의 타일 하나에 대한 이미지 생성이 완료되면 다음 타일의 이미지가 생성됩니다. 이 프로세스가 시퀀싱 주기마다 반복됩니다. 이미지 분석 후에는 소프트웨어에서 base calls, 필터링을 수행하고 quality score를 평가합니다.

제어 소프트웨어 인터페이스, BaseSpace의 Run(실행) 탭 또는 SAV(시퀀싱 분석 뷰어) 소프트웨어를 사용하는 네트워크 컴퓨터에서 실행 진행 상태와 통계를 모니터링합니다. 30페이지의 *시퀀싱 분석 뷰어*를 참조하십시오.

분석

실행이 진행되는 동안 제어 소프트웨어에서 이차 분석을 위해 BaseSpace 또는 지정된 아웃풋 위치로 base calls(BCL) 파일을 자동 전송합니다.

애플리케이션에 따라 여러 분석 방법을 사용할 수 있습니다. 자세한 내용은 *BaseSpace 도움말 (help.basespace.illumina.com)*을 참조하십시오.

시퀀싱 실행 시간

시퀀싱 실행 시간은 수행하는 주기 수에 따라 달라집니다. 최대 실행 길이는 리드당 150주기(2 x 150)와 두 인덱스 리드 각각에 대해 8주기로 진행되는 페어드 엔드 런입니다.

예상 시간과 기타 시스템 사양은 Illumina 웹사이트의 NextSeq 550 사양 페이지를 참조하십시오.

리드 사이클 수

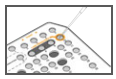
시퀀싱 실행 시 리드에서 수행된 주기 수는 분석한 주기 수보다 하나가 더 많습니다. 예를 들어 페어드 엔드 런이 150주기인 경우 151주기 리드가 두 번 실행되어 총 302주기(= 2 x 151)가 됩니다. 실행이 끝날 때 2 x 150주기가 분석됩니다. 계산을 위상화 및 사전 위상화하려면 별도의 주기가 필요합니다.

시퀀싱 작업흐름

Illumina BaseSpace 또는 BaseSpace Onsite를 사용하는 구성: BaseSpace Prep(BaseSpace 준비) 탭에서 실행을 설정합니다. *BaseSpace 도움말(help.basespace.illumina.com)*을 참조하십시오.

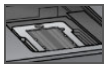
새 시약 카트리지 준비: 해동한 후 검사합니다.
새 플로우 셀 준비: 온도를 실온에 맞추고 포장을 풀어 검사합니다.

라이브러리를 Denaturation 및 희석합니다(일부 라이브러리 유형에는 적용되지 않음). *NextSeq 시스템용 라이브러리 Denaturation 및 희석(문서 번호 15048776)*을 참조하십시오.



라이브러리 희석액을 10번 저장소의 시약 카트리지에 장착합니다.

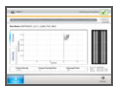
소프트웨어 인터페이스에서 **Sequence**(시퀀스)를 선택하여 실행 설정 단계를 시작합니다.



플로우 셀을 장착합니다.

폐시약 용기를 비우고 다시 장착합니다.
완충제 카트리지와 시약 카트리지를 장착합니다.

실행 매개변수와 자동 검사 결과를 검토합니다.
Start(시작)를 선택합니다.



제어 소프트웨어 인터페이스, BaseSpace의 Run(실행) 탭 또는 시퀀싱 분석 뷰어를 사용하는 네트워크 컴퓨터에서 실행을 모니터링합니다.

시퀀싱이 완료되면 기기 세척이 자동으로 시작됩니다.

시약 카트리지 준비

1 시약 카트리지를 –25℃~–15℃인 보관소에서 꺼냅니다.

2 해동될 때까지 실온의 수조에 넣어 녹입니다(최대 60분). 카트리지를 완전히 담그지 마십시오.

3 작업대에서 가볍게 두드려 바닥에 들어간 물을 빼낸 다음, 바닥을 말립니다.

참고
[다른 방법] 시약을 2℃~8℃에서 하룻밤 동안 해동합니다. 18시간 이상 시약을 해동해야 합니다. 이 온도에서는 시약이 최대 1주일 동안 안정적인 상태를 유지합니다.

4 카트리지를 5번 뒤집어 시약을 혼합합니다.

5 29, 30, 31, 32 위치의 시약이 해동되었는지 확인합니다.

6 작업대에서 가볍게 두드려 공기 방울을 제거합니다.

경고
이 시약에는 생식계에 영향을 미칠 수 있는 독성 지방족 아마이드인 포름아마이드가 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 현지 정부 안전 표준에 따라 폐기하시기 바랍니다. 환경, 건강 및 안전 정보는 support.illumina.com/sds.html에서 본 키트에 관한 SDS를 참조하십시오.

플로우 셀 준비

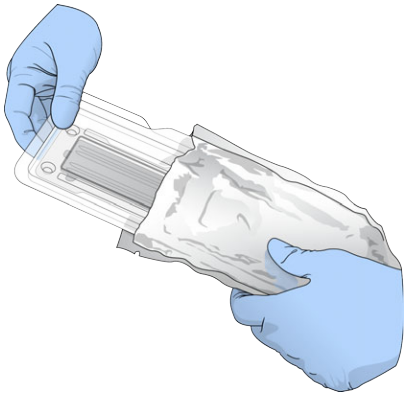
1 2℃~8℃의 보관소에서 새 플로우 셀 패키지를 꺼냅니다.

2 포장을 벗긴 플로우 셀 패키지를 실온에서 30분간 따로 둡니다.

참고
알루미늄 포장을 그대로 둘 경우 플로우 셀은 최대 12시간 동안 실온 상태를 유지할 수 있습니다. 플로우 셀을 반복적으로 얼렸다 녹이지 마십시오.

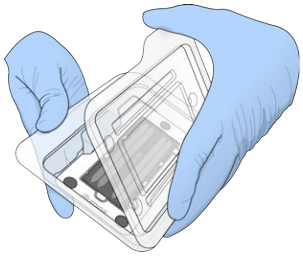
3 알루미늄 포장에서 플로우 셀을 꺼냅니다.

그림 10 알루미늄 포장에서 꺼내기



4 투명한 개폐형 플라스틱 포장을 열고 플로우 셀을 꺼냅니다.

그림 11 개폐형 포장에서 꺼내기



5 보풀 없는 알코올 천으로 플로우 셀의 유리 표면을 깨끗하게 닦습니다. 보풀 없는 실험실용 티슈로 유리의 물기를 제거합니다.

시퀀싱용 라이브러리 준비

라이브러리 용량과 장착 농도는 실행 중인 NCS 버전에 따라 달라집니다.

제어 소프트웨어 버전	라이브러리 용량	라이브러리 농도
NCS v1.3 이상	1.3ml	1.8pM
NCS v1.2 이하	3ml	3pM

라이브러리 Denaturation 및 희석

라이브러리를 장착 용량 1.3ml와 장착 농도 1.8pM으로 Denaturation 및 희석합니다. 실제로, 장착 농도는 라이브러리 준비 및 정량화 방법에 따라 다를 수 있습니다. 지침은 *NextSeq 시스템 Denaturation 및 희석 라이브러리 안내서(문서 번호 15048776)*를 참조하십시오.

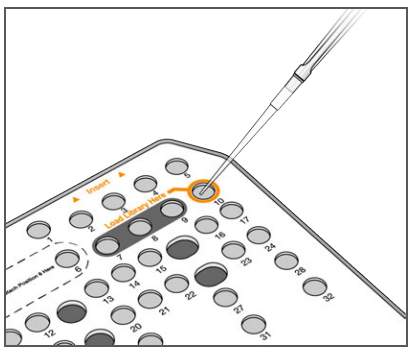
시약 카트리지에 라이브러리 장착

1 보풀이 적게 이는 티슈를 사용하여 **Load Library Here**(여기에 라이브러리 장착)라는 라벨이 붙은 10번 저장소의 알루미늄 포장지를 깨끗하게 닦습니다.

2 깨끗한 1ml 피펫 팁으로 포장지에 구멍을 뚫습니다.

3 준비된 1.8pM 라이브러리 1.3ml를 **Load Library Here**(여기에 라이브러리 장착)라는 라벨이 붙은 10번 저장소에 장착합니다. 라이브러리를 공급할 때 알루미늄 포장지를 건드리지 않도록 하십시오.

그림 12 라이브러리 장착



시퀀싱 실행 설정

1 Home(홈) 화면에서 **Experiment**(실험)를 선택한 다음 **Sequence**(시퀀스)를 선택합니다. Sequence(시퀀스) 명령을 선택하면 이미지 생성 부분 도어가 열리고, 이전 실행의 소모품이 해제되며, 일련의 Run Setup(실행 설정) 화면이 열립니다. 잠시 지연되는 것은 정상적인 동작입니다. 기기가 BaseSpace용으로 구성된 경우 BaseSpace에 로그인하라는 메시지가 표시됩니다. 기기가 독립 실행형 모드용으로 구성된 경우 다음 단계는 플로우 셀을 장착하는 것입니다.

BaseSpace에 로그인

1 BaseSpace 사용자 이름 및 암호를 입력합니다.

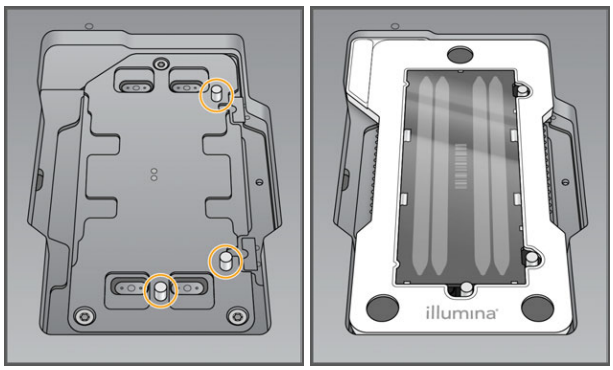
2 **Next**(다음)를 선택합니다.

플로우 셀 장착

1 이전 실행에서 사용한 플로우 셀을 제거합니다.

2 플로우 셀을 배열 핀 위에 배열하고 플로우 셀을 대에 놓습니다.

그림 13 플로우 셀 장착



3 **Load**(장착)를 선택합니다.
도어가 자동으로 닫힌 다음 플로우 셀 ID가 화면에 표시되고 센서가 작동됩니다.

4 **Next**(다음)를 선택합니다.

폐시약 용기 비우기

1 폐시약 용기를 제거하고 해당 표준에 따라 내용물을 폐기합니다.

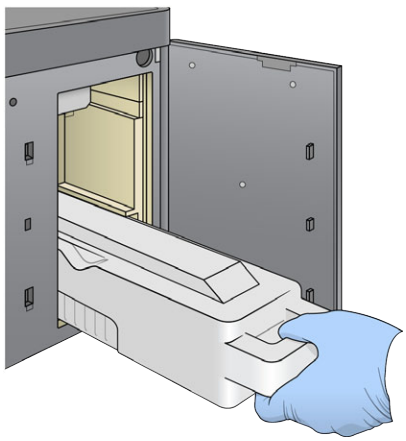
그림 14 폐시약 용기 제거

참고
용기를 제거할 때에는 다른 한 손으로 아래쪽을 받쳐줍니다.

경고
이 시약에는 생식계에 영향을 미칠 수 있는 독성 지방족 아마이드인 포름아마이드가 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 현지 정부 안전 표준에 따라 폐기하시기 바랍니다. 환경, 건강 및 안전 정보는 support.illumina.com/sds.html에서 본 키트에 관한 SDS를 참조하십시오.

2 빈 폐시약 용기를 완충제 부분에 멈출 때까지 밀어 넣습니다. 딸깍 소리가 나면 용기가 제대로 장착된 것입니다.

그림 15 비어 있는 폐시약 용기 장착

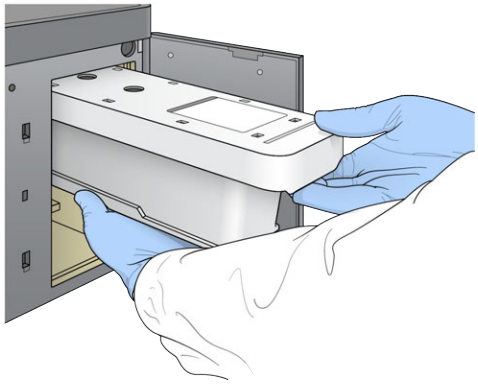


완충제 카트리지 장착

1 위쪽 부분에서 사용된 완충제 카트리지를 제거합니다.

2 새 완충제 카트리지를 완충제 부분에 멈출 때까지 밀어 넣습니다.
딸깍 소리가 들리면 카트리지가 제자리에 장착된 것이며, 완충제 카트리지 ID가 화면에 표시되고 센서가 작동됩니다.

그림 16 완충제 카트리지 장착



3 완충제 부분 도어를 닫고 **Next**(다음)를 선택합니다.

시약 카트리지 장착

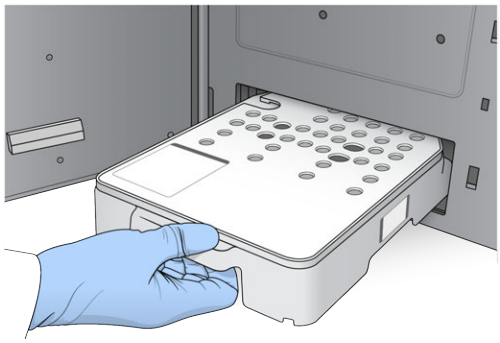
1 시약 부분에서 사용한 시약 카트리지를 제거합니다. 해당 표준에 따라 사용하지 않은 내용물을 폐기합니다.

경고
이 시약에는 생식계에 영향을 미칠 수 있는 독성 지방족 아마이드인 포름아마이드가 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 현지 정부 안전 표준에 따라 폐기하시기 바랍니다. 환경, 건강 및 안전 정보는 support.illumina.com/sds.html에서 본 키트에 관한 SDS를 참조하십시오.

참고
사용되지 않은 시약을 안전하게 폐기할 수 있도록 위치 6번의 저장소를 꺼낼 수 있습니다. 자세한 내용은 25페이지의 *위치 6번에서 사용한 저장소 제거*를 참조하십시오.

2 시약 카트리지를 시약 부분에 끝까지 밀어 넣은 다음 시약 부분 도어를 닫습니다.

그림 17 시약 카트리지 장착



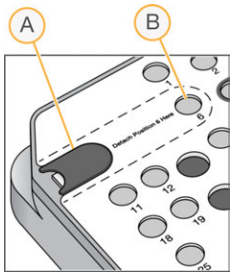
3 **Load**(장착)를 선택합니다.
카트리지가 제자리로 자동 이동(최대 30초)하며 시약 카트리지 ID가 화면에 표시되고 센서가 작동됩니다.

4 **Next**(다음)를 선택합니다.

위치 6번에서 사용한 저장소 제거

1 ***사용한*** 시약 카트리지를 기기에서 꺼낸 다음, 위치 6번 옆의 슬롯을 덮고 있는 보호용 고무 커버를 제거합니다.

그림 18 제거 가능한 위치 6번



A 보호용 고무 커버
B 위치 6번

2 투명한 플라스틱 탭을 누른 다음 왼쪽으로 밀어 저장소를 꺼냅니다.

3 해당 표준에 따라 저장소를 폐기합니다.

실행 매개변수 지정

Run Setup(실행 설정) 화면의 단계는 다음과 같은 시스템 구성에 따라 달라집니다.

- **BaseSpace or BaseSpace Onsite(BaseSpace 또는 BaseSpace Onsite)**—Run Setup(실행 설정) 화면에 BaseSpace Prep(BaseSpace 준비) 탭을 사용하여 설정한 실행이 열거됩니다. 의도된 실행이 Run Setup(실행 설정) 화면에 표시되지 않으면 해당 실행이 BaseSpace에서 시퀀스용으로 표시되었는지 확인합니다.
- **Standalone**(독립 실행형)—Run Setup(실행 설정) 화면에 실행 매개변수를 정의하는 필드가 포함됩니다.

사용 가능한 실행 선택(BaseSpace 구성)

1 사용 가능한 실행 목록에서 실행 이름을 선택합니다.
위쪽/아래쪽 화살표를 사용하여 목록을 스크롤하거나 Search(검색) 필드에 실행 이름을 입력합니다.

2 **Next**(다음)를 선택합니다.

3 실행 매개변수를 확인합니다.
- **Run Name**(실행 이름)—BaseSpace에서 할당된 실행 이름입니다.
- **Library ID**(라이브러리 ID)—BaseSpace에서 할당된 라이브러리 풀의 이름입니다.
- **Recipe**(레시피)—레시피 이름입니다(실행에 사용된 시약 카트리지에 따라 **NextSeq High** 또는 **NextSeq Mid**).
- **Read Type**(리드 유형)—Single Read(단일 리드) 또는 Paired End(페어드 엔드)입니다.
- **Read Length**(리드 길이)—각 리드의 주기 수입니다.
- [선택사항] Custom Primers(Custom 프라이머, 해당되는 경우)

4 [선택사항] 실행 매개변수를 변경하려면 **Edit**(편집) 아이콘을 선택합니다. 작업을 마치면 **Save**(저장)를 선택합니다.
- **Run parameters**(실행 매개변수)—리드 수 또는 리드당 주기 수를 변경합니다.
- **Custom primers**(Custom 프라이머)—Custom 프라이머에 대한 설정을 변경합니다. 자세한 내용은 *NextSeq Custom 프라이머 안내서(문서 번호 15057456)*를 참조하십시오.
- **Purge consumables for this run**(이 실행에 대한 소모품 제거)—현재 실행 후에 소모품을 자동으로 제거하려면 이 설정을 변경합니다.

5 **Next**(다음)를 선택합니다.

실행 매개변수 입력(독립 실행형 구성)

1 원하는 실행 이름을 입력합니다.

2 [선택사항] 원하는 라이브러리 ID를 입력합니다.

3 Recipe(레시피) 드롭다운 목록에서 레시피를 선택합니다. 호환되는 레시피만 표시됩니다.

4 리드 유형(**Single Read**(단일 리드) 또는 **Paired End**(페어드 엔드))을 선택합니다.

5 시퀀싱 실행에서 각 리드의 주기 수를 입력합니다.
- **Read 1**(리드 1)—최대 151주기 값을 입력합니다.
- **Read 2**(리드 2)—최대 151주기 값을 입력합니다. 이 값은 일반적으로 리드 1과 같은 주기 수입니다.
- **Index 1**(인덱스 1)—인덱스 1(i7) 프라이머에 필요한 주기 수를 입력합니다.
- **Index 2**(인덱스 2)—인덱스 2(i5) 프라이머에 필요한 주기 수를 입력합니다.

제어 소프트웨어는 다음과 같은 조건을 사용하여 입력 사항을 확인합니다.
- 총 주기 수가 허용되는 최대 주기를 초과하지 않음
- 리드 1 주기 수가 템플레이트 생성에 사용되는 5주기보다 큼
- 인덱스 리드 주기 수가 리드 1과 리드 2 주기 수를 초과하지 않음

6 [선택사항] Custom 프라이머를 사용하는 경우 사용된 프라이머에 대한 체크박스를 선택합니다. 자세한 내용은 *NextSeq Custom 프라이머 안내서(문서 번호 15057456)*를 참조하십시오.
- **Read 1**(리드 1)—리드 1의 Custom 프라이머
- **Read 2**(리드 2)—리드 2의 Custom 프라이머
- **Index 1**(인덱스 1)—인덱스 1의 Custom 프라이머
- **Index 2**(인덱스 2)—인덱스 2의 Custom 프라이머

7 [선택사항] 실행 매개변수를 변경하려면 **Edit**(편집) 아이콘을 선택합니다. 작업을 마치면 **Save**(저장)를 선택합니다.
- **Output folder location**(아웃풋 폴더 위치)—현재 실행의 아웃풋 폴더 위치를 변경합니다. **Browse**(찾아보기)를 선택하여 네트워크 위치를 지정합니다.
- **Purge consumables for this run**(이 실행에 대한 소모품 제거)—현재 실행 후에 소모품을 자동으로 제거하려면 이 설정을 변경합니다.
- **Use run monitoring for this run**(이 실행에 대해 실행 모니터링 사용)—BaseSpace에서 실행 모니터링을 사용하려면 이 설정을 변경합니다.

8 **Next**(다음)를 선택합니다.

자동 검사 검토

소프트웨어에서 시스템을 자동으로 검사합니다. 검사 도중 화면에 다음과 같은 표시기가 나타납니다.
- **회색 확인 표시**—검사가 아직 수행되지 않았습니다.
- **진행률 아이콘**—검사가 진행 중입니다.
- **녹색 확인 표시**—검사를 통과했습니다.
- **빨간색 X**—검사를 통과하지 못했습니다. 검사를 통과하지 못한 모든 항목에 대한 조치를 취해야 계속 진행할 수 있습니다. 53페이지의 *자동 검사 오류 해결*을 참조하십시오.

진행 중인 자동 검사를 중지하려면 오른쪽 하단 모서리에 있는 아이콘을 선택합니다. 검사를 다시 시작하려면 아이콘을 선택합니다. 검사가 처음으로 미완료되었거나 실패하면 검사가 다시 시작됩니다.

범주 내의 각 개별 검사 결과를 확인하려면 아이콘을 선택하여 범주를 확대합니다.

실행 시작

자동 검사가 완료되면 **Start**(시작)를 선택합니다. 시퀀싱 실행이 시작됩니다.

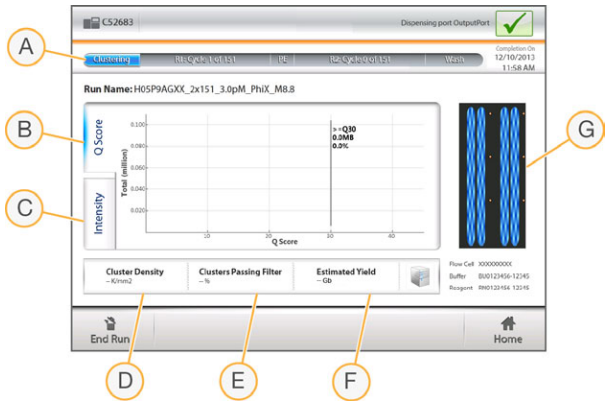
검사가 성공적으로 완료된 후에 실행이 자동으로 시작되도록 시스템을 구성하려면 14페이지의 *실행 설정 옵션 지정*을 참조하십시오.

자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR

실행 진행률 모니터링

1 메트릭이 화면에 표시되면 실행 진행률, 인텐시티 및 quality score를 모니터링합니다.

그림 19 시퀀싱 실행 진행률 및 메트릭



A **Run progress**(실행 진행률)—현재 단계와 각 리드에 대해 완료된 주기 수를 표시합니다. 진행률 표시줄은 각 단계의 실행률에 비례하지 않습니다. 오른쪽 상단 모서리의 남은 시간을 통해 실제 시간을 확인할 수 있습니다.

B **Q-Score**(Q-점수)—quality score(Q-점수) 분포를 표시합니다. 72페이지의 *quality score 평가*를 참조하십시오.

C **Intensity**(인텐시티)—90번째 백분위수로 각 타일의 클러스터 인텐시티 값이 표시됩니다. 그래프 색상은 각 염기를 나타냅니다. 즉 A는 빨간색, C는 녹색, G는 파란색, T는 검은색입니다. 색상은 SAV(시퀀싱 분석 소프트웨어)에서 사용되는 염기 표시기와 일치합니다.

D **Cluster Density**(클러스터 밀도)(K/mm²)—실행에서 감지된 클러스터 수를 나타냅니다.

E **Clusters Passing Filter**(필터 통과 클러스터)(%)—필터를 통과한 클러스터의 백분율을 표시합니다. 72페이지의 *필터 통과 클러스터*를 참조하십시오.

F **Estimated Yield**(추정 수율)(Gb)—실행에 대한 예상 염기 수를 표시합니다.

G **Flow cell image**(플로우 셀 이미지)—각 레인 쌍의 현재 프로세스를 표시합니다. 다른 레인 쌍이 화학 반응 단계에 있을 때 레인 쌍 하나의 이미지가 생성됩니다.

참고
Home(홈)을 선택한 후에는 실행 메트릭을 보기 위해 돌아갈 수 없습니다. 그러나 BaseSpace에서 실행 메트릭에 액세스하거나, 독립 실행형 컴퓨터에서 SAV(시퀀싱 분석 뷰어)를 사용하여 실행 메트릭을 볼 수는 있습니다.

실행 메트릭 주기

실행 중 여러 시점에 실행 메트릭이 표시됩니다.

- 클러스터 생성 단계에서는 어떤 메트릭도 나타나지 않습니다.
- 처음 5주기는 템플레이트 생성용으로 예약됩니다.
- 25주기 후에 클러스터 밀도, 필터 통과 클러스터, 수율 및 quality score 등의 실행 메트릭이 표시됩니다.

데이터 전송

선택한 분석 구성에 따라 데이터 전송 상태를 나타내는 아이콘이 실행 중에 화면에 표시됩니다.

상태	Illumina BaseSpace	BaseSpace Onsite	독립 실행형 기기
연결됨			
연결되었으며 데이터를 전송하는 중			
연결 끊김			

실행 중에 데이터 전송이 중단된 경우 데이터가 기기 컴퓨터에 일시적으로 저장됩니다. 연결이 복원되면 데이터 전송이 자동으로 다시 시작됩니다. 실행이 끝날 때까지 연결이 복원되지 않은 경우에는 후속 실행을 시작하기 전에 기기 컴퓨터에서 데이터를 수동으로 제거하십시오.

복사 실행 서비스

NextSeq System Software Suite에는 복사 실행 서비스가 포함되어 있습니다. RTA v2가 이 서비스에 원본 위치의 파일을 대상 위치로 복사하도록 요청하면 서비스에서 수신한 순서대로 복사 요청을 처리합니다. 예외가 발생하면 복사 큐의 파일 수에 따라 파일 복사가 요청됩니다.

시퀀싱 분석 뷰어

시퀀싱 분석 뷰어 소프트웨어는 실행 중에 생성되는 시퀀싱 메트릭을 표시합니다. 메트릭은 RTA에서 생성된 후 InterOp 파일에 기록되는 데이터를 기반으로 도면, 그래프 및 표 형식으로 표시됩니다. 실행이 진행되면 메트릭이 업데이트됩니다. 실행 중에 언제든지 **Refresh**(새로 고침)를 선택하여 업데이트된 메트릭을 확인할 수 있습니다. 자세한 내용은 *SAV(시퀀싱 분석 뷰어) 사용자 안내서(파트 번호 15020619)*를 참조하십시오.

시퀀싱 분석 뷰어는 기기 컴퓨터에 설치된 소프트웨어에 포함되어 있습니다. 기기와 동일한 네트워크에 연결된 또 다른 컴퓨터에 시퀀싱 분석 뷰어를 설치하여 원격으로 실행 메트릭을 모니터링할 수도 있습니다.

자동 실행 후 세척

시퀀싱 실행이 완료되면 소프트웨어가 완충제 카트리지에 제공된 세척액과 시약 카트리지에 제공된 NaOCl을 사용하여 자동 실행 후 세척을 시작합니다.

자동 실행 후 세척은 약 90분이 소요됩니다. 세척이 완료되면 Home(홈) 버튼이 활성화됩니다. 시퀀싱 결과는 세척하는 동안 화면에 계속 표시됩니다.

세척 이후

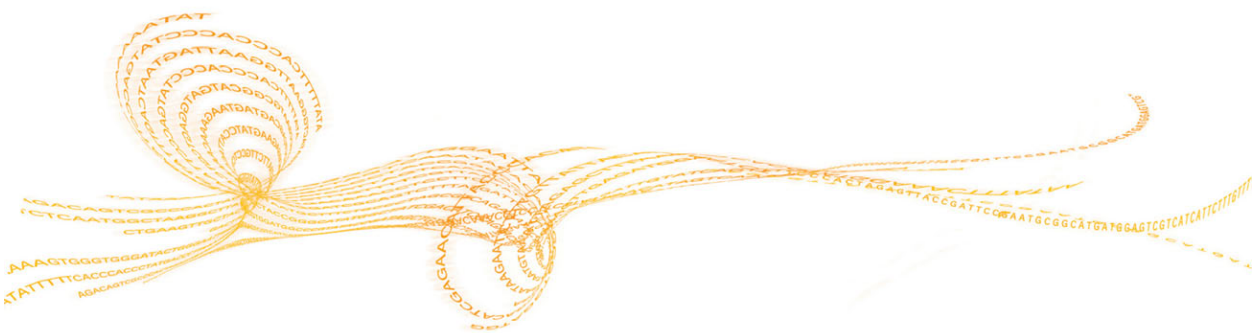
세척 이후에는 sipper를 아래쪽 위치에 그대로 둬 시스템에 공기가 유입되지 않도록 합니다. 다음 실행을 수행할 때까지 카트리지를 제자리에 둡니다.

자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR

스캐닝

4장

소개 34
스캔 작업흐름 35
DMAP 폴더 다운로드 36
어댑터에 BeadChip 장착 37
스캔 설정 38
스캔 진행률 모니터링 40



소개

NextSeq 550에서 스캔을 수행하려면 다음과 같은 실행 컴포넌트가 필요합니다.

- 혼성화 및 염색된 BeadChip
- 재사용 가능한 BeadChip 어댑터
- 사용 중인 BeadChip용 DMAP(디코드 맵) 파일
- 사용 중인 BeadChip용 매니페스트 파일
- 사용 중인 BeadChip용 클러스터 파일

스캔 중에 아웃풋 파일이 생성되면 지정된 아웃풋 폴더로 전송되도록 큐에 대기됩니다.

BlueFuse Multi 소프트웨어를 사용해 분석을 수행합니다. 분석을 수행하려면 GTC(genotype calls) 파일 형식의 사용 가능한 스캔 데이터가 필요합니다. 기본값으로 NextSeq 550은 정규화된 데이터 및 관련 genotype calls를 GTC 파일의 형식으로 생성합니다. 원하는 경우 추가 인텐시티 데이터(IDAT) 파일을 생성하도록 기기를 구성할 수 있습니다. 자세한 내용은 65페이지의 *BeadChip 스캔 구성*을 참조하십시오.

Decode File Client

DMAP 폴더에는 BeadChip에서 비드 위치를 식별하고 각 비드와 연관된 신호를 정량화하는 정보가 포함되어 있습니다. DMAP 폴더는 각 BeadChip 바코드에 대해 고유합니다.

Decode File Client 유틸리티를 사용하면 표준 HTTP 프로토콜을 이용해 Illumina 서버에서 DMAP 폴더를 직접 다운로드할 수 있습니다.

Decode File Client에 액세스하려면 Illumina 웹사이트의 Decode File Client 지원 페이지(support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html)로 이동하십시오. DMAP 폴더의 네트워크 위치에 액세스할 수 있는 컴퓨터에 Decode File Client를 설치합니다.

자세한 내용은 36페이지의 *DMAP 폴더 다운로드*를 참조하십시오.

매니페스트 파일 및 클러스터 파일

각 BeadChip에서 소프트웨어가 매니페스트 파일과 클러스터 파일에 액세스할 수 있어야 합니다. 각 매니페스트 파일과 클러스터 파일은 BeadChip 유형에 고유합니다. 파일 이름에 NS550이 포함된 클러스트 파일을 사용해야 합니다. 이러한 파일은 NextSeq 시스템과 호환됩니다.

- **매니페스트 파일**—매니페스트 파일은 BeadChip의 SNP 또는 프로브 내용을 설명합니다. 매니페스트 파일은 *.bpm 파일 형식을 사용합니다.
- **클러스터 파일**—클러스터 파일은 Illumina 유전자형 배열의 클러스터 위치를 설명하며, genotype calls를 만들기 위해 데이터를 분석할 때 사용됩니다. 클러스터 파일은 *.egt 파일 형식을 사용합니다.

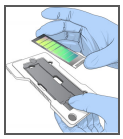
파일의 위치는 BeadChip Scan Configuration(BeadChip 스캔 구성) 화면에서 지정합니다. NCS Home(홈) 화면에서 **Manage Instrument**(기기 관리), **System Configuration**(시스템 구성)을 선택한 다음, **BeadChip Scan Configuration**(BeadChip 스캔 구성)을 선택합니다.

NextSeq 550 기기가 설치된 경우 Illumina 담당자가 이러한 파일을 다운로드하고 제어 소프트웨어에서 해당 경로를 지정합니다. 손실되었거나 새 버전을 사용할 수 있는 경우를 제외하고는 이러한 파일을 변경할 필요가 없습니다. 자세한 내용은 59페이지의 *매니페스트 파일 및 클러스터 파일 교체*를 참조하십시오.

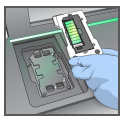
스캔 작업흐름

DMAP

DMAP 정보를 다운로드한 후 지정된 DMAP 폴더 위치에 저장합니다.



BeadChip을 BeadChip 어댑터에 장착합니다.



BeadChip 어댑터를 기기에 장착합니다.

스캔 매개변수인 DMAP 폴더 위치와 아웃풋 위치를 지정합니다.

자동 검사 결과를 검토합니다.
Start(시작)를 선택합니다.

제어 소프트웨어 인터페이스에서 스캔을 모니터링합니다.

DMAP 폴더 다운로드

Decode File Client를 사용하여 계정별로 또는 BeadChip(기본값 보기)별로 DMAP 폴더에 액세스할 수 있습니다.

계정별 DMAP 폴더 액세스

1. Decode File Client의 메인 탭에서 다운로드 옵션을 선택합니다.
   - AutoPilot
   - 아직 다운로드하지 않은 모든 BeadChip
   - 모든 BeadChip
   - 구매 주문별 BeadChip
   - 바코드별 BeadChip
2. 필요한 정보를 입력합니다.
3. 다운로드할 DMAP 폴더를 찾습니다.
4. 다운로드 대상 위치에 여유 공간이 충분히 있는지 확인합니다.
5. 다운로드를 시작합니다. Download Status and Log(다운로드 상태 및 로그) 탭에서 다운로드 상태를 확인합니다.
6. DMAP 폴더를 지정된 DMAP 폴더 위치에 저장합니다.

BeadChip별 DMAP 폴더 액세스

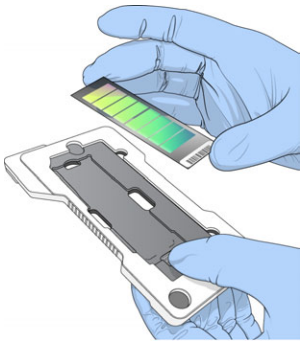
1. 다음과 같은 옵션 중 두 가지를 사용하여 BeadChip을 식별합니다.
   - BeadChip 바코드
   - BeadChips 박스 ID
   - 구매 주문 번호
   - 판매 주문 번호
2. 다운로드할 DMAP 폴더를 찾습니다.
3. 다운로드 대상 위치에 여유 공간이 충분히 있는지 확인합니다.
4. 다운로드를 시작합니다. Download Status and Log(다운로드 상태 및 로그) 탭에서 다운로드 상태를 확인합니다.
5. DMAP 폴더를 지정된 DMAP 폴더 위치에 저장합니다.

어댑터에 BeadChip 장착

1 어댑터 고정 클립을 누릅니다. 클립이 뒤로 약간 기울어지면서 열립니다.

2 BeadChip 가장자리를 잡은 상태에서 바코드가 고정 클립 근처에 오도록 BeadChip을 놓고 어댑터의 오목한 선반에 장착합니다.

그림 20 어댑터에 BeadChip 장착



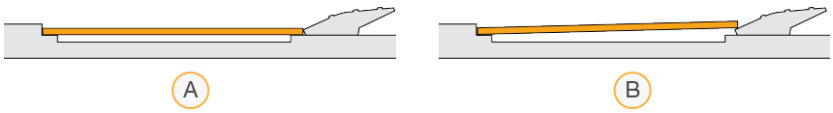
3 BeadChip 양쪽의 구멍을 이용해 BeadChip이 어댑터의 오목한 선반에 장착되었는지 확인합니다.

그림 21 BeadChip 장착 및 고정

4 고정 클립을 살짝 풀어서 BeadChip을 고정합니다.

5 옆에서 BeadChip을 보고 BeadChip이 어댑터에 평평하게 놓였는지 검사합니다. 필요한 경우 BeadChip을 재배치합니다.

그림 22 BeadChip 위치 검사



A 올바른 위치—클립을 풀었을 때 BeadChip이 어댑터에 평평하게 놓여 있습니다.
B 잘못된 위치—클립을 풀었을 때 BeadChip이 평평하게 놓여 있지 않습니다.

스캔 설정

1 Home(홈) 화면에서 **Experiment**(실험)를 선택한 다음, **Scan**(스캔)을 선택합니다.
Scan(스캔) 명령을 선택하면 이미지 생성 부분 도어가 열리고, 이전 실행(있는 경우)의 소모품이 해제되며, 일련의 Scan Setup(스캔 설정) 화면이 열립니다. 잠시 지연되는 것은 정상적인 동작입니다.

시퀀싱 소모품 분리

스캔을 설정할 때 사용된 시퀀싱 소모품이 있는 경우 다음 단계를 진행하기 전에 시약 카트리지와 완충제 카트리지를 분리하라는 메시지가 표시됩니다.

1 메시지가 표시되면 사용된 시퀀싱 소모품을 이전 시퀀싱 실행에서 제거합니다.

a 시약 부분에서 시약 카트리지를 제거합니다. 해당 표준에 따라 사용하지 않은 내용물을 폐기합니다.

b 완충제 부분에서 사용된 완충제 카트리지를 제거합니다.

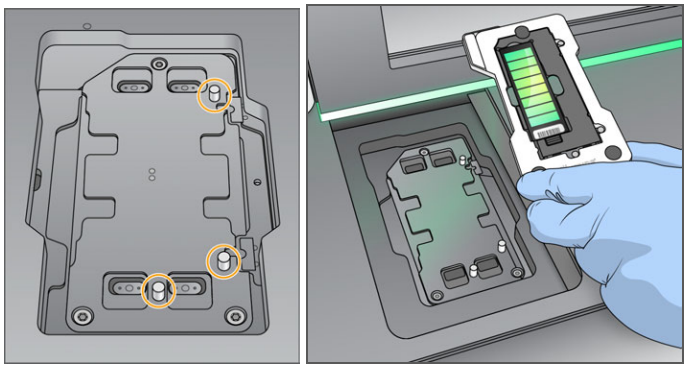
경고
이 시약에는 생식계에 영향을 미칠 수 있는 독성 지방족 아마이드인 포름아마이드가 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 현지 정부 안전 표준에 따라 폐기하시기 바랍니다. 환경, 건강 및 안전 정보는 support.illumina.com/sds.html에서 본 키트에 관한 SDS를 참조하십시오.

2 시약 부분과 완충제 부분 도어를 닫습니다.

BeadChip 어댑터 장착

1 배열 핀을 사용하여 BeadChip 어댑터를 대에 배치합니다.

그림 23 BeadChip 어댑터 장착



2 **Load**(장착)를 선택합니다.
도어가 자동으로 닫힌 다음 BeadChip ID가 화면에 표시되고 센서가 작동됩니다. 잠시 지연되는 것은 정상적인 동작입니다. BeadChip 바코드를 읽을 수 없는 경우 바코드를 직접 입력할 수 있는 대화상자가 표시됩니다. 58페이지의 *소프트웨어가 BeadChip 바코드를 읽을 수 없음*을 참조하십시오.

3 **Next**(다음)를 선택합니다.

스캔 설정

1 Scan Setup(스캔 설정) 화면에서 다음과 같은 정보를 확인합니다.

- **바코드**—BeadChip이 장착되면 소프트웨어가 BeadChip 바코드를 읽습니다. 바코드를 수동으로 입력한 경우 추가로 변경할 수 있도록 Edit(편집) 버튼이 나타납니다.
- **유형**—BeadChip 유형 필드는 BeadChip 바코드에 따라 자동으로 채워집니다.
- **DMAP 위치**—DMAP 폴더 위치는 BeadChip Scan Configuration(BeadChip 스캔 구성) 화면에서 지정됩니다. 현재 스캔 위치만 변경하려면 **Browse**(찾아보기)를 선택하고 올바른 위치를 지정합니다.
- **아웃풋 위치**—아웃풋 위치는 BeadChip Scan Configuration(BeadChip 스캔 구성) 화면에서 지정됩니다. 현재 스캔 위치만 변경하려면 **Browse**(찾아보기)를 선택하고 원하는 위치를 지정합니다.

2 **Next**(다음)를 선택합니다.

자동 검사 검토

소프트웨어에서 시스템을 자동으로 검사합니다. 검사 도중 화면에 다음과 같은 표시기가 나타납니다.

- **회색 확인 표시**—검사가 아직 수행되지 않았습니다.
- **진행률** **아이콘**—검사가 진행 중입니다.
- **녹색 확인 표시**—검사를 통과했습니다.
- **빨간색 X**—검사를 통과하지 못했습니다. 검사를 통과하지 못한 모든 항목에 대한 조치를 취해야 계속 진행할 수 있습니다. 53페이지의 *자동 검사 오류 해결*을 참조하십시오.

진행 중인 자동 검사를 중지하려면 오른쪽 하단 모서리에 있는 아이콘을 선택합니다. 검사를 다시 시작하려면 아이콘을 선택합니다. 검사가 처음으로 미완료되었거나 실패하면 검사가 다시 시작됩니다.

범주 내의 각 개별 검사 결과를 확인하려면 아이콘을 선택하여 범주를 확대합니다.

스캔 시작

자동 검사가 완료되면 **Start**(시작)를 선택합니다. 스캔이 시작됩니다.

검사가 성공적으로 완료된 후에 스캔이 자동으로 시작되도록 시스템을 구성하려면 14페이지의 *실행 설정 옵션 지정*을 참조하십시오.

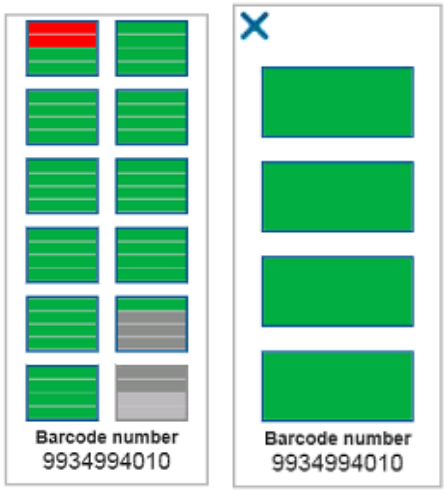
스캔 진행률 모니터링

1 BeadChip 이미지를 사용하여 스캔 진행률을 모니터링합니다. 이미지의 각 색상은 스캐닝 상태를 나타냅니다.
- **밝은 회색**—스캔되지 않음
- **어두운 회색**—스캔되었으나 등록되지 않음
- **녹색**—성공적으로 스캔 및 등록됨
- **빨간색**—스캔 및 등록에 실패함

등록에 실패한 경우 실패한 섹션이 포함된 샘플을 다시 스캔할 수 있습니다. 58페이지의 *BeadChip 스캔 실패*를 참조하십시오.

2 BeadChip 이미지를 선택하면 선택한 샘플의 전체 보기와 상세 보기 사이를 전환할 수 있습니다.
- 전체 보기는 BeadChip의 샘플과 각 샘플 내의 섹션을 보여줍니다.
- 상세 보기는 선택한 샘플 내의 각 섹션을 보여줍니다.

그림 24 BeadChip 이미지: 전체 보기 및 상세 보기



참고
스캔 종료는 최종 명령입니다. 스캔이 완료되기 전에 스캔을 종료하면 스캔 데이터가 저장되지 ***않습니다***.

데이터 전송

스캔이 완료되면 데이터가 스캐닝 아웃풋 폴더로 전송되도록 큐에 대기됩니다. 데이터가 기기 컴퓨터에 임시로 기록됩니다. 후속 스캔이 시작되면 임시 폴더가 기기 컴퓨터에서 자동으로 삭제됩니다.

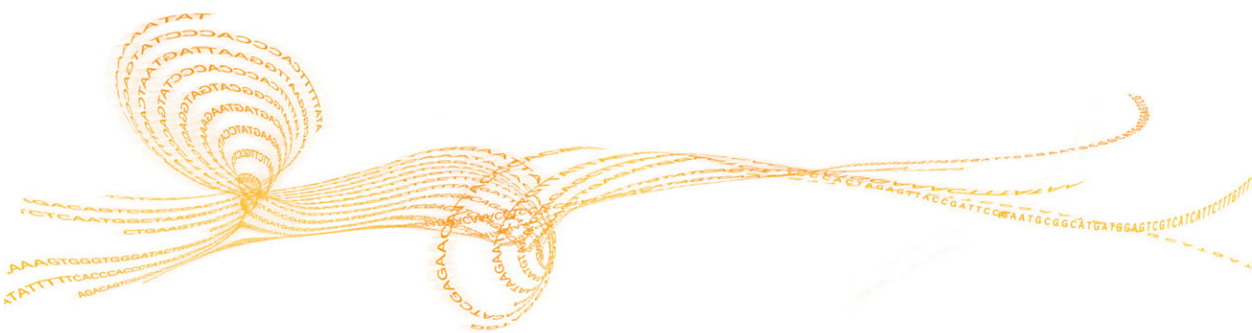
데이터 전송에 필요한 시간은 사용자의 네트워크 연결에 따라 다릅니다. 후속 스캔을 시작하기 전에 데이터가 아웃풋 폴더에 기록되었는지 확인합니다. 이를 확인하려면 GTC 파일이 바코드 폴더에 있는지 확인합니다. 자세한 내용은 80페이지의 *스캐닝 아웃풋 폴더 구조*를 참조하십시오.

연결이 중단된 경우 연결이 복원되면 데이터 전송이 자동으로 다시 시작됩니다. 각 파일에는 데이터가 아웃풋 폴더로 전송되도록 큐에 대기된 지 1시간 후에 만료되는 타이머가 있습니다. 타이머가 만료되거나 전송이 완료되기 전에 기기가 재부팅되면 데이터가 아웃풋 폴더에 기록되지 않습니다.

관리

5장

소개 42
수동 세척 수행 43
소프트웨어 업데이트 46
기기 종료 48



소개

관리 절차에는 수동 기기 세척과 시스템 소프트웨어 업데이트(해당하는 경우)가 포함됩니다.

- **기기 세척**—시퀀싱 실행 후에 항상 자동 실행 후 세척을 수행하면 기기 성능이 유지됩니다. 그러나 특정 조건에서는 정기적으로 수동 세척을 수행해야 합니다. 43페이지의 *수동 세척 수행*을 참조하십시오.
- **소프트웨어 업데이트**—업데이트된 시스템 소프트웨어 버전을 사용할 수 있는 경우 BaseSpace에 연결하여 자동으로 업데이트를 설치하거나, Illumina 웹사이트에서 설치 프로그램을 다운로드한 후 수동으로 업데이트를 설치할 수 있습니다. 46페이지의 *소프트웨어 업데이트*를 참조하십시오.

예방 관리

Illumina에서는 매년 예방 관리 서비스를 예약할 것을 권장합니다. 서비스 계약 기간이 지난 경우 해당 지역 계정 관리자나 Illumina 기술 지원 부서에 연락해 유료 예방 관리 서비스를 요청하십시오.

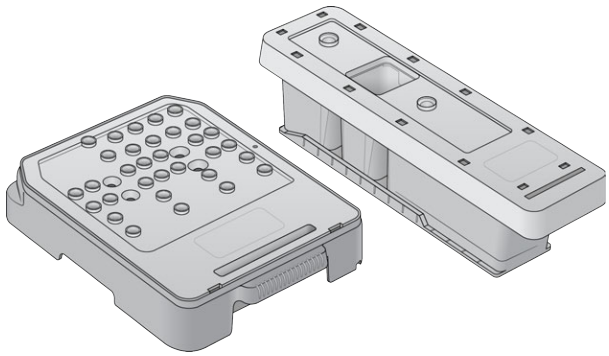
수동 세척 수행

수동 세척은 Home(홈) 화면에서 시작합니다. Wash(세척) 옵션에는 Quick Wash(빠른 세척)와 Manual Post-Run Wash(수동 실행 후 세척)이 있습니다.

세척 유형	설명
빠른 세척 **시간: 20분**	일반 실험실용 순수와 트윈 20을 혼합한 사용자 공급 세척액(완충제 세척 카트리지)으로 시스템을 세척합니다. · 시약 카트리지와 완충제 카트리지가 장착된 상태에서 기기가 유휴 상태인 경우 14일마다 세척을 수행해야 합니다. · 기기가 건조된 상태인 경우 7일마다 세척을 수행해야 합니다(시약 카트리지와 완충제 카트리지가 제거된 경우). · 종료한 후에 세척을 수행해야 합니다.
수동 실행 후 세척 **시간: 90분**	일반 실험실용 순수와 트윈 20을 혼합한 사용자 공급 세척액(완충제 세척 카트리지)과 0.12% 차아염소산나트륨(시약 세척 카트리지)으로 시스템을 세척합니다. 자동 실행 후 세척이 수행되지 않는 경우 세척을 수행해야 합니다.

수동 세척을 수행하려면 기기와 함께 제공된 시약 세척 카트리지 및 완충제 세척 카트리지와 사용한 플로우 셀이 필요합니다. 사용한 플로우 셀은 기기 세척에 최대 20번 사용할 수 있습니다.

그림 25 시약 세척 카트리지와 완충제 세척 카트리지



수동 실행 후 세척 준비

사용자 공급 소모품	용량 및 설명
· NaOCl	1ml(0.12%로 희석) 시약 세척 카트리지에 장착(위치 28번)
· 100% 트윈 20 · 일반 실험실용 순수	125ml의 0.05% 트윈 20 세척액을 만드는 데 사용 완충제 세척 카트리지에 장착(가운데 저장소)

참고

항상 **24시간** 이내에 준비된 새 NaOCl 희석액을 사용하십시오. 용량이 1ml보다 많은 경우 다음 24시간 이내에 사용하려면 남은 희석액을 2℃~8℃로 보관하고, 그렇지 않으면 남은 NaOCl 희석액을 폐기합니다.

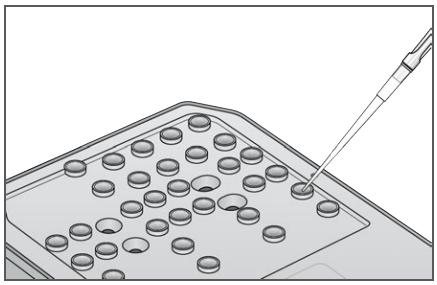
1 미량원심분리기 튜브에 다음과 같은 용량을 섞어 1ml의 0.12% NaOCl을 만듭니다.

- 5% NaOCl(24µl)
- 일반 실험실용 순수(976µl)

2 튜브를 뒤집어 용액을 혼합합니다.

3 1ml의 0.12% NaOCl을 시약 세척 카트리지에 추가합니다. 올바른 저장소는 사전 충전 카트리지의 위치 28번에 해당합니다.

그림 26 NaOCl 장착



4 다음과 같은 용량을 섞어 0.05%의 트윈 20 세척액을 만듭니다.
- 100% 트윈 20(62µl)
- 일반 실험실용 순수(125ml)

5 완충제 세척 카트리지의 가운데 저장소에 세척액 125ml를 추가합니다.

6 **Perform Wash**(세척 수행)를 선택한 다음, **Manual Post-Run Wash**(수동 실행 후 세척)를 선택합니다.

빠른 세척 준비

사용자 공급 소모품	용량 및 설명
· 100% 트윈 20 · 일반 실험실용 순수	40ml의 0.05% 트윈 20 세척액을 만드는 데 사용 완충제 세척 카트리지에 장착(가운데 저장소)

1 다음과 같은 용량을 섞어 0.05%의 트윈 20 세척액을 만듭니다.
- 100% 트윈 20(20µl)
- 일반 실험실용 순수(40ml)

2 완충제 세척 카트리지의 가운데 저장소에 세척액 40ml를 추가합니다.

3 **Perform Wash**(세척 수행)를 선택한 다음 **Quick Wash**(빠른 세척)를 선택합니다.

사용한 플로우 셀 및 세척 카트리지 장착

1 사용한 플로우 셀이 없는 경우 사용한 플로우 셀을 장착합니다. **Load**(장착)를 선택하고 **Next**(다음)를 선택합니다.

2 폐시약 용기를 제거하고 해당 표준에 따라 내용물을 폐기합니다.

경고
이 시약에는 생식계에 영향을 미칠 수 있는 독성 지방족 아마이드인 포름아마이드가 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 현지 정부 안전 표준에 따라 폐기하시기 바랍니다. 환경, 건강 및 안전 정보는 support.illumina.com/sds.html에서 본 키트에 관한 SDS를 참조하십시오.

3 빈 폐시약 용기를 완충제 부분에 멈출 때까지 밀어 넣습니다.

4 이전 실행에서 사용한 완충제 카트리지가 있으면 제거합니다.

5 세척액이 포함된 완충제 세척 카트리지를 장착합니다.

6 이전 실행에서 사용한 시약 카트리지가 있으면 제거합니다.

7 시약 세척 카트리지를 장착합니다.

8 **Next**(다음)를 선택합니다. 세척 전 검사가 자동으로 시작됩니다.

세척 시작

1 **Start**(시작)를 선택합니다.

2 세척이 완료되면 **Home**(홈)을 선택합니다.

세척 이후

세척 이후에는 sipper를 아래쪽 위치에 그대로 둬 시스템에 공기가 유입되지 않도록 합니다. 다음 실행을 수행할 때까지 카트리지를 제자리에 둡니다.

소프트웨어 업데이트

소프트웨어 업데이트는 System Suite라고 하는 소프트웨어 번들에 패키징되어 있는데, 여기에 포함된 소프트웨어는 다음과 같습니다.

- NCS(NextSeq 제어 소프트웨어)
- NextSeq 레시피
- RTA v2
- NSS(NextSeq 서비스 소프트웨어)
- SAV(시퀀싱 분석 뷰어)
- BaseSpace Broker

인터넷에 연결하여 자동으로, 또는 네트워크나 USB 위치에서 수동으로 소프트웨어를 업데이트할 수 있습니다.

- **Automatic updates**(자동 업데이트)—기기가 인터넷에 액세스된 네트워크에 연결되어 있으면 업데이트를 사용할 수 있을 때 Home(홈) 화면의 Manage Instrument(기기 관리) 버튼에 경보 아이콘이 나타납니다.
- **Manual updates**(수동 업데이트)—Illumina 웹사이트의 NextSeq 550 지원 페이지에서 System Suite 설치 프로그램을 다운로드합니다.

자동 소프트웨어 업데이트

1. **Manage Instrument**(기기 관리)를 선택합니다.
2. **Software Update**(소프트웨어 업데이트)를 선택합니다.
3. **Install the update already downloaded from BaseSpace**(BaseSpace에서 이미 다운로드한 업데이트 설치)를 선택합니다.
4. **Update**(업데이트)를 선택하여 업데이트를 시작합니다. 명령을 확인하는 대화상자가 열립니다.
5. 다음과 같은 설치 마법사의 메시지를 따릅니다.
   a. 라이선스 계약에 동의합니다.
   b. 릴리스 정보를 검토합니다.
   c. 업데이트에 포함된 소프트웨어 목록을 검토합니다.

   업데이트가 완료되면 제어 소프트웨어가 자동으로 다시 시작됩니다.

참고
펌웨어 업데이트가 포함된 경우에는 펌웨어가 업데이트된 후 시스템을 자동으로 다시 시작해야 합니다.

수동 소프트웨어 업데이트

1. Illumina 웹사이트에서 System Suite 설치 프로그램을 다운로드하여 네트워크 위치에 저장합니다.
   또는 소프트웨어 설치 파일을 휴대용 USB 드라이브에 복사합니다.
2. **Manage Instrument**(기기 관리)를 선택합니다.
3. **Software Update**(소프트웨어 업데이트)를 선택합니다.
4. **Manually install the update from the following location**(다음 위치에서 수동으로 업데이트 설치)을 선택합니다.
5. **Browse**(찾아보기)를 선택하여 소프트웨어 설치 파일의 위치를 지정한 다음, **Update**(업데이트)를 선택합니다.

6 다음과 같은 설치 마법사의 메시지를 따릅니다.

a 라이선스 계약에 동의합니다.
b 릴리스 정보를 검토합니다.
c 업데이트에 포함된 소프트웨어 목록을 검토합니다.

업데이트가 완료되면 제어 소프트웨어가 자동으로 다시 시작됩니다.

참고
펌웨어 업데이트가 포함된 경우에는 펌웨어가 업데이트된 후 시스템을 자동으로 다시 시작해야 합니다.

기기 종료

1 **Manage Instrument**(기기 관리)를 선택합니다.

2 **System Power Options**(시스템 전원 옵션)를 선택합니다.

3 **Shut Down**(종료)을 선택합니다.
Shut Down(종료) 명령을 선택하면 안전하게 소프트웨어가 종료되고 기기의 전원이 꺼집니다. 60초 이상 기다렸다가 기기를 다시 켭니다.

주의
기기를 재배치하지 ***마십시오***. 기기를 잘못 이동하면 광학 배열에 영향을 미치며 데이터 무결성이 손상될 수 있습니다. 기기를 다시 배치해야 할 경우 Illumina 담당자에게 문의하십시오.

자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR

문제 해결

소개 50
문제 해결 파일 51
자동 검사 오류 해결 53
폐시약 용기가 가득 참 55
재혼성화 작업흐름 56
BeadChip 및 스캔 오류 58
Custom 레시피 및 레시피 폴더 60
시스템 검사 61
RAID 오류 메시지 63
시스템 설정 구성 64

소개

기술 관련 문의 사항이 있는 경우 Illumina 웹사이트의 NextSeq 550 지원 페이지를 방문하시기 바랍니다. 지원 페이지에서 설명서, 다운로드, 자주 묻는 질문과 답변에 액세스할 수 있습니다.

MyIllumina 계정에 로그인하여 지원 게시판에 액세스하십시오.

실행 품질이나 성능 문제는 Illumina 기술 지원 부서에 문의하시기 바랍니다. 85페이지의 *기술 지원*을 참조하십시오.

문제를 수월하게 해결할 수 있도록 BaseSpace의 실행 요약 링크를 Illumina 기술 지원 부서와 공유하는 것이 좋습니다.

문제 해결 파일

Illumina 기술 지원 담당자는 문제를 해결하기 위해 실행별 파일 또는 스캔별 파일의 복사본을 요청할 수 있습니다. 일반적으로 문제 해결에 사용되는 파일은 다음과 같습니다.

시퀀싱 실행 파일 문제 해결

주요 파일	폴더	설명
실행 정보 파일 (RunInfo.xml)	루트 폴더	다음과 같은 정보를 포함합니다. · 실행 이름 · 실행의 주기 수 · 각 리드의 주기 수 · 리드가 인덱스 리드인지 여부 · 플로우 셀의 스와스(swath) 및 타일 수
실행 매개변수 파일 (RunParameters.xml)	루트 폴더	실행 매개변수 및 실행 컴포넌트에 대한 정보를 포함합니다. 정보에는 RFID, 일련 번호, 파트 번호 및 유효 기간이 포함됩니다.
RTA 구성 파일 (RTAConfiguration.xml)	Data₩Intensities	실행에 대한 RTA 구성 설정을 포함합니다. RTAConfiguration.xml 파일은 실행이 시작될 때 생성됩니다.
InterOp 파일(*.bin)	InterOp	시퀀싱 분석 뷰어에 사용되는 이진 보고 파일입니다. InterOp 파일은 실행 과정에 걸쳐 업데이트됩니다.
로그 파일	로그	로그 파일은 주기마다 동안 기기에서 수행되는 각 단계를 설명하고, 실행에 사용되는 소프트웨어 및 펌웨어 버전이 표시됩니다. [InstrumentName]_CurrentHardware.csv라는 파일에는 기기 컴포넌트의 일련 번호가 표시됩니다.
오류 로그 파일 (*ErrorLog*.txt)	RTA 로그	RTA 오류의 로그입니다. 오류 로그 파일은 오류가 발생할 때마다 업데이트됩니다.
글로벌 로그 파일 (*GlobalLog*.tsv)	RTA 로그	모든 RTA 이벤트의 로그입니다. 글로벌 로그 파일은 실행 과정에서 업데이트됩니다.
레인 로그 파일 (*LaneLog*.txt)	RTA 로그	RTA 처리 이벤트의 로그입니다. 레인 로그 파일은 실행 과정에서 업데이트됩니다.

RTA 오류

RTA 오류를 해결하려면 먼저 RTALogs 폴더에 저장된 RTA 오류 로그를 확인합니다. 실행이 성공한 경우에는 이 파일이 없습니다. Illumina 기술 지원 부서에 문제를 보고할 때 이 오류 로그를 포함해야 합니다.

배열 스캔 파일 문제 해결

주요 파일	폴더	설명
스캔 매개변수 파일 (ScanParameters.xml)	루트 폴더	스캔 매개변수에 대한 정보를 포함합니다. 정보에는 스캔 날짜, BeadChip 바코드, 클러스터 파일 위치 및 매니페스트 파일 위치가 포함됩니다.
로그 파일	로그	로그 파일은 스캔하는 동안 기기에서 수행된 각 단계를 설명합니다.
메트릭 파일	[Barcode]	메트릭은 샘플 메트릭 및 섹션 메트릭으로 제공됩니다. **[barcode]_sample_metrics.csv**—각 샘플과 채널(빨간색, 녹색)에 대해 Percent Off Image, Percent Outlier, P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev 및 Min Registration Score가 열거됩니다. **[barcode]_section_metrics.csv**—각 섹션과 타일에 대해 Laser Z-position, Through Focus Z-position, Red FWHM, Green FWHM, Red Avg Pixel Intensity, Green Avg Pixel Intensity, Red Registration Score 및 Green Registration Score가 열거됩니다.
재스캔 파일	[Barcode]	**[barcode]_rescan.flowcell**—재스캔하기 위해 조정된 타일 위치가 열거되며, 여기에는 증가된 타일 간 중첩 부분이 포함됩니다.

자동 검사 오류 해결

자동 검사 중에 오류가 발생하는 경우 다음 권장 조치를 통해 오류를 해결합니다. 시퀀싱과 배열 스캔은 자동 검사가 각기 다릅니다.

시퀀싱 실행 검사

실행 전 검사에 실패하면 시약 카트리지 RFID가 잠기지 않고 후속 실행에 사용될 수 있습니다. 그러나 RFID는 알루미늄 포장지에 구멍이 뚫리면 잠깁니다.

시스템 검사	권장 조치
도어 닫힘	부분 도어가 닫혀 있는지 확인합니다.
소모품 장착	소모품 센서는 등록되지 않습니다. 각 소모품이 제대로 장착되어 있는지 확인합니다. Run Setup(실행 설정) 화면에서 **Back(뒤로)**을 선택하여 장착 단계로 돌아가 실행 설정을 반복합니다.
필수 소프트웨어	소프트웨어의 중요 컴포넌트가 누락되어 있습니다. 수동 소프트웨어 업데이트를 수행하여 모든 소프트웨어 컴포넌트를 복원합니다.
기기 디스크 공간	기기 하드 드라이브의 디스크 공간이 부족하여 실행을 수행할 수 없습니다. 이전 실행의 데이터가 전송되지 않았을 수 있습니다. 기기 하드 드라이브에서 실행 데이터를 지웁니다.
네트워크 연결	네트워크 연결이 중단되었습니다. 네트워크 상태와 물리적 네트워크 연결을 확인합니다.
네트워크 디스크 공간	BaseSpace 계정 또는 네트워크 서버가 가득 찼습니다.

온도	권장 조치
온도	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
온도 센서	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
팬	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.

이미지 생성 시스템	권장 조치
이미지 생성 제한	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
Z 단계 및 해결	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
비트 오류율	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
플로우 셀 등록	플로우 셀이 제대로 장착되지 않았을 수 있습니다. · Run Setup(실행 설정) 화면에서 **Back(뒤로)**을 선택하여 플로우 셀 단계로 돌아갑니다. 이미지 생성 부분 도어가 열립니다. · 플로우 셀을 분리했다가 다시 장착하여 제대로 장착되었는지 확인합니다.

시약 공급	권장 조치
밸브 응답	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
펌프	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
완충제 장치	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
폐시약 비우기	폐시약 용기를 비우고 빈 용기를 다시 장착합니다.

배열 스캔 검사

시스템 검사	권장 조치
도어 닫힘	부분 도어가 닫혀 있는지 확인합니다.
소모품 장착	소모품 센서는 등록되지 않습니다. 각 소모품이 제대로 장착되어 있는지 확인합니다. Run Setup(실행 설정) 화면에서 **Back**(뒤로)을 선택하여 장착 단계로 돌아가 실행 설정을 반복합니다.
필수 소프트웨어	소프트웨어의 중요 컴포넌트가 누락되어 있습니다. 수동 소프트웨어 업데이트를 수행하여 모든 소프트웨어 컴포넌트를 복원합니다.
인풋 파일 확인	클러스터 파일과 매니페스트 파일의 경로가 올바른지, 파일이 있는지 확인합니다.
기기 디스크 공간	기기 하드 드라이브의 디스크 공간이 부족하여 실행을 수행할 수 없습니다. 이전 실행의 데이터가 전송되지 않았을 수 있습니다. 기기 하드 드라이브에서 실행 데이터를 지웁니다.
네트워크 연결	네트워크 연결이 중단되었습니다. 네트워크 상태와 물리적 네트워크 연결을 확인합니다.
네트워크 디스크 공간	BaseSpace 계정 또는 네트워크 서버가 가득 찼습니다.

이미지 생성 시스템	권장 조치
이미지 생성 제한	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
Z 단계 및 해결	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
비트 오류율	Illumina 기술 지원 부서에 문의합니다.
자동 중앙 정렬	BeadChip 어댑터를 분리합니다. BeadChip이 어댑터에 장착되었는지 확인하고 어댑터를 다시 장착하십시오.

폐시약 용기가 가득 참

항상 폐시약 용기를 비운 다음 실행을 시작합니다.

폐시약 용기를 비우지 않고 실행을 시작할 경우 용기가 가득 차면 시스템 센서가 소프트웨어에서 실행을 일시 중지하도록 트리거합니다. 클러스터링, 페어드 엔드 재합성 또는 자동 실행 후 세척 중에는 시스템 센서가 실행을 일시 중지할 수 없습니다.

실행이 일시 중지되면 대화상자가 열리면서 Sipper를 올리고 가득 찬 용기를 비울 수 있는 옵션이 포함된 대화상자가 열립니다.

폐시약 용기 비우기

1. **Raise Sippers**(Sipper 올리기)를 선택합니다.
2. 폐시약 용기를 꺼내서 내용물을 적절히 폐기합니다.
3. 빈 용기를 완충제 부분에 다시 장착합니다.
4. **Continue**(계속)를 선택합니다. 실행이 자동으로 다시 시작됩니다.

재혼성화 작업흐름

처음 일부 주기 동안 생성된 메트릭이 2500보다 낮은 인텐시티를 보일 경우 재혼성화 실행이 필요할 수 있습니다. 일부 낮은 다이버시티 라이브러리는 1000보다 낮은 인텐시티를 보일 수 있습니다. 이러한 수치는 예상된 것이며 재혼성화로 해결할 수 없습니다.

참고
End Run(실행 종료) 명령은 최종 명령입니다. 실행을 다시 시작할 수 없고, 실행 소모품을 다시 사용할 수 없으며, 실행의 시퀀싱 데이터가 저장되지 않습니다.

실행을 종료하면 실행이 끝나기 전에 다음과 같은 단계가 수행됩니다.

- 플로우 셀이 안전 상태가 됩니다.
- 나중에 실행할 수 있도록 플로우 셀 RFID의 잠금을 해제합니다.
- 플로우 셀에 재혼성화 유효 기간을 지정합니다.
- 완료된 주기에 대한 실행 로그를 기록합니다. 지연되는 것은 정상적인 동작입니다.
- 자동 실행 후 세척을 건너뜁니다.

재혼성화 실행을 시작하면 실행을 수행하기 위해 다음과 같은 단계가 수행됩니다.

- 고유한 실행 이름에 따라 실행 폴더를 만듭니다.
- 플로우 셀 재혼성화 날짜가 만료되지 않았는지 확인합니다.
- 시약을 프라이밍합니다. 지연되는 것은 정상적인 동작입니다.
- 클러스터링 단계를 건너뜁니다.
- 이전 리드 1 프라이머를 제거합니다.
- 새로운 리드 1 프라이머를 혼성화합니다.
- 리드 1까지 계속하고 지정된 실행 매개변수에 따라 나머지 실행 부분을 계속합니다.

재혼성화 실행을 끝내는 시점

다음과 같은 시점에 실행을 끝낼 경우에만 나중에 재혼성화를 수행할 수 있습니다.

- **5주기 후**—템플레이트 등록 후에 인텐시티가 나타납니다. 이를 위해서는 시퀀싱의 처음 5주기가 필요합니다. 1주기 후에 실행을 끝내도 안전하지만 5주기 후에 종료하는 것이 좋습니다. 클러스터 생성 중에는 실행을 끝내지 마십시오.
- **리드 1 또는 인덱스 1 리드**—페어드 엔드 재합성이 시작되기 ***전에*** 실행을 끝냅니다. 페어드 엔드 재합성이 시작된 후에는 차후 재혼성화용으로 플로우 셀을 저장할 수 없습니다.

필수 소모품

재혼성화를 실행하려면 실행 중지 시기에 관계없이 새로운 NextSeq 시약 카트리지와 완충제 카트리지가 필요합니다.

현재 실행 종료

1. **End Run**(실행 종료)을 선택합니다. 명령을 확인하라는 메시지가 표시되면 **Yes**(예)를 선택합니다.
2. 플로우 셀을 저장할지 묻는 메시지가 표시되면 **Yes**(예)를 선택합니다. 재혼성화 유효 기간을 적어 둡니다.
3. 재혼성화 실행을 설정할 준비가 될 때까지 저장된 플로우 셀을 꺼내 2℃~8℃ 상태에서 보관합니다.

참고
플로우 셀은 건조제 ***없이*** 뚜껑 달린 플라스틱 케이스에 담아 2℃~8℃로 최대 7일 동안 보관할 수 있습니다. 최상의 결과를 얻으려면 저장된 플로우 셀을 3일 이내에 재혼성화하십시오.

수동 세척 수행

1 Home(홈) 화면에서 **Perform Wash**(세척 수행)를 선택합니다.

2 Wash Selection(세척 선택) 화면에서 **Manual Post-Run Wash**(수동 실행 후 세척)를 선택합니다. 43페이지의 *수동 세척 수행*을 참조하십시오.

참고
중지된 실행에서 시약 카트리지와 완충제 카트리지를 제거하지 않은 경우 수동 세척에 사용할 수 있습니다. 그렇지 않은 경우에는 시약 세척 카트리지와 완충제 세척 카트리지를 사용하여 수동 세척을 수행하십시오.

BaseSpace Prep(BaseSpace 준비) 탭에서 새 실행 설정

1 기기가 BaseSpace 또는 BaseSpace Onsite용으로 구성된 경우 원래 실행과 동일한 매개변수를 사용하여 Prep(준비) 탭에서 새 실행을 설정합니다.

팁
Pools(풀) 탭을 클릭하고 해당 풀 ID를 선택하여 이전 실행 설정을 그대로 적용한 다음 새 실행에 고유한 이름을 지정하십시오.

기기에서 실행 설정

1 새 시약 카트리지를 준비합니다.

2 저장된 플로우 셀을 보관한 경우 실온에 도달할 때까지 둡니다(15~30분).

3 저장된 플로우 셀을 세척하여 장착합니다.

4 폐기물 용기를 꺼내서 내용물을 적절히 폐기한 다음 빈 용기를 다시 장착합니다.

5 새 완충제 카트리지와 시약 카트리지를 장착합니다.

6 Run Setup(실행 설정) 화면의 다음과 같은 옵션 중에서 선택합니다.
   - **BaseSpace or BaseSpace Onsite**(BaseSpace 또는 BaseSpace Onsite)—Run(실행)을 선택하고 실행 매개변수를 확인합니다.
   - **Standalone**(독립 실행형)—실행의 이름을 입력하고 원래 실행과 동일한 매개변수를 지정합니다.

7 **Next**(다음)를 선택하여 실행 전 검사를 진행하고 실행을 시작합니다.

BeadChip 및 스캔 오류

소프트웨어가 BeadChip 바코드를 읽을 수 없음

바코드 오류 대화상자가 나타나면 다음과 같은 옵션 중에서 선택합니다.

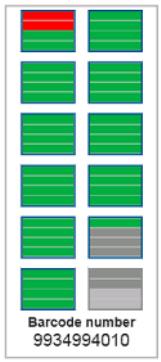
- **Rescan**(재스캔)을 선택합니다. 소프트웨어가 바코드를 다시 읽으려고 합니다.
- 이미지와 같이 텍스트 필드를 선택하고 숫자 바코드를 입력합니다. BeadChip에 따라 바코드 숫자는 최대 12자릿수로 이루어집니다. **Save**(저장)를 선택합니다. 바코드 이미지는 아웃풋 폴더에 저장됩니다.
- **Cancel**(취소)을 선택합니다. BeadChip 어댑터를 분리할 수 있게 이미지 생성 부분 도어가 열립니다.

BeadChip 스캔 실패

스캔한 후에 이미지가 등록됩니다. 등록하면 스캔한 이미지의 위치가 비드 맵 또는 DMAP 폴더에 제공된 정보와 상호 연관되어 비드가 식별됩니다.

등록에 실패한 섹션은 BeadChip 이미지에서 빨간색으로 표시됩니다.

그림 27 실패한 섹션을 표시하는 BeadChip



스캔이 완료되고 스캔 데이터가 아웃풋 폴더에 기록되면 Rescan(재스캔) 버튼이 활성화됩니다.

Rescan(재스캔)을 선택하면 소프트웨어가 다음과 같은 단계를 수행합니다.

- 증가된 타일 간 중첩 부분을 사용하여 실패한 섹션이 포함된 샘플을 재스캔합니다.
- 원본 아웃풋 폴더에 아웃풋 파일을 생성합니다.
- 실패한 섹션에 대한 이전 아웃풋 파일을 덮어씁니다.
- 백그라운드에서 각각의 재스캔 작업에 대한 스캔 카운터가 1씩 증가됩니다. 소프트웨어가 아웃풋 폴더의 이름을 변경하지는 않습니다.

재스캔 또는 새 스캔 시작

1. **Rescan**(재스캔)을 선택하여 실패한 섹션이 포함된 샘플을 스캔합니다.
2. 스캔에 계속 실패하면 스캔을 종료합니다.
3. BeadChip과 어댑터를 제거하고 BeadChip에 먼지나 잔여물이 있는지 검사합니다. 캔 공기 또는 기타 압축 먼지 제거 방법을 사용하여 잔여물을 제거합니다.

4 BeadChip을 다시 장착하고 새 스캔을 시작합니다.
새 스캔이 시작되면 소프트웨어가 다음 단계를 수행합니다.
- 전체 BeadChip을 스캔합니다.
- 새 아웃풋 폴더에 아웃풋 파일을 생성합니다.
- 마지막 재스캔 작업의 스캔 수에 따라 스캔 카운터가 1씩 증가됩니다.

매니페스트 파일 및 클러스터 파일 교체

1 사용 중인 BeadChip의 Illumina 지원 페이지(support.illumina.com)로 이동하여 **Downloads**(다운로드) 탭을 클릭합니다.

2 교체하거나 업데이트할 파일을 다운로드해서 원하는 네트워크 위치에 복사합니다.

참고
NextSeq 550 시스템과 호환되는 매니페스트 파일 및 클러스터 파일을 선택해야 합니다. 호환되는 파일은 파일 이름에 **NS550**이 포함되어 있습니다.

3 위치가 변경된 경우에만 BeadChip Scan Configuration(BeadChip 스캔 구성) 화면에서 다음과 같이 위치를 업데이트합니다.

a NCS Home(NCS 홈) 화면에서 **Manage Instrument**(기기 관리)를 선택합니다.
b **System Configuration**(시스템 구성)을 선택합니다.
c **BeadChip Scan Configuration**(BeadChip 스캔 구성)을 선택합니다.

4 **Browse**(찾아보기)를 선택한 다음, 교체하거나 업데이트한 파일의 위치를 지정합니다.

Custom 레시피 및 레시피 폴더

원본 레시피를 수정하지 마십시오. 항상 새 이름을 지정하여 원본 레시피의 복사본을 만드십시오. 원본 레시피를 수정하면 이후 업데이트 시 소프트웨어 업데이트 프로그램이 더 이상 레시피를 인식하지 못하기 때문에 최신 버전이 설치되지 않습니다.

사용자 지정 레시피를 해당 레시피 폴더에 저장합니다. 레시피 폴더는 다음과 같이 구성됩니다.

- **Custom**(사용자 지정)
  - **High**(높음)—High Output 키트에 이용되는 사용자 지정 레시피입니다.
  - **Mid**(중간)—Mid Output 키트에 이용되는 사용자 지정 레시피입니다.
- **High**(높음)—High Output 키트에 이용되는 원본 레시피입니다.
- **Mid**(중간)—Mid Output 키트에 이용되는 원본 레시피입니다.
- **Wash**(세척)—수동 세척 레시피를 포함합니다.

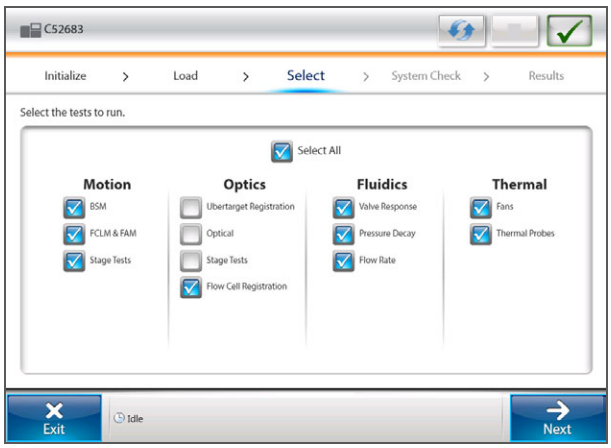
시스템 검사

정상 작동 시 또는 기기 관리 시에는 시스템 검사를 수행할 필요가 없습니다. 그러나 Illumina 기술 지원 담당자가 문제를 해결하기 위해 귀하에게 시스템 검사를 수행하도록 요청할 수도 있습니다.

참고
기기 세척이 예정된 경우 시스템 검사를 시작하기 전에 세척을 수행합니다.

시스템 검사가 자동으로 시작되면 제어 소프트웨어가 닫히고 NSS(NextSeq 서비스 소프트웨어)가 실행됩니다. 서비스 소프트웨어가 실행되고 고급 장착 옵션을 사용하도록 구성된 Load(장착) 화면이 열립니다.

그림 28 사용 가능한 시스템 검사



Select(선택) 화면에서 비활성 체크박스는 Illumina 현장 담당자의 지원이 필요한 테스트임을 나타냅니다.

시스템 검사 수행

1 Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Check(시스템 검사)**를 선택합니다. 제어 소프트웨어를 닫으라는 메시지가 표시되면 **Yes(예)**를 선택합니다.

2 다음과 같이 소모품을 장착합니다.

   a 사용한 플로우 셀이 아직 기기에 없는 경우 사용한 플로우 셀을 장착합니다.
   b 폐시약 용기를 비우고 빈 시약 용기를 기기에 다시 장착합니다.
   c 가운데 저장소에 120ml의 일반 실험실용 순수가 포함된 완충제 세척 카트리지를 장착합니다.
   d 시약 세척 카트리지를 장착합니다. 시약 세척 카트리지가 비어 있고 깨끗한지 확인합니다.

3 **Load(장착)**를 선택합니다. 플로우 셀과 시약 세척 카트리지가 제자리로 이동됩니다. **Next(다음)**를 선택합니다.

4 **Next(다음)**를 선택합니다. 시스템 검사가 시작됩니다.

5 [선택사항] 시스템 검사가 완료되면 검사 이름 옆의 **View(보기)**를 선택하여 각 검사와 연관된 값을 확인합니다.

6 **Next(다음)**를 선택합니다. 시스템 검사 보고서가 열립니다.

7 **Save(저장)**를 선택하여 보고서를 zip 파일로 저장합니다. 파일을 저장할 네트워크 위치를 지정합니다.

8 작업을 마치면 **Exit(종료)**를 선택합니다.

9 서비스 소프트웨어를 닫고 제어 소프트웨어를 다시 시작하라는 메시지가 표시되면 **Yes(예)**를 선택합니다. 제어 소프트웨어가 자동으로 다시 시작됩니다.

동작 검사

시스템 검사	설명
BSM	BSM(Bottle Straw Mechanism)의 게인 및 거리를 검사하여 모듈이 제대로 작동하는지 확인합니다.
FCLM 및 FAM	FCLM(Flow Cell Load Mechanism)과 FAM(Fluid Automation Module)의 게인 및 거리를 검사하여 모듈이 제대로 작동하는지 확인합니다.
대 테스트	XY–대와 6개의 Z–대(카메라당 1개)에 대한 이동 제한 및 성능을 검사합니다.

광학 검사

시스템 검사	설명
플로우 셀 등록	광학 평면에서의 플로우 셀 기울기를 측정하고, 카메라 기능을 테스트하며, 이미지 생성 모듈을 테스트하고, 플로우 셀이 올바른 이미지 생성 위치에 등록되었는지 확인합니다.

플루이딕 검사

시스템 검사	설명
밸브 응답	밸브 및 펌프 이동의 정확성을 검사하고 펌프 시린지 이동 범위를 테스트합니다.
압력 감소	밀봉된 플루이딕 시스템의 누수율을 검사하여 플로우 셀이 시퀀싱 위치에 올바르게 장착되었는지 확인합니다.
플로우 속도	시약 라인에서 공기가 있는지 감지하는 데 사용되는 방울 센서의 기능을 검사합니다. 플로우 속도를 측정하여 폐색 또는 누수를 확인합니다.

열 검사

시스템 검사	설명
팬	PPM(분당 펄스 수) 단위의 시스템 팬 속도를 검사하여 팬이 제대로 작동하는지 확인합니다. 작동하지 않는 팬은 음수 값을 반환합니다.
열 프로브	각 열 센서의 평균 온도를 검사합니다. 작동하지 않는 열 센서는 음수 값을 반환합니다.

RAID 오류 메시지

NextSeq 컴퓨터에는 하드 드라이브 2개가 탑재되어 있습니다. 하드 드라이브 하나를 시작하는 데 실패하면 RAID 오류 메시지가 생성되고 Illumina 기술 지원 부서에 문의하라는 내용이 시스템에서 표시됩니다. 일반적으로 하드 드라이브를 교체해야 합니다.

실행 설정 단계와 정상적인 작동을 계속할 수 있습니다. 이 메시지의 목적은 정상적인 기기 작동이 중단되는 상황이 발생하지 않도록 서비스를 미리 예약하는 데 있습니다. 계속하려면 **Acknowledge**(확인)를 선택한 다음 **Close**(닫기)를 선택합니다.

시스템 설정 구성

시스템은 설치 중에 구성됩니다. 그렇지만 변경해야 하거나 시스템을 다시 구성해야 할 경우 시스템 구성 옵션을 사용하십시오.

- **Network Configuration**(네트워크 구성)—IP 주소 설정, DNS(도메인 이름 서버) 주소, 컴퓨터 이름 및 도메인 이름에 대한 옵션을 제공합니다.
- **BaseSpace Configuration**(BaseSpace 구성)—기본값 BaseSpace 로그인 및 기기 상태 보고 관련 설정, BaseSpace에서의 실행 모니터링, 독립 실행형 모드, BaseSpace, BaseSpace Onsite 등의 분석 방법에 대한 옵션을 제공합니다.
- **BeadChip Scan Configuration**(BeadChip 스캔 구성)—기본값 DMAP 폴더 위치, 아웃풋 폴더 위치, 저장된 이미지의 파일 형식 및 아웃풋 파일 유형을 지정하는 옵션을 제공합니다.

네트워크 구성 설정

1 Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Configuration**(시스템 구성)을 선택합니다.

2 **Network Configuration**(네트워크 구성)을 선택합니다.

3 **Obtain an IP address automatically**(자동으로 IP 주소 받기)를 선택하여 DHCP 서버에서 IP 주소를 받습니다.

참고
DHCP(Dynamic Host Configuration Protocol)는 네트워크 구성 매개변수를 동적으로 배포하기 위해 IP 네트워크에서 사용하는 표준 네트워크 프로토콜입니다.

또는 **Use the following IP address**(다음 IP 주소 사용)를 선택하여 다음과 같이 기기를 다른 서버에 수동으로 연결합니다. 네트워크 관리자에게 시설에 해당하는 주소를 문의합니다.

- IP 주소를 입력합니다. IP 주소는 점으로 구분된 일련의 숫자 4개입니다(예: 168.62.20.37).
- IP 네트워크의 하위 분류인 서브넷 마스크를 입력합니다.
- 인터넷에 연결된 네트워크의 라우터인 기본값 게이트웨이를 입력합니다.

4 **Obtain a DNS address automatically**(자동으로 DNS 주소 받기)를 선택하여 기기를 IP 주소와 연결된 도메인 이름 서버에 연결합니다.

또는 **Obtain a DNS address automatically**(자동으로 DNS 주소 받기)를 선택하여 다음과 같이 기기를 도메인 이름 서버에 수동으로 연결합니다.

- 기본 설정 DNS 주소를 입력합니다. DNS 주소는 도메인 이름을 IP 주소로 전환하는 데 사용되는 서버 이름입니다.
- 대체 DNS 주소를 입력합니다. 대체 주소는 기본 설정 DNS에서 특정 도메인 이름을 IP 주소로 전환할 수 없는 경우에 사용됩니다.

5 **Save**(저장)를 선택하여 Computer(컴퓨터) 화면으로 이동합니다.

참고
기기 컴퓨터 이름은 제조 시 기기 컴퓨터에 할당되는 이름입니다. 컴퓨터 이름을 변경하면 연결에 영향을 미쳐 네트워크 관리자의 도움이 필요할 수 있습니다.

6 다음과 같이 기기 컴퓨터를 도메인 또는 작업 그룹에 연결합니다.

- **인터넷에 연결된 기기**—**Member of domain**(도메인 구성원)을 선택하고 시설의 인터넷 연결과 관련된 도메인 이름을 입력합니다. 도메인을 변경하려면 관리자의 사용자 이름과 암호가 필요합니다.
- **인터넷에 연결되지 않은 기기**—**Member of work group**(작업 그룹 구성원)을 선택하고 작업 그룹 이름을 입력합니다. 시설에 고유한 작업 그룹 이름을 사용합니다.

7 **Save**(저장)를 선택합니다.

BaseSpace 구성 설정

1 Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Configuration**(시스템 구성)을 선택합니다.

2 **BaseSpace Configuration**(BaseSpace 구성)을 선택합니다.

3 다음 옵션 중에서 선택하여 후속 분석을 위해 데이터를 전송할 위치를 지정합니다.

- 시퀀싱 데이터를 Illumina BaseSpace로 보내려면 **BaseSpace**를 선택합니다. [선택사항] **Output Folder**(아웃풋 폴더) 체크박스를 선택하고 **Browse**(찾아보기)를 선택한 후 BaseSpace 외에 BCL 파일을 저장할 두 번째 네트워크 위치를 지정합니다.
- **BaseSpace Onsite**를 선택합니다. Server Name(서버 이름) 필드에 BaseSpace Onsite 서버의 전체 경로를 입력합니다. [선택사항] **Output Folder**(아웃풋 폴더) 체크박스를 선택하고 **Browse**(찾아보기)를 선택한 후 BaseSpace Onsite 서버 외에 BCL 파일을 저장할 두 번째 네트워크 위치를 지정합니다.
- 데이터를 네트워크 위치에만 저장하려면 **Standalone instrument**(독립 실행형 기기)를 선택합니다. **Browse**(찾아보기)를 선택하여 기본 설정 네트워크 위치를 지정합니다. 제어 소프트웨어가 아웃풋 폴더 이름을 자동으로 생성합니다.
- [선택사항] BaseSpace에서 시각화 도구를 사용하여 실행을 모니터링하려면 **Use Run Monitoring**(실행 모니터링 사용)을 선택합니다. BaseSpace에 로그인해야 하고 인터넷에 연결되어 있어야 합니다.

4 **Save**(저장)를 클릭하여 BaseSpace 화면으로 이동합니다.

5 BaseSpace 또는 BaseSpace Onsite를 선택한 경우 다음과 같이 BaseSpace 매개변수를 설정합니다.

- BaseSpace에 기기를 등록하려면 BaseSpace **사용자 이름**과 **암호**를 입력합니다.
- **Use default login and bypass the BaseSpace login screen**(기본 로그인을 사용하고 BaseSpace 로그인 화면 무시)을 선택하여 등록된 사용자 이름과 암호를 기본값 로그인으로 설정합니다. 이 설정을 사용하면 실행 설정 중에 BaseSpace 화면을 건너뜁니다.

6 BaseSpace를 선택한 경우 **Send instrument health information to Illumina**(Illumina에 기기 상태 정보 보내기)를 선택하여 로그 파일을 Illumina에 보냅니다. BaseSpace Onsite에서는 이 옵션을 사용할 수 없습니다.

7 **Save**(저장)를 선택합니다.

BeadChip 스캔 구성

1 Manage Instrument(기기 관리) 화면에서 **System Configuration**(시스템 구성)을 선택합니다.

2 **BeadChip Scan Configuration**(BeadChip 스캔 구성)을 선택합니다.

3 기본값 DMAP 폴더 위치를 지정하려면 **Browse**(찾아보기)를 선택하고 내부 네트워크의 기본 설정 폴더 위치를 지정합니다.

> 참고
> 매번 스캔하기 전에 DMAP 내용을 다운로드하여 이 위치로 복사합니다. DMAP 내용은 각 BeadChip에 필요하며 BeadChip 바코드마다 고유합니다.

4 기본값 아웃풋 위치를 지정하려면 **Browse**(찾아보기)를 선택하고 내부 네트워크의 기본 설정 위치를 지정합니다.

5 저장된 이미지의 이미지 파일 형식을 선택합니다. 기본값 이미지 형식은 **JPG**입니다.

6 스캔 데이터의 아웃풋 파일 형식을 선택합니다. 기본값 아웃풋 파일 형식은 **GTC 전용**입니다.

7 **Save**(저장)를 선택합니다.

8 Scan Map(스캔 맵) 화면에서 각 BeadChip 유형에 대한 매니페스트 파일과 클러스터 파일의 전체 경로를 지정합니다. 각 파일 유형에서 **Browse**(찾아보기)를 선택하고 이러한 파일이 포함된 폴더 위치를 지정합니다.

실시간 분석

실시간 분석 개요 68
실시간 분석 작업흐름 70

실시간 분석 개요

NextSeq 550에서는 RTA v2라는 RTA(실시간 분석) 소프트웨어 구현을 사용합니다. RTA v2는 기기 컴퓨터에서 실행되고 이미지에서 인텐시티를 추출하며 base calls를 수행하고 base calls에 quality score를 지정합니다. RTA v2와 제어 소프트웨어는 웹 HTTP 인터페이스와 공유 메모리 파일을 통해 통신합니다. RTA v2가 종료된 경우 처리가 다시 시작되지 않고 실행 데이터가 저장되지 않습니다.

참고
역다중화 성능이 계산되지 않습니다. 따라서 SAV(시퀀싱 분석 뷰어)의 Index(인덱스) 탭이 채워지지 않습니다.

RTA v2 인풋

RTA v2에는 다음과 같은 처리 인풋이 필요합니다.

- 로컬 시스템 메모리에 포함된 타일 이미지
- 실행 시작 시 자동으로 생성되고 실행 이름, 주기 수, 리드의 인덱스 여부 및 플로우 셀의 타일 수를 제공하는 RunInfo.xml
- XML 형식의 소프트웨어 구성 파일인 RTA.exe.config

RTA v2는 옵션 아웃풋 폴더의 지정 여부 및 RunInfo.xml 위치에 대한 명령을 제어 소프트웨어로부터 수신합니다.

RTA v2 아웃풋 파일

각 채널에 대한 이미지가 메모리에서 타일로 전달됩니다. 타일은 카메라의 시야로 정의되는 플로우 셀의 작은 이미지 생성 구역입니다. 이러한 이미지에서 이 소프트웨어는 quality score가 매겨진 base calls 파일과 필터 파일 세트로 아웃풋을 생성합니다. 다른 모든 파일은 아웃풋 파일을 지원합니다.

파일 유형	설명
base calls 파일	분석된 각 타일은 레인 및 주기별로 집계되는 base calls(*.bcl) 파일에 포함됩니다. 집계된 base calls 파일에는 해당 레인의 모든 클러스터에 대한 base calls와 관련 quality score가 포함됩니다.
필터 파일	각 타일은 레인당 하나의 필터(*.filter) 파일로 집계되는 필터 정보를 생성합니다. 필터 파일은 클러스터가 필터를 통과했는지 여부를 지정합니다.
클러스터 위치 파일	클러스터 위치(*.locs) 파일에는 타일의 모든 클러스터에 대한 X, Y 좌표가 포함됩니다. 템플레이트 생성 중에 레인당 하나의 클러스터 위치 파일이 생성됩니다.
base calls 인덱스 파일	원래 타일 정보를 보존하기 위해 레인당 하나의 base calls 인덱스(*.bci) 파일이 생성됩니다. 인덱스 파일에는 각 타일의 타일 번호와 해당 타일의 클러스터 수로 구성된 값 쌍이 포함됩니다.

아웃풋 파일은 BaseSpace에서 다운스트림을 분석하는 데 사용됩니다. 또는 FASTQ 변환용 bcl2fastq 변환 소프트웨어와 타사 분석 솔루션을 사용할 수 있습니다. NextSeq 파일을 사용하려면 bcl2fastq v2.0 이상이 필요합니다. 최신 버전의 bcl2fastq를 다운로드하려면 Illumina 웹사이트에서 NextSeq 다운로드 페이지를 방문하십시오.

RTA v2는 quality score가 매겨진 실행의 실시간 메트릭을 InterOp 파일로 제공합니다. InterOp 파일은 타일, 주기 및 리드 수준 메트릭을 포함하는 이진 아웃풋으로, SAV(시퀀싱 분석 뷰어)에서 실시간 메트릭을 보는 데 필요합니다. 최신 버전의 SAV를 다운로드하려면 Illumina 웹사이트에서 SAV 다운로드 페이지를 방문하십시오.

오류 처리

RTA v2는 로그 파일을 만들어 RTALogs 폴더에 기록합니다. 오류는 *.tsv 파일 형식의 오류 파일에 기록됩니다.

처리 종료 시 다음과 같은 로그 및 오류 파일이 최종 아웃풋 대상 위치로 전송됩니다.

- *GlobalLog*.tsv는 중요한 실행 이벤트를 요약합니다.
- *LaneNLog*.tsv는 각 레인에 대한 처리 이벤트를 열거합니다.
- *Error*.tsv는 실행 중에 발생한 오류를 열거합니다.
- *WarningLog*.tsv는 실행 중에 발생한 경고를 열거합니다.

실시간 분석 작업흐름

템플레이트 생성	클러스터 위치를 매핑합니다.
↓	
등록 및 인텐시티 추출	플로우 셀에서 각 클러스터의 위치를 기록하고 각 클러스터의 인텐시티 값을 결정합니다.
↓	
위상화 수정	위상화 및 사전 위상화의 효과를 수정합니다.
↓	
base calls	모든 클러스터의 base calls를 결정합니다.
↓	
quality score 평가	모든 base calls에 quality score를 지정합니다.

템플레이트 생성

RTA 작업흐름의 첫 번째 단계는 X/Y 좌표를 이용하여 타일에서 각 클러스터의 위치를 정의하는 템플레이트를 생성하는 것입니다.

템플레이트를 생성하려면 실행의 처음 5주기에서 가져온 이미지 데이터가 필요합니다. 타일의 마지막 템플레이트 주기에 대한 이미지가 생성된 후 템플레이트가 생성됩니다.

참고
템플레이트 생성 중에 클러스터를 감지하려면 처음 **5**주기에 G 이외의 염기가 하나 이상 있어야 합니다. 인덱스 시퀀스의 경우 RTA v2에서는 처음 **2**주기에 G 이외의 염기가 하나 이상 필요합니다.

템플레이트는 등록 및 인텐시티 추출의 후속 단계에 대한 참조로 사용됩니다. 전체 플로우 셀의 클러스터 위치는 레인당 하나의 클러스터 위치(*.locs) 파일에 기록됩니다.

등록 및 인텐시티 추출

템플레이트가 생성된 후 등록 및 인텐시티 추출이 시작됩니다.

- 등록은 템플레이트에 대한 이미지 생성의 모든 후속 주기에서 생성되는 이미지를 배열합니다.
- 인텐시티 추출에서는 지정된 이미지의 템플레이트에서 각 클러스터에 대한 인텐시티 값이 결정됩니다.

주기 내 이미지 등록에 실패할 경우 그 주기의 해당 타일에 대한 base calls가 생성되지 않습니다. SAV(시퀀싱 분석 뷰어) 소프트웨어를 사용하여 섬네일 이미지를 검사하고 등록에 실패한 이미지를 확인하십시오.

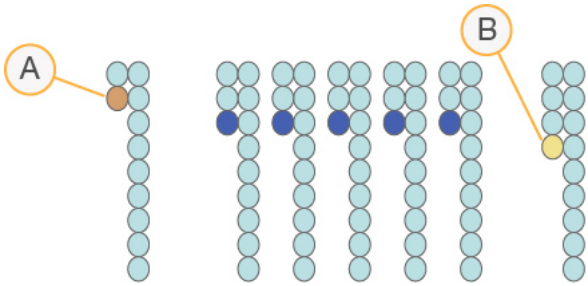
위상화 수정

시퀀싱 반응이 진행되는 동안 클러스터 내의 각 DNA 가닥이 주기당 1염기씩 연장됩니다. 가닥이 현재 결합 주기 단계를 벗어나게 되면 위상화 및 사전 위상화가 발생합니다.

- 염기가 뒤로 처질 때 위상화가 일어납니다.
- 염기가 앞서 나갈 때 사전 위상화가 일어납니다.

자료 번호 20006831
문서 번호 15069765 v02 KOR

그림 29 위상화 및 사전 위상화



A 위상화 중인 염기가 있는 리드
B 사전 위상화 중인 염기가 있는 리드

RTA v2에서는 위상화 및 사전 위상화의 효과를 수정함으로써 전체 실행 과정의 모든 주기에서 데이터 품질을 극대화합니다.

base calls

base calls에 따라 특정 주기에서 지정된 타일의 모든 클러스터에 대한 염기(A, C, G, T)가 결정됩니다. NextSeq 550에서는 두 가지 이미지(빨간색 채널에서 1개, 녹색 채널에서 1개)만으로 네 가지 DNA 염기에 대한 데이터를 인코딩하는 2채널 시퀀싱을 사용합니다.

다른 이미지와 비교하기 위해 하나의 이미지에서 인텐시티를 추출하면 각각 뉴클레오티드에 해당하는 고유한 모집단 네 개가 생성됩니다. base calls 과정에서는 각 클러스터가 속한 모집단을 결정합니다.

그림 30 클러스터 인텐시티 시각화

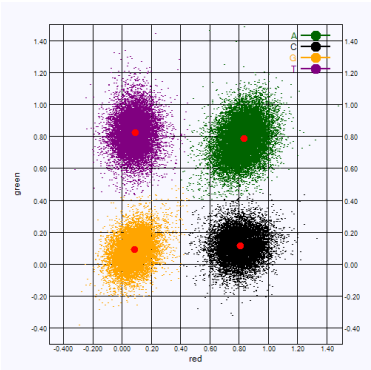


표 1 2채널 시퀀싱의 base calls

염기	빨간색 채널	녹색 채널	결과
A	1(켜짐)	1(켜짐)	빨간색 채널과 녹색 채널에 모두 인텐시티가 표시된 클러스터입니다.
C	1(켜짐)	0(꺼짐)	빨간색 채널에만 인텐시티가 표시된 클러스터입니다.
G	0(꺼짐)	0(꺼짐)	알려진 클러스터 위치에 표시된 인텐시티가 없는 클러스터입니다.
T	0(꺼짐)	1(켜짐)	녹색 채널에만 인텐시티가 표시된 클러스터입니다.

필터 통과 클러스터

실행 중에 RTA v2는 원시 데이터를 필터링하여 데이터 품질 임계값을 충족하지 않는 리드를 제거합니다. 중첩되고 품질이 낮은 클러스터가 제거됩니다.

2채널 분석의 경우 RTA v2는 모집단 기반 시스템을 사용하여 base calls의 chastity를 결정합니다. 처음 25주기에 chastity가 0.63 미만인 base calls가 1개 이하인 경우 클러스터가 필터를 통과(PF)합니다. 필터를 통과하지 않는 클러스터는 base calls되지 않습니다.

인덱싱 고려사항

base calls 인덱스 리드에 대한 처리 방법은 다른 리드 중의 base calls와 다릅니다.

인덱스 리드는 처음 2주기 중 하나에 있는 G 이외의 염기 1개 이상을 사용하여 시작해야 합니다. 인덱스 리드가 G의 2 base calls로 시작되면 신호 인텐시티가 생성되지 않습니다. 역다중화 성능을 보장하려면 처음 2주기 중 하나에 신호가 있어야 합니다.

역다중화 성능을 높이려면 모든 주기에 대해 1개 이상의 채널(가급적 양쪽 채널)에 신호를 제공하는 인덱스 시퀀스를 선택하십시오. 주기에서 G 염기만 생성하는 인덱스 조합을 피하려면 다음 지침을 따르십시오.

- 빨간색 채널—A 또는 C
- 녹색 채널—A 또는 T

이 base calls 프로세스는 로우플렉스 샘플을 분석할 때 정확도를 보장합니다.

quality score 평가

quality score(Q-점수)는 잘못된 base calls 가능성에 대한 예측값입니다. Q-점수가 높을수록 base calls의 품질이 더 높고 base calls가 정확할 확률이 더 높습니다.

Q-점수는 사소한 오류 가능성을 전달하는 간단한 방식입니다. quality score는 Q(X)로 나타내며, 여기서 X가 점수입니다. 다음 표에는 quality score와 오류 가능성 간의 관계가 나와 있습니다.

Q-점수 Q(X)	오류 가능성
Q40	0.0001(1/10,000)
Q30	0.001(1/1,000)
Q20	0.01(1/100)
Q10	0.1(1/10)

참고
quality score는 수정된 버전의 Phred 알고리즘을 기초로 평가됩니다.

quality score 평가에서는 각 base calls에 대한 예측값 세트를 계산한 다음, 예측값을 사용하여 품질 표에서 Q-점수를 조회합니다. 품질 표는 시퀀싱 플랫폼 및 화학 반응 버전의 특정 구성에 따라 생성되는 실행에 대해 가장 정확한 품질 예측을 제공하도록 만들어졌습니다.

Q-점수가 결정되면 base calls(*.bcl) 파일에 결과가 기록됩니다.

아웃풋 파일 및 폴더

시퀀싱 출력 파일 74
아웃풋 폴더 구조 시퀀싱 78
스캐닝 아웃풋 파일 79
스캐닝 아웃풋 폴더 구조 80

시퀀싱 출력 파일

파일 유형	파일 설명, 위치 및 이름
base calls 파일	분석된 각 타일은 주기마다 레인당 하나의 파일로 집계되는 base calls 파일에 포함됩니다. 집계된 파일에는 해당 레인의 모든 클러스터에 대한 base calls와 인코딩된 quality score가 포함됩니다. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]–레인당 하나의 폴더에 파일이 저장됩니다. [Cycle].bcl.bgzf, 여기서 [Cycle]은 4자리 주기 번호를 나타냅니다. base calls 파일은 블록 gzip으로 압축됩니다.
base calls 인덱스 파일	레인당 하나의 이진 인덱스 파일에 각 타일의 값 쌍(타일 번호와 타일의 클러스터 수)으로 원래 타일 정보가 나열됩니다. base calls 인덱스 파일은 해당 레인에 대해 base calls 파일이 처음 생성될 때 만들어집니다. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]–레인당 하나의 폴더에 파일이 저장됩니다. s_[Lane].bci
클러스터 위치 파일	각 타일의 모든 클러스터에 대한 XY 좌표가 레인당 하나의 클러스터 위치 파일에 집계됩니다. 템플레이트가 생성되면 클러스터 위치 파일이 생깁니다. Data\Intensities\L00[X]–레인당 하나의 폴더에 파일이 저장됩니다. s_[lane].locs
필터 파일	필터 파일은 클러스터가 필터를 통과했는지 여부를 지정합니다. 필터 정보는 레인 및 리드당 하나의 필터 파일에 집계됩니다. 필터 파일은 데이터의 25개 주기를 사용하여 26주기에 생성됩니다. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]–레인당 하나의 폴더에 파일이 저장됩니다. s_[lane].filter
InterOp 파일	SAV(시퀀싱 분석 뷰어)에서 사용되는 이진 보고 파일입니다. InterOp 파일은 실행 과정에 걸쳐 업데이트됩니다. InterOp 폴더
RTA 구성 파일	실행을 시작할 때 만들어지는 RTA 구성 파일에는 실행 관련 설정이 열거됩니다. [루트 폴더], RTAConfiguration.xml
실행 정보 파일	실행명, 각 리드의 주기 수, 리드가 인덱스 리드인지 여부 및 플로우 셀에서의 스와스(swath) 및 타일 수가 열거됩니다. 실행 정보 파일은 실행을 시작할 때 만들어집니다. [루트 폴더], RunInfo.xml
섬네일 파일	이미지 생성 중 모든 주기에 전체 카메라에서 타일 1, 6, 12의 상단/하단 표면에 대한 각 색상 채널(빨간색, 녹색)의 섬네일 이미지가 만들어집니다. Thumbnail_Images\L00[X]\C[X.1]–레인당 폴더 1개와 주기당 하위 폴더 1개에 파일이 저장됩니다. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg–파일 이름에서 타일은 표면, 스와스(swath), 카메라, 타일을 나타내는 5자리 숫자로 표시됩니다. 자세한 내용은 76페이지의 *타일 번호 매기기* 및 77페이지의 *섬네일 이미지 이름 지정*을 참조하십시오.

플로우 셀 타일

타일은 카메라의 시야로 정의되는 플로우 셀의 작은 이미지 생성 구역입니다. 전체 타일 수는 플로우 셀에서 이미지가 생성되는 레인, 스와스(swath) 및 표면 수와 이미지를 수집하기 위해 카메라가 함께 작동하는 방식에 따라 달라집니다.

- 높은 아웃풋의 플로우 셀은 총 타일 수가 864개입니다.
- 중간 아웃풋의 플로우 셀은 총 타일 수가 288개입니다.

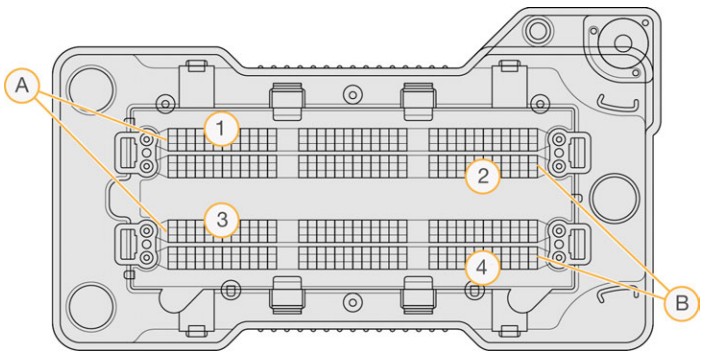
표 2 플로우 셀 타일

플로우 셀 부분	높은 아웃풋	중간 아웃풋	설명
레인	4	4	레인은 전용 주입구 포트와 배출구 포트가 있는 물리적 채널입니다.
표면	2	2	플로우 셀은 상단과 하단의 두 표면에서 이미지가 생성됩니다. 타일 하나의 상단 표면에서 이미지가 생성되고 같은 타일의 하단 표면에서 이미지가 생성된 후 다음 타일로 이동합니다.
레인당 스와스(swath)	3	1	스와스(swath)는 레인에 있는 타일의 열입니다.
카메라 세그먼트	3	3	기기에서 카메라 6대를 사용하여 레인당 3개의 세그먼트에 플로우 셀의 이미지를 생성합니다.
카메라 세그먼트별 스와스(swath)당 타일	12	12	타일은 카메라에서 하나의 이미지로 포착되는 플로우 셀의 구역입니다.
이미지가 생성된 총 타일 수	864	288	총 타일 수는 레인 수 × 표면 수 × 스와스(swath) 수 × 카메라 세그먼트 수 × 세그먼트별 스와스(swath)당 타일 수와 같습니다.

레인 번호 매기기

레인 1과 3(레인 쌍 A)은 동시에 이미지가 생성됩니다. 레인 2와 4(레인 쌍 B)는 레인 쌍 A의 이미지 생성이 완료되면 이미지가 생성됩니다.

그림 31 레인 번호 매기기

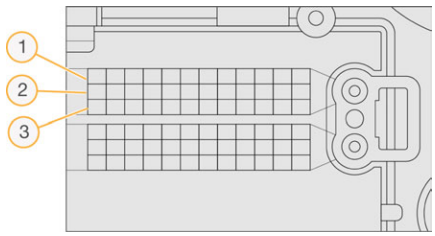


A 레인 쌍 A–레인 1과 3
B 레인 쌍 B–레인 2와 4

스와스(swath) 번호 매기기

각 레인은 세 개의 스와스(swath)에서 이미지가 생성됩니다. 스와스(swath)에서는 높은 아웃풋의 플로우 셀에 대해 1~3번의 번호가 매겨집니다.

그림 32 스와스(swath) 번호 매기기

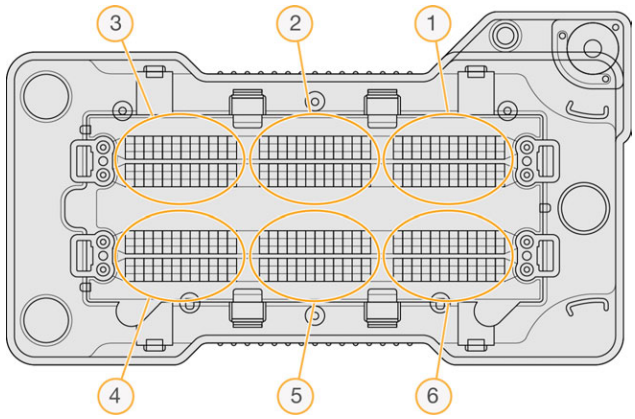


카메라 번호 매기기

NextSeq 550에서는 카메라 6대를 사용하여 플로우 셀의 이미지를 생성합니다.

카메라에는 1~6번의 번호가 매겨집니다. 카메라 1~3은 레인 1의 이미지를, 카메라 4~6은 레인 3의 이미지를 생성합니다. 레인 1과 3의 이미지가 생성되고 나면 이미지 생성 모듈이 X축으로 이동하여 레인 2와 4의 이미지를 생성합니다.

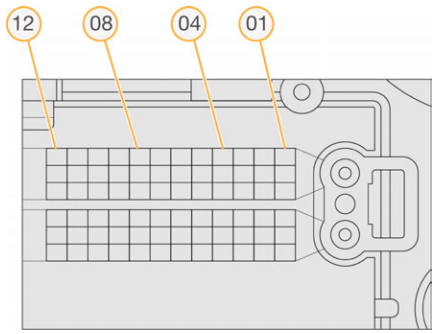
그림 33 카메라 및 세그먼트 번호 매기기(높은 아웃풋의 플로우 셀 표시)



타일 번호 매기기

각 카메라 세그먼트의 각 스와스(swath)에는 타일 12개가 있습니다. 타일에는 스와스(swath) 번호 또는 카메라 세그먼트와 상관없이 01~12의 두 자리 번호가 매겨집니다.

그림 34 타일 번호 매기기



전체 타일 번호는 다음과 같이 위치를 나타내는 5자리 번호로 구성됩니다.

- **표면**—1은 상단 표면, 2는 하단 표면을 나타냅니다.
- **스와스**(swath)—1, 2, 3
- **카메라**—1, 2, 3, 4, 5, 6
- **타일**—01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11, 12

예: 타일 번호 12508은 상단 표면, 스와스(swath) 2, 카메라 5, 타일 8을 나타냅니다.

전체 5자리 타일 번호는 섬네일 이미지 및 실증 단계 파일의 파일 이름에 사용됩니다. 자세한 내용은 74 페이지의 *시퀀싱 출력 파일*을 참조하십시오.

섬네일 이미지 이름 지정

이미지 생성 중 모든 주기에 전체 카메라에서 타일 1, 6, 12의 상단/하단 표면에 대한 각 색상 채널(빨간색, 녹색)의 섬네일 이미지가 생성됩니다. 섬네일 파일은 JPG 파일 형식으로 생성됩니다.

각 이미지에는 다음과 같은 이름 지정 규칙에 따라 매겨진 타일 번호로 이름이 지정되는데, 이 이름은 항상 **s_**로 시작합니다.

- **레인**—1, 2, 3, 4
- **타일**—표면, 스와스(swath), 카메라 및 타일을 나타내는 5자리 타일 번호
- **채널**—빨간색 또는 녹색

예: s_3_12512_green.jpg는 레인 3, 상단 표면, 스와스(swath) 2, 카메라 5, 타일 12, 녹색 채널을 나타냅니다.

아웃풋 폴더 구조 시퀀싱

제어 소프트웨어가 아웃풋 폴더 이름을 자동으로 생성합니다.

- **Data**
  - **Intensities**
    - **BaseCalls**
      - **L001**—주기당 한 파일에 집계되는 레인 1의 base calls 파일
      - **L002**—주기당 한 파일에 집계되는 레인 2의 base calls 파일
      - **L003**—주기당 한 파일에 집계되는 레인 3의 base calls 파일
      - **L004**—주기당 한 파일에 집계되는 레인 4의 base calls 파일
    - **L001**—레인 1에 집계되는 *.locs 파일
    - **L002**—레인 2에 집계되는 *.locs 파일
    - **L003**—레인 3에 집계되는 *.locs 파일
    - **L004**—레인 4에 집계되는 *.locs 파일
- **Images**
  - **Focus**
    - **L001**—레인 1의 포커스 이미지
    - **L002**—레인 2의 포커스 이미지
    - **L003**—레인 3의 포커스 이미지
    - **L004**—레인 4의 포커스 이미지
- **InterOp**—SAV(시퀀싱 분석 뷰어)에서 사용되는 이진 파일
- **Logs**—작업 단계를 설명하는 로그 파일
- **Recipe**—시약 카트리지 ID로 이름이 지정된 실행별 레시피 파일
- **RTALogs**—분석 단계를 설명하는 로그 파일
- **Thumbnail_Images**—모든 주기의 각 스와스(swath)에 있는 타일 1, 6, 12에 대한 섬네일 이미지
- RTAComplete.xml
- RTAConfiguration.xml
- RunInfo.xml
- RunNotes.xml
- RunParameters.xml

스캐닝 아웃풋 파일

파일 유형	파일 설명, 위치 및 이름
GTC 파일	genotype calls 파일입니다. BeadChip에서 스캔된 각 샘플에 대해 하나의 GTC 파일이 생성됩니다. 파일 이름에는 스캔된 바코드와 샘플이 포함됩니다. **[barcode]_[sample].gtc**
이미지 파일	이미지 파일은 BeadChip에서 스캔된 구역에 따라 이름이 지정됩니다. 이름에는 BeadChip의 바코드, 샘플 및 섹션, 스와스(swath), 이미지 생성 채널(빨간색 또는 녹색)이 포함됩니다. **[barcode]_[sample]_[section]_[swath]_[camera]_[tile]_[channel].jpg** · **바코드**—파일 이름은 BeadChip 바코드로 시작됩니다. · **샘플**—BeadChip의 한 구역으로, 행(R0X, 위에서 아래)과 열(C0X, 왼쪽에서 오른쪽으로)로 번호가 매겨집니다. · **섹션**—샘플 내의 번호가 매겨진 행입니다. · **스와스**(swath)—BeadChip은 중첩되는 타일의 모음으로 이미지가 생성됩니다. 따라서 섹션의 이미지를 생성하는 데 하나의 스와스(swath)만 사용됩니다. · **카메라**—이미지를 수집하는 데 사용되는 카메라입니다. · **타일**—카메라의 시야로 정의되는 이미지 생성 구역입니다. · **채널**—채널은 빨간색 또는 녹색입니다.

스캐닝 아웃풋 폴더 구조

- [Date]_[Instrument Name]_[Scan#]_[Barcode]
  - [Barcode]
    - Config
      - Effective.cfg—스캔 중에 사용된 구성 설정을 기록합니다.
    - Focus—스캔을 포커싱하는 데 사용된 이미지 파일이 들어 있습니다.
    - Logs—스캔 중에 수행된 각 단계를 나열하는 로그 파일이 들어 있습니다.
      - PreScanDiagnosticFiles
        - [Date_Time] Barcode Scan
          - ProcessedBarcode.jpg—BeadChip 바코드의 이미지입니다.
        - 스캔 진단(로그 파일)
        - PreScanChecks.csv—자동 검사의 결과를 기록합니다.
    - GTC 파일—genotype calls 파일입니다(샘플당 파일 1개).
    - IDAT 파일—[선택사항] 인텐시티 데이터 파일입니다(샘플당 파일 2개, 채널당 1개).
    - 이미지 파일—각 샘플, 섹션, 스와스(swath), 카메라, 타일 및 채널의 스캔 이미지입니다.
    - [Barcode]_sample_metrics.csv
    - [Barcode]_section_metrics.csv
  - ScanParameters.xml

인덱스

B

base calls 5, 71
  인덱싱 고려사항 72
base calls 파일 74
BaseSpace 2
  로그인 23
  전송 아이콘 30
BaseSpace 구성 26
BeadChip
  등록 실패 58
  바코드 방향 37
  바코드를 읽을 수 없음 58
  분석 2
  어댑터 6, 37
  유형 2
  장착 38
BlueFuse Multi 소프트웨어 2

C

chastity 필터 72

D

Decode File Client 34
  BeadChip별 액세스 36
  계정별 액세스 36
DMAP 폴더
  Decode File Client 34
  다운로드 36

G

GTC 파일 79

I

InterOp 파일 51, 74

L

locs 파일 74

Q

Q–점수 72
quality score 72
  Phred 알고리즘 72

R

RAID 오류 메시지 63
RFID 추적 7
RTA v2
  종료 68
RTA2
  오류 처리 69
RTAv2
  개요 68
RunInfo.xml 51, 74

고

고객 지원 85
고급 장착 옵션 13–14

관

관리, 예방 42

구

구성 설정 64

기

기기
  구성 설정 64
  시작 12
  전원 버튼 6
기기 관리
  사용자 지정 13
  소모품 15
  종료 48
기기 세척 43
기기 이름, 사용자 지정 13
기기 종료 48
기술 지원 85

데

데이터 전송
  복사 실행 서비스 30
  스캔 데이터 40
  작업 아이콘 30

도

도움말
  설명서 3
도움말, 기술 85

독

독립 실행형 구성 27

레

레인 번호 매기기 75
레인 쌍 75

로

로그 파일
  GlobalLog 69
  LaneNLog 69

리

리드 길이 18
리드 주기 18

메

메트릭
- base calls 71
- 인텐시티 주기 29
- 클러스터 밀도 주기 29

문

문제 해결
- BeadChip 바코드를 읽을 수 없음 58
- 매니페스트 파일 및 클러스터 파일 교체 59
- 문의 옵션 50
- 스캔 등록 실패 58
- 스캔별 파일 52
- 시스템 검사 61
- 실행 전 검사 53
- 실행별 파일 51
- 저품질 메트릭 56
- 폐시약 용기 55

복

복사 실행 서비스 30

분

분석
- 아웃풋 파일 74

분석, 일차
- 신호 순도 72

사

사용자 공급 소모품 15
사용자 이름 및 암호 12
사용자 지정 13
사전 위상화 70

상

상태 경보 5
상태 표시줄 4

설

설명서 3, 85

섬

섬네일 이미지 74

세

세척
- 사용자 공급 소모품 43
- 세척 컴포넌트 43
- 수동 세척 43
- 자동 31

소

소모품 7
- 기기 관리 15
- 세척 소모품 43
- 소모품 세척 43
- 시약 카트리지 8
- 시퀀싱 실행 15
- 완충제 카트리지 9
- 일반 실험실용 순수 15
- 플로우 셀 7

소모품 제거 14
소프트웨어
- 구성 설정 64
- 기기 내 5
- 기기 설정 13
- 수동 업데이트 46
- 실행 시간 18
- 이미지 분석 5
- 자동 업데이트 46
- 초기화 12

소프트웨어 업데이트 46

스

스와스(swath) 번호 매기기 76
스캔 아웃풋 파일
- GTC, IDAT 79

시

시스템 검사 61
시스템 사용자 이름 및 암호 12
시약
- 적절한 폐기 25
- 키트형 7

시약 부분 4
시약 카트리지
- 개요 8
- 저장소 28번 43
- 준비 20

시퀀싱 15
시퀀싱 분석 뷰어 18
시퀀싱 작업흐름 70

실

실시간 분석
- 위상화 70

실시간 분석 소프트웨어 2, 5
- 결과 74

실증적 위상화 70
실행 매개변수
- BaseSpace 모드 26
- 독립 실행형 모드 27
- 매개변수 편집 26

실행 메트릭 29
실행 설정, 고급 옵션 14
실행 시간 18
실행 전 검사 27, 39
실행 전 검사 오류 53
실행 후 세척 31

아

아바타 이름 13
아웃풋 파일 74
아웃풋 파일, 스캔
- GTC, IDAT 79

아웃풋 파일, 시퀀싱 74
아이콘
- 상태 5
- 오류 및 경고 5

어

어댑터
- BeadChip 방향 37
- BeadChip 장착 38
- 개요 6

예

예방 관리 42

오

오류 가능성 72
오류 및 경고 5
  아웃풋 파일 69

온

온라인 교육 3

완

완충제 부분 4
완충제 카트리지 9, 24

위

위상화 70

이

이미지 생성 부분 4
이미지 생성, 2채널 시퀀싱 71

인

인덱싱 고려사항 72
인텐시티 71
인풋 파일, 스캔
  DMAP 폴더 34
  DMAP 폴더, 다운로드 36
  매니페스트 파일 34, 59
  클러스터 파일 34, 59

일

일반 실험실용 순수 지침 15

작

작업흐름
  BaseSpace 로그인 23
  BaseSpace 모드 26
  BeadChip 38
  개요 19, 35
  고급 장착 옵션 14
  독립 실행형 모드 27
  시약 카트리지 20, 25
  시퀀싱 70
  실행 메트릭 29
  실행 시간 18
  실행 전 검사 27, 39
  완충제 카트리지 24
  인덱싱 고려사항 72
  차아염소산나트륨 43
  폐시약 23
  플로우 셀 23
  플로우 셀 준비 21

재

재혼성화, 리드 1 56

전

전원 버튼 6, 12
전원 스위치 12

제

제어 소프트웨어 5

차

차아염소산나트륨, 세척 43

카

카메라 번호 매기기 76

컴

컴포넌트
  상태 표시줄 4
  시약 부분 4
  완충제 부분 4
  이미지 생성 부분 4

클

클러스터 위치
  템플레이트 생성 70
  파일 74

타

타일 번호 매기기 76

템

템플레이트 생성 70

폐

폐시약
  용기 가득 참 55
  폐기 23, 44

포

포름아마이드, 위치 6 25

폴

폴더 위치 27

프

프라이머 재혼성화 56

플

플로우 셀
  개요 7
  레인 번호 매기기 75
  레인 쌍 7
  배열 핀 23
  세척 21
  스와스(swath) 번호 76
  유형 2
  이미지 생성 76
  이미지 파일 이름 지정 77
  재혼성화 56
  타일 75
  타일 번호 매기기 76
  포장지 21

필

필터 통과 클러스터 72
필터 통과(PF) 72

필터 파일 74

호

호환성
RFID 추적 7–8
플로우 셀, 시약 카트리지 7

기술 지원

기술 지원을 받으려면 Illumina 기술 지원 부서에 문의하십시오.

표 3 Illumina 일반 문의 정보

웹사이트	www.illumina.com
이메일	techsupport@illumina.com

표 4 Illumina 고객 지원 센터 전화 번호

지역	연락 번호		지역	연락 번호
북아메리카	1.800.809.4566		아일랜드	1.800.812949
네덜란드	0800.0223859		영국	0800.917.0041
노르웨이	800.16836		오스트리아	0800.296575
뉴질랜드	0800.451.650		이탈리아	800.874909
대만	00806651752		일본	0800.111.5011
덴마크	80882346		중국	400.635.9898
독일	0800.180.8994		프랑스	0800.911850
벨기에	0800.81102		핀란드	0800.918363
스웨덴	020790181		홍콩	800960230
스위스	0800.563118		호주	1.800.775.688
스페인	900.812168		기타 국가	+44.1799.534000
싱가포르	1.800.579.2745			

SDS(안전보건자료)—Illumina 웹사이트(support.illumina.com/sds.html)에서 확인할 수 있습니다.

제품 설명서—Illumina 웹사이트에서 PDF로 다운로드할 수 있습니다. support.illumina.com에서 제품을 선택한 다음, **Documentation & Literature(설명서 및 문헌)**를 선택하십시오.

자료 번호 20006831

Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN(4566)
+1.858.202.4566(북아메리카 이외 지역)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com