

# NextSeq 550Dx Research Mode

Oversigtsvejledning til instrument



Dokumentnr. 100000041922 v01 DAN

Marts 2018

**Kun til forskningsformål.**

**Må ikke bruges til diagnostiske procedurer.**

OPHAVSRETTLIGT BESKYTTET AF ILLUMINA

Dette dokument og dets indhold er ophavsretligt beskyttet af Illumina, Inc. og dets datterselskaber ("Illumina") og er udelukkende beregnet til kundens kontraktmæssige brug i forbindelse med anvendelsen af det produkt eller de produkter, som er beskrevet heri, og til intet andet formål. Dette dokument og dets indhold må ikke bruges eller distribueres til noget andet formål og/eller på anden måde kommunikeres, offentliggøres eller reproduceres på nogen som helst måde uden forudgående skriftligt samtykke fra Illumina. Med dette dokument udsteder Illumina ingen licens under sit patent, varemærke, sin copyright eller sædvaneret eller lignende rettigheder for nogen tredjeparter.

Instruktionerne i dette dokument skal følges nøje og fuldstændigt af kvalificerede og behørigt uddannede medarbejdere for at sikre, at det produkt eller de produkter, der er beskrevet heri, anvendes korrekt og sikkert. Alt indhold i dette dokument skal læses grundigt og forstås inden brug af produktet/produkterne.

HVIS ALLE INSTRUKTIONERNE HERI IKKE GENNEMLÆSES FULDT UD OG FØLGES NØJE, KAN DET MEDFØRE SKADE PÅ PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE, SKADE PÅ PERSONER, HERUNDER BRUGERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANDEN EJENDOM OG VIL GØRE ENHVER GARANTI GÆLDENDE FOR PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE UGYLDIG.

ILLUMINA PÅTAGER SIG INTET ANSVAR SOM FØLGE AF FORKERT BRUG AF DET PRODUKT ELLER DE PRODUKTER, DER ER BESKREVET HERI (HERUNDER DELE HERAF ELLER SOFTWARE).

© 2018 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Alle varemærker tilhører Illumina, Inc. eller de respektive ejere. Specifikke varemærkeoplysninger er tilgængelige på [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Revisionshistorik

Dokument	Dato	Beskrivelse af ændring
Dokumentnr. 1000000041922 v01	Marts 2018	Tilføjelse af oplysninger om overvågningstjenesten Illumina Proactive i afsnittet Brugertilpasning af systemindstillinger.
Dokumentnr. 1000000041922 v00	November 2017	Oprindelig udgivelse.

# Indholdsfortegnelse

<b>Kapitel 1 Oversigt</b> .....	<b>1</b>
Om denne vejledning .....	1
Introduktion .....	1
Yderligere ressourcer .....	2
Instrumentkomponenter .....	2
Oversigt over sekventeringsmaterialer .....	6
<b>Kapitel 2 Sådan kommer du i gang</b> .....	<b>11</b>
Opstart af instrumentet .....	11
Brugertilpasning af systemindstillinger .....	12
Brugerleverede materialer og udstyr .....	13
<b>Kapitel 3 Sekventering</b> .....	<b>15</b>
Introduktion .....	15
Arbejdsgang for sekventering .....	16
Klargøring af reagenskassetten .....	16
Klargøring af flowcellen .....	17
Klargøring af biblioteker til sekventering .....	17
Konfiguration af en sekventeringskørsel .....	18
Overvågning af kørselsstatus .....	24
Automatisk vask efter kørslen .....	26
<b>Kapitel 4 Scanning</b> .....	<b>27</b>
Introduktion .....	27
Arbejdsgang for scanning .....	28
Download af DMAP-mappen .....	28
Overfør BeadChip til adapteren .....	29
Konfigurer en scanning .....	30
Overvågning af scanningsstatus .....	32
<b>Kapitel 5 Vedligeholdelse</b> .....	<b>35</b>
Introduktion .....	35
Udførelse af manuel vask .....	35
Udskiftning af luftfilter .....	38
Softwareopdateringer .....	39
Indstillinger for genstart og nedlukning .....	41
<b>Bilag A Fejlfinding</b> .....	<b>43</b>
Introduktion .....	43
Fejlfindingsfiler .....	43
Rettelse af fejl i forbindelse med automatisk kontrol .....	44
Beholderen med brugte reagenser er fuld .....	46
Arbejdsgang ved rehybridisering .....	46

BeadChip- og scanningsfejl .....	48
Brugerdefinerede opskrifter og opskriftsmapper .....	50
RAID-fejlbesked .....	50
Konfiguration af systemindstillinger .....	50
<b>Bilag B Real-Time Analysis .....</b>	<b>55</b>
Oversigt over Real-Time Analysis .....	55
Arbejdsgang i Real-Time Analysis .....	56
<b>Bilag C Outputfiler og -mapper .....</b>	<b>61</b>
Sekventeringsoutputfiler .....	61
Sekventeringsoutputmappestruktur .....	64
Scanning af outputfiler .....	65
Struktur af scanningsoutputmappe .....	65
<b>Indeks .....</b>	<b>67</b>
<b>Teknisk hjælp .....</b>	<b>71</b>

# Kapitel 1 Oversigt

Om denne vejledning .....	1
Introduktion .....	1
Yderligere ressourcer .....	2
Instrumentkomponenter .....	2
Oversigt over sekventeringsmaterialer .....	6

## Om denne vejledning

Denne oversigtsvejledning til instrument indeholder instruktioner til brugen af NextSeq 550Dx-instrumentet i forskningstilstand (RUO).

## Introduktion

Illumina® NextSeq™ 550Dx-instrumentet er en enkeltløsning, der giver en problemfri overgang mellem high-throughput-sekventering og arrays scanning.

## Sekventeringsfunktioner

- ▶ **High-throughput-sekventering** – NextSeq™ 550-instrumentet muliggør sekventering af exomer, helgenomer og transkriptomer, og understøtter bibliotekerne TruSeq™ og Nextera™.
- ▶ **Flowcelletyper** – Flowceller fås i konfigurationer til højt output og mellemmiddel output. Hver flowcelletype leveres med en kompatibel fyldt reagenskassette.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** – Integreret analysesoftware udfører dataanalyse af instrumentet. Denne analyse omfatter billedanalyse og basebestemmelse. NextSeq 550Dx anvender en implementering af RTA kaldet RTA v2, som indeholder vigtige forskelle i arkitektur og funktioner. Du kan finde yderligere oplysninger under *Real-Time Analysis på side 55*.
- ▶ **BaseSpace® integration** – Arbejdsgangen for sekventering er integreret i BaseSpace, Illuminas beregningsmiljø til genomanalyse, der omfatter dataanalyse, lagring og samarbejde. For instrumenter, der er konfigureret til BaseSpace, er biblioteksinformation og kørselsparametre angivet på fanen BaseSpace Prep. Kørsler, der er konfigureret i BaseSpace, vises i instrumentets grænseflade under kørselskonfiguration. I løbet af kørslen streames outputfiler i realtid til BaseSpace eller BaseSpace Onsite.

## Arrays scanningfunktioner

- ▶ **Integreret arrays scanning i kontrolsoftware** – NextSeq 550Dx-instrumentet gør det muligt for dig at skifte mellem arrays scanning og high-throughput-sekventering på samme instrument ved hjælp af samme kontrolsoftware.
- ▶ **Udvidet billeddannelsesegenskab** – Billeddannelsessystemet i NextSeq 550Dx-instrumentet omfatter software- og stadiæændringer, der muliggør billeddannelse af et større overfladeareal, for at rumme BeadChip-scanning.
- ▶ **BeadChip-typer** – Kompatible BeadChip-typer omfatter CytoSNP-12, CytoSNP-850K og Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip-adapter** – En genanvendelig BeadChip-adapter gør det nemt at overføre en BeadChip i instrumentet.
- ▶ **Dataanalyse** – Brug BlueFuse® Multi-softwaren til at analysere arraydata.

## Yderligere ressourcer

Følgende dokumentation kan hentes på Illuminas websted.

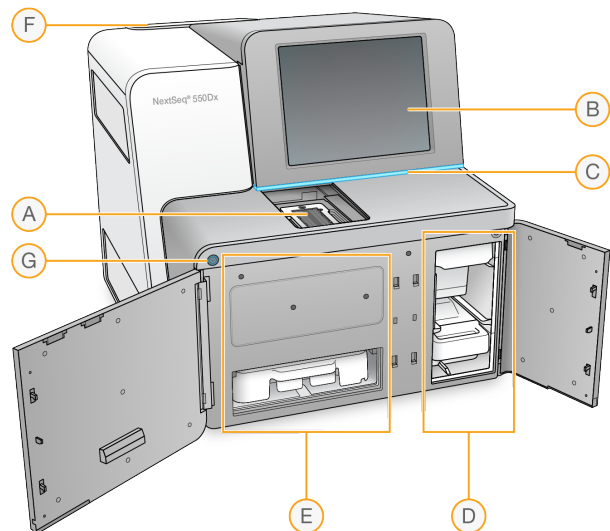
Ressource	Beskrivelse
<i>NextSeq 550Dx Instrument Reference Guide</i> (Oversigtsvejledning til NextSeq 550Dx-instrumentet) (dokumentnr. 1000000009513)	Indeholder i diagnostisk tilstand instruktioner til betjening af instrumentet og fejlfindingsprocedurer.
<i>NextSeq 550Dx Instrument Site Prep Guide</i> (Stedforberedelsesvejledning til NextSeq 550Dx-instrumentet) (dokumentnr. 1000000009869)	Indeholder specifikationer for laboratoriepladsen, elektriske krav og miljømæssige overvejelser.
<i>NextSeq 550Dx Instrument Safety and Compliance Guide</i> (Sikkerheds- og overensstemmelsesvejledning til NextSeq 550Dx) (dokumentnr. 1000000009868)	Indeholder oplysninger om driftssikkerhedsmæssige overvejelser, overensstemmelseserklæringer og instrumentmærkning.
<i>RFID Reader Compliance Guide</i> (dokumentnr. 1000000030332) (Overensstemmelsesvejledning til RFID-læser)	Indeholder oplysninger om RFID-læseren i instrumentet, overensstemmescertificering og sikkerhedsmæssige overvejelser.
<i>Denaturing and Diluting Libraries for the NextSeq System</i> (Denaturering og fortynding af biblioteker til NextSeq-systemet) (dokumentnr. 15048776)	Indeholder instruktioner til denaturering og fortynding af klargjorte biblioteker for en sekventeringskørsel og klargøring af en valgfri PhiX-kontrol. Dette trin gælder for de fleste bibliotekstyper.
<i>NextSeq Custom Primers Guide</i> (dokumentnr. 15057456) (Vejledning til brugerdefinerede primere til NextSeq)	Indeholder oplysninger om brug af brugerdefinerede sekventeringsprimere i stedet for Illumina-sekventeringsprimere.
<i>BaseSpace-hjælp</i> ( <a href="http://help.basespace.illumina.com">help.basespace.illumina.com</a> )	Indeholder oplysninger om brug af BaseSpace® og tilgængelige analysemuligheder.

Besøg [support siden til NextSeq 550Dx-instrumentet](#) på Illuminas website, hvor du kan finde dokumentation, downloade software, få online-undervisning og se ofte stillede spørgsmål.

## Instrumentkomponenter

NextSeq 550Dx-instrumentet har en touchskærm, en statuslinje og 4 kamre.

Figur 1 Instrumentkomponenter



- A **Billedoptagelseskommer** – Indeholder flowcellen til sekventering eller BeadChip-adapteren til scanning.
- B **Touchskærm** – Til konfiguration og opsætning via kontrolsoftwarens brugergrænseflade.
- C **Statuslinje** – Viser instrumentstatus: behandler (blå), kræver opmærksomhed (orange) eller klar til sekventering (grøn).
- D **Bufferkommer** – Indeholder bufferkassetten og beholderen til brugte reagenser.
- E **Reagenskommer** – Indeholder reagenskassetten.
- F **Luftfilterkommer** – Indeholder luftfilteret. Der er adgang til filteret på bagsiden af instrumentet.
- G **Strømknop** – Slår strømmen til instrumentet og instrumentcomputeren til eller fra.

## Billedoptagelseskommer

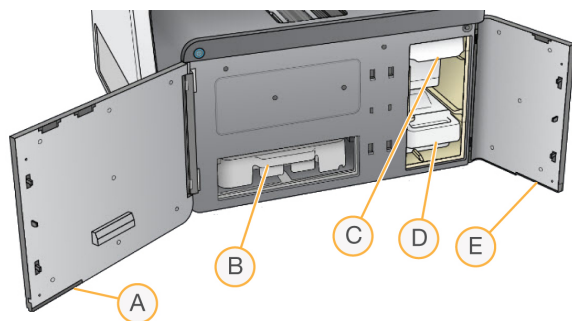
Billedoptagelseskommeret indeholder holderen, som består af tre justeringsstykker til positionering af flowcellen til sekventering eller BeadChip-adapteren til scanning. Efter overførsel af flowcellen eller BeadChip-adapteren, lukker dørene til billedoptagelseskommeret automatisk, og flytter komponenterne på plads.

## Reagens- og bufferkamre

Når du skal konfigurere en sekventeringskørsel på NextSeq 550Dx-instrumentet, skal du have adgang til reagenskommeret og bufferkommeret for at overføre kørselsmaterialerne og tømme beholderen med brugte reagenser.



Figur 2 Reagens- og bufferkamre



- A **Dør til reagenskammer** – Lukker reagenskammeret med en låsemekanisme under nederste højre område på døren. Reagenskammeret er reagenskassetens plads.
- B **Reagenskassette** – Reagenskassetten er et engangsmateriale, der er fyldt ved levering.
- C **Bufferkassette** – Bufferkassetten er et engangsmateriale, der er fyldt ved levering.
- D **Beholder til brugte reagenser** – Opsamler brugte reagenser, der skal bortskaffes efter hver kørsel.
- E **Dør til bufferkammer** – Lukker bufferkammeret med en låsemekanisme under nederste venstre hjørne på døren.

## Luftfilterkammer

Luftfilterkammeret indeholder luftfilteret og er placeret på instrumentets bagside. Udskift luftfilteret med 90 dages mellemrum. Du finder oplysninger om udskiftning af filteret under [Udskiftning af luftfilter på side 38](#)

## NextSeq 550Dx-software




Instrumentsoftwaren indeholder integrerede applikationer, der udfører sekventeringskørsler eller arrayscanning.

- ▶ **NextSeq Control Software (NCS)** – Kontrolsoftwaren fører dig gennem trinene til konfiguration af en sekventeringskørsel eller en arrayscanning.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)-software** – Til sekventeringskørsler udfører RTA-billedanalyse og -basebestemmelse under kørslen. NextSeq 550Dx-instrumentet anvender RTA v2, som indeholder vigtige arkitektur- og funktionsforskelle fra tidligere versioner. Du kan finde yderligere oplysninger under [Real-Time Analysis på side 55](#).

## Statusikoner

Et statusikon i øverste højre hjørne af kontrollen melder om eventuelle tilstandsændringer i løbet af kørselskonfigurationen eller kørslen.

Statusikon	Statusnavn	Beskrivelse
	Status OK	Systemet er normalt
	Processing (Behandler)	Systemet behandler.

Statusikon	Statusnavn	Beskrivelse
	Warning (Advarsel)	Der er en advarsel. Advarsler stopper ikke kørslen og kræver ingen handling, før der fortsættes.
	Error (Fejl)	Der er opstået en fejl. Fejl kræver handling, inden der fortsættes med kørslen.
	Service Needed (Der er brug for service)	Der er en meddelelse, der kræver opmærksomhed. Se yderligere oplysninger i beskeden.

Ikonet blinker for at advare dig, når der opstår en tilstandsændring. Tryk på ikonet for at se en beskrivelse af tilstanden. Vælg **Acknowledge** (Bekræft) for at acceptere beskeden og **Close** (Luk) for at lukke dialogboksen.



### BEMÆRK!

Når du bekræfter en besked, bliver ikonet nulstillet, og beskeden bliver gråtonet. Brugeren kan stadig se beskeden ved at vælge ikonet, men den forsvinder, når NCS bliver genstartet.

## Strømknapp

Strømknappen på forsiden af NextSeq 550Dx tænder for strømmen til instrumentet og instrumentcomputeren. Afhængigt af instrumentets strømtilstand bruges strømknappen til nedenstående handlinger. NextSeq 550Dx starter som standard i diagnostisk tilstand.

Du finder oplysninger om nedlukning af instrumentet i [Nedlukning af instrumentet på side 41](#).

Strømtilstand	Handling
Der er slukket for strømmen til instrumentet	Tryk kortvarigt på knappen for at tænde for strømmen.
Der er tændt for strømmen til instrumentet	Tryk kortvarigt på knappen for at slukke for strømmen. Der kommer en dialogboks frem på skærmen til bekræftelse af normal nedlukning af instrumentet.
Der er tændt for strømmen til instrumentet	Hold strømknappen inde i 10 sekunder for at gennemtvinge en hård nedlukning af instrumentet og instrumentcomputeren. Brug kun denne metode til nedlukning af instrumentet, hvis instrumentet ikke svarer.



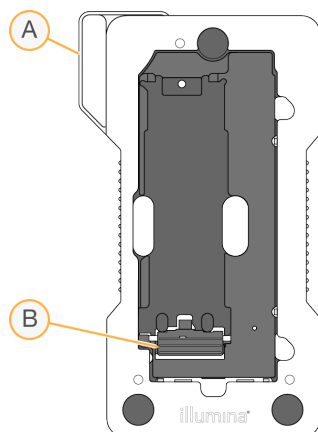
### BEMÆRK!

Hvis du lukker ned for instrumentet under en sekventeringskørsel, stopper kørslen med det samme. Hvis en kørsel bliver stoppet, kan den ikke genoptages. Kørselsmaterialerne kan ikke genbruges, og sekventeringsdataene fra kørslen bliver ikke gemt.

## Oversigt over genanvendelig BeadChip-adapter

Den genanvendelige BeadChip-adapter holder BeadChip'en under scanningen. BeadChip'en er fastgjort i udskæringen på adapteren med fastgørelsesklipsen. Derefter overføres BeadChip-adapteren til holderen i billedoptagelseskammeret.

Figur 3 Genanvendelig BeadChip-adapter



- A BeadChip-adapter
- B Fastgørelsesklips

## Oversigt over sekventeringsmaterialer

Udførelse af en sekventeringskørsel på NextSeq 550Dx-instrumentet i forskningstilstand kræver et NextSeq 500/550-sæt eller NextSeq 550Dx-reagenssæt med højt output til engangsbrug. Hvert sæt indeholder en flowcelle og de reagenser, der skal bruges til en sekventeringskørsel.

Flowcellen, reagenskassetten og bufferkassetten er udstyret med radiofrekvensidentifikation (RFID) for at sikre, at materialerne kan spores og er kompatible.



### BEMÆRK!

Sekventeringsmaterialerne skal opbevares i de originale æsker, indtil de skal anvendes.

Hvis du anvender et NextSeq 550Dx-reagenssæt med højt output til en kørsel i forskningstilstand, skal alle komponenter komme fra samme sætbatch. Et NextSeq 500/550-sæt kan ikke bruges til en kørsel i diagnostisk tilstand.

## Kompatibilitetsmærkning af sættet

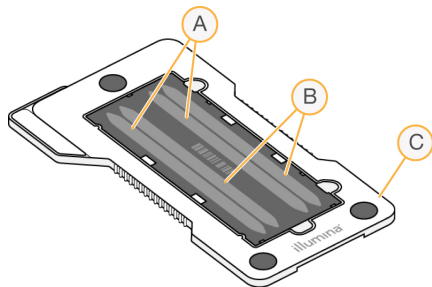
Sætkomponenter mærkes med farvekodede indikatorer, for at vise kompatibilitet mellem flowceller og reagenskassetter. Brug altid en kompatibel reagenskassette og flowcelle. Bufferkassetten er universel.

Hver flowcelle og reagenskassette er mærket **Høj** eller **Mellemmiddel**. Kontrollér altid mærkaten, når du klargør materialer til en kørsel.

Sættetype	Markering på mærkat
Komponenter i sæt med højt output	
Komponenter i sæt med mellemmiddel output	

## Oversigt over flowcelle

Figur 4 Flowcellekassette



- A Banepar A – Bane 1 og 3
- B Banepar B – Bane 2 og 4
- C Flowcellekassetten ramme

Flowcellen er et glasbaseret substrat, hvorpå clustrene bliver genereret, og sekventeringsreaktionen bliver udført. Flowcellen er anbragt i en flowcellekassette.

Flowcellen indeholder 4 baner, som bliver fotograferet i par.

- ▶ Bane 1 og 3 (banepar A) bliver fotograferet samtidigt.
- ▶ Bane 2 og 4 (banepar B) bliver fotograferet, når banepar A er blevet fotograferet.

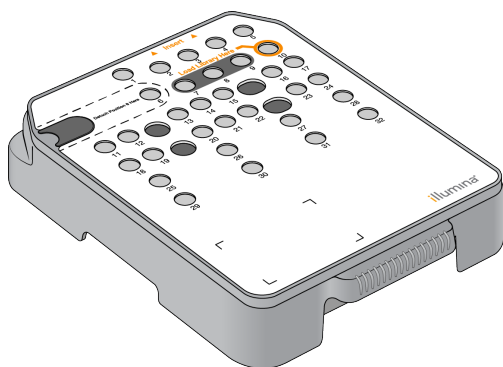
Selvom flowcellen har 4 baner, bliver der kun sekventeret et enkelt bibliotek eller et sæt af samlede biblioteker på flowcellen. Bibliotekerne fyldes i reagenskassetten fra et enkelt reservoir og bliver automatisk overført til alle 4 baner på flowcellen.

Hver bane er opdelt i små billedområder, som der bliver taget billeder af. Disse billedområder kaldes for fliser. Du kan finde yderligere oplysninger under [Flowcellefliser](#) på side 61.

## Oversigt over reagenskassette

Reagenskassetten er et engangsmateriale med RFID-sporing og folieforseglede reservoirer, der er fyldt med cluster- og sekventeringsreagenser ved levering.

Figur 5 Reagenskassette



Reagenskassetten har et dedikeret reservoir til overførsel af klargjorte biblioteker. Når kørslen er sat i gang, bliver bibliotekerne automatisk overført til flowcellen fra reservoiret.

Nogle reservoirer er forbeholdt den automatiske vask efter kørslen. Vaskeopløsningen i bufferkassetten bliver pumpet ud til disse reservoirer, igennem systemet og ud i beholderen til brugte reagenser.

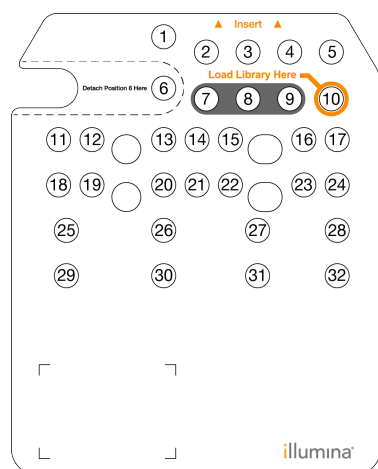


#### ADVARSEL

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

## Forbeholdte reservoirer

Figur 6 Nummererede reservoirer



Position	Beskrivelse
7, 8 og 9	Forbeholdt valgfri, brugerdefinerede primere
10	Overførsel af biblioteker

Du kan finde yderligere oplysninger om brugerdefinerede primere i *NextSeq Custom Primers Guide (Vejledning til brugerdefinerede primere til NextSeq) (dokumentnr. 15057456)*.

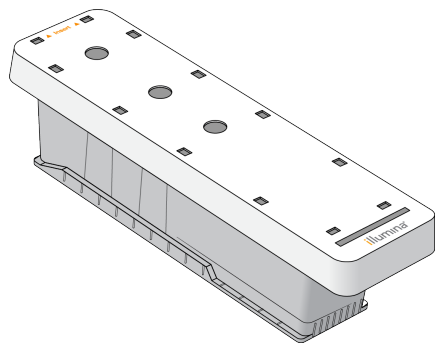
## Udtageligt reservoir i position 6

Den fyldte reagenskassette indeholder en denatureringsreagens i position 6, som indeholder formamid. Reservoirer i position 6 kan tages ud, så ikke anvendt reagens nemmere kan bortskaffes på sikker vis efter sekventeringskørslen. Du kan finde yderligere oplysninger under *Udtagning af brugt reservoir i position 6 på side 22*.

## Oversigt over bufferkassette

Bufferkassetten er et engangsmateriale, som indeholder tre reservoirer, der er fyldt med buffere og vaskeopløsning ved leveringen. Indholdet i bufferkassetten rækker til sekventering af én flowcelle.

Figur 7 Bufferkassette





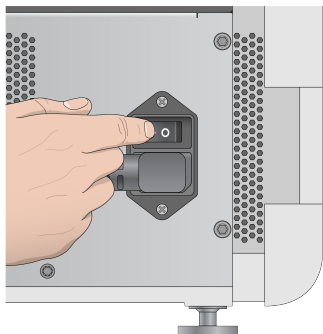
# Kapitel 2 Sådan kommer du i gang

Opstart af instrumentet .....	11
Brugertilpasning af systemindstillinger .....	12
Brugerleverede materialer og udstyr .....	13

## Opstart af instrumentet

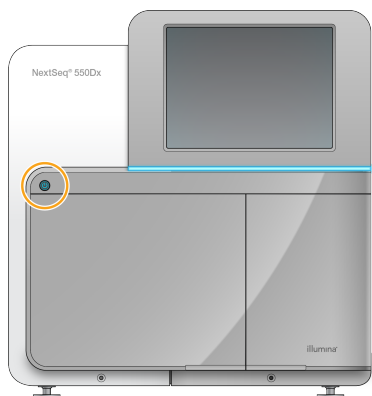
Tryk på til/fra-knappen, så den står på "tændt" I.

**Figur 8** Til/fra-knap på instrumentets bagside



- 1 Tryk på strømknappen over reagenskammeret. Strømknappen tænder for strømmen til instrumentet og starter den integrerede instrumentcomputer og software. Instrumentet starter som standard i diagnostisk tilstand.

**Figur 9** Strømknapp på instrumentets forside



- 2 Vent på, at operativsystemet bliver færdig med at indlæse. NextSeq 550Dx Operating Software (NOS) starter og initialiserer automatisk systemet. Når initialiseringen er færdig, bliver startskærmen åbnet.
- 3 Indtast dit brugernavn og din adgangskode til Local Run Manager. Du kan finde yderligere oplysninger om adgangskoder til Local Run Manager under *NextSeq 550Dx Instrument Reference Guide (dokumentnr. 1000000009513)* (Oversigtsvejledning til NextSeq 550Dx-instrumentet).
- 4 Vælg **Login** (Log på). Startskærmen åbnes med ikonerne for sekventering, Local Run Manager, administration af instrumentet og udførelse af vask.



- Brug kommandoen **Reboot to RUO** (Genstart i forskningstilstand) i NOS for at lukke instrumentet sikkert ned, og genstarte det i forskningstilstand.
  - Vælg **Manage Instrument** (Administrer instrument).
  - Vælg **Reboot / Shut Down** (Genstart/Luk ned).
  - Vælg **Reboot to RUO** (Genstart i forskningstilstand).
- Vent på, at operativsystemet bliver færdig med at indlæse. NCS starter og initialiserer automatisk systemet. Når initialiseringen er færdig, bliver startskærmen åbnet.
- Hvis dit system er konfigureret til at kræve logonoplysninger, skal du logge på Windows ved hjælp af brugernavnet og adgangskoden for dit sites facilitet.



#### **BEMÆRK!**

Hvis du ikke er sikker på, hvilken tilstand dit instrument er i, skal du se *Indikatorer for instrumenttilstand*.

## Indikatorer for instrumenttilstand

Følgende tabel viser instrumenttilstandsindikatorer i NCS- eller NOS-skærmbilledet. Du kan finde yderligere oplysninger om, hvordan du skifter fra forskningstilstand til diagnostisk tilstand, under *Indstillinger for genstart og nedlukning på side 41*.

Tilstand	Startside	Farvelinje	Statusikonets retning
Diagnostisk tilstand	Welcome to NextSeqDx	Blå	Horisontal
Forskningstilstand	Welcome to NextSeq	Orange	Vertikal

## Brugertilpasning af systemindstillinger

Kontrolsoftwaren omfatter systemindstillinger, der kan tilpasses, for følgende:

- Inputpræferencer
- Lydindstillinger
- Instrumentnavn
- Kørselskonfigurationspræferencer
- Fjernelse af ubrugte reagenser

## Brugertilpasning af instrumentets avatar og kaldenavn

- Vælg **System Customization** (Systemtilpasning) på skærmen **Manage Instrument** (Administrer instrument).
- Du kan angive et avatarbillede efter eget valg for instrumentet ved at vælge **Browse** (Gennemse) og gå til billedet.
- Indtast et navn efter eget valg i feltet **Instrument Nickname** (Instrumentets kaldenavn).
- Vælg **Save** (Gem), for at gemme indstillingerne, og luk skærmbilledet. Billedet og navnet vises i øverste venstre hjørne på alle skærme.

## Konfiguration af indstillinger for tastatur og lydindikatorer

- Vælg **System Customization** (Systemtilpasning) på skærmen **Manage Instrument** (Administrer instrument).
- Markér afkrydsningsfeltet **Use on-screen keyboard** (Anvend tastatur på skærmen) for at aktivere skærmtastaturet som input-enhed.

- 3 Vælg afkrydsningsfeltet **Play audio** (Afspil lyd) for at aktivere lydindikatorer ved følgende hændelser.
  - ▶ Ved opstart af instrumentet
  - ▶ Når en kørsel bliver startet
  - ▶ Når der opstår bestemte fejl
  - ▶ Når der er behov for brugerhandling
  - ▶ Når en kørsel er færdig
- 4 Vælg **Save** (Gem), for at gemme indstillingerne, og luk skærbilledet.

## Konfiguration af indstillinger for kørselskonfiguration

- 1 Vælg **System Customization** (Systemtilpasning) på skærmen Manage Instrument (Administrer instrument).
- 2 Markér afkrydsningsfeltet **Use Advanced Load Consumables** (Brug avanceret overførsel af materialer) for at aktivere muligheden, for at overføre alle kørselsmaterialer fra en enkelt skærm.
- 3 Markér afkrydsningsfeltet **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Spring bekræftelse af prækørselskontrol over), for at starte sekventering eller scanning automatisk efter en vellykket automatisk kontrol.
- 4 Vælg **Save** (Gem), for at gemme indstillingerne, og luk skærbilledet.

## Indstil funktion for automatisk fjernelse

- 1 Vælg **System Customization** (Systemtilpasning) på skærmen Manage Instrument (Administrer instrument).
- 2 Markér afkrydsningsfeltet **Purge Consumables at End of Run** (Fjern materialer ved afslutning af kørsel), for at fjerne ubrugte reagenser fra reagenskassetten og automatisk overføre dem til beholderen med brugte reagenser efter hver kørsel.



### BEMÆRK!

Fjernelse af materialer tilføjer automatisk yderligere tid til arbejdsgangen.

- 3 Vælg **Save** (Gem) for at Vælg Save (Gem), for at gemme indstillingerne, og luk skærbilledet.

## Brugerleverede materialer og udstyr

Følgende materialer og udstyr anvendes til klargøring af materialer, sekventering og instrumentvedligeholdelse.

## Brugerleverede materialer til sekventeringskørsler

Materiale	Leverandør	Formål
1 N NaOH (natriumhydroxid)	Almen laboratorieleverandør	Denaturering af bibliotek, fortyndet til 0,2 N
200 mM Tris-HCl, pH7	Almen laboratorieleverandør	Denaturering af bibliotek
Spritservietter, 70 % isopropyl eller Ethanol, 70 %	WWR, katalognr. 95041-714 (eller tilsvarende) Almen laboratorieleverandør	Rengøring af flowceller og almene formål
Laboratorieserviet, fnugfri	WWR, katalognr. 21905-026 (eller tilsvarende)	Rengøring af flowceller og almene formål

## Brugerleverede materialer til vedligeholdelse af instrumentet

Materiale	Leverandør	Formål
NaOCl, 5 % (natriumhypoklorit)	Sigma-Aldrich, katalognr. 239305 (eller produkt af tilsvarende laboratorie kvalitet)	Vask af instrumentet med manuel vask efter kørsel; fortyndet til 0,12 %
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalognr. P7949	Vask af instrumentet med en af mulighederne for manuel vask; fortyndet til 0,05 %
Vand, laboratorie kvalitet	Almen laboratorie leverandør	Afvaskning af instrumentet (manuel vask)
Luftfilter	Illumina, katalognr. 20022240	Rengøring af den nedkølingsluft, som instrumentet tager.

## Retningslinjer for laboratorievand

Der skal altid anvendes vand af laboratorie kvalitet eller deioniseret vand i forbindelse med udførelse af procedurer på instrumentet. Brug aldrig postevand. Anvend kun vand af følgende kvalitet eller tilsvarende:

- ▶ Deioniseret vand
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 megohms (M $\Omega$ ) vand
- ▶ Milli-Q-vand
- ▶ Super-Q-vand
- ▶ Vand af molekylærbiologisk kvalitet

## Brugerleveret udstyr

Artikel	Kilde
Fryser, -25°C til -15°C, frostfri	Almen laboratorie leverandør
Køleskab, 2°C til 8°C	Almen laboratorie leverandør

# Kapitel 3 Sekventering

Introduktion .....	15
Arbejdsgang for sekventering .....	16
Klargøring af reagenskassetten .....	16
Klargøring af flowcellen .....	17
Klargøring af biblioteker til sekventering .....	17
Konfiguration af en sekventeringskørsel .....	18
Overvågning af kørselsstatus .....	24
Automatisk vask efter kørslen .....	26

## Introduktion

Når du skal gennemføre en sekventeringskørsel på NextSeq 550Dx-instrumentet, skal du klargøre en reagenskassette og en flowcelle og derefter følge softwarens anvisninger vedrørende konfiguration og opstart af kørslen. Cluster-genereringen og sekventeringen udføres på instrumentet. Når kørslen er færdig, bliver der automatisk startet en instrumentvask med komponenter, der allerede er fyldt på instrumentet.

## Clustergenerering

I forbindelse med clustergenereringen bliver enkelte DNA-molekyler bundet til flowcellens overflade, hvorefter de bliver amplificeret for at danne clustre.

## Sekventering

Clustrene bliver fotograferet ved hjælp af sekventeringskemi baseret på to kanaler og filterkombinationer, der er specifikke for hver af de fluorescensmærkede nukleotider. Når billedoptagelsen af én flise på flowcellen er færdig, bliver den næste flise fotograferet. Processen gentages for hver sekventeringscyklus. Efter billedanalysen udfører softwaren basebestemmelse, filtrering og bestemmelse af kvalitetsscorer.

Overvåg kørselsstatus og statistik fra kontrolsoftwarens grænseflade, fra fanen Run (Kør) i BaseSpace eller fra en netværkstilsluttet computer ved hjælp af Sequencing Analysis Viewer (SAV). Se [Sequencing Analysis Viewer](#) på side 26.

## Analyse

I løbet af kørslen overfører kontrolsoftwaren automatisk base call-filer (BCL-filer) til BaseSpace eller den angivne outputplacering med henblik på den sekundære analyse.

Flere analysemetoder er tilgængelige afhængigt af din applikation program. Du kan finde yderligere oplysninger under *BaseSpace-hjælp* ([help.basespace.illumina.com](http://help.basespace.illumina.com)).

## Sekventeringskørselens varighed

Sekventeringskørselens varighed afhænger af antallet af udførte cyklusser. De kørsler, der varer længst, er paired end-læsninger med 150 cyklusser i hver læsning (2 x 150) plus op til 8 cyklusser i hver af de 2 indekslæsninger.

## Antal cyklusser i en læsning

I en sekventeringskørsel bliver der gennemført 1 ekstra cyklus i en læsning i forhold til antallet af analyserede cyklusser. Eksempel: I en paired end-læsning med 150 cyklusser bliver der gennemført læsninger af 151 cyklusser (2 x 151), altså 302 cyklusser i alt. Når kørslen er slut, udføres der analyse på 2 x 150 cyklusser. Den ekstra cyklus bliver brugt til beregninger af faseopdeling og præ-faseopdeling.

## Arbejdsgang for sekventering



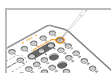
For konfigurationer, der bruger Illumina BaseSpace eller BaseSpace Onsite: Konfigurer kørslen på fanen BaseSpace Prep. Se *BaseSpace-hjælp* ([help.basespace.illumina.com](http://help.basespace.illumina.com)).



Klargør en ny reagenskassette: optø og kontrollér kassetten.  
Klargør en ny flowcelle: lad flowcellen opnå rumtemperatur, pak den ud, og kontrollér den.



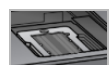
Denaturer og fortynd biblioteker (gælder ikke for alle bibliotekstyper). Se *Denaturing and Diluting Libraries for the NextSeq System* (dokumentnr. 15048776) (Denaturering og fortynding af biblioteker til NextSeq-systemet).



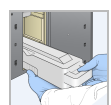
Overfør biblioteksfortyndingen til reagenskassetts reservoir nr. 10.



I softwaregrænsefladen skal du vælge **Sequence** (Sekventer) for at starte kørselskonfigurationstrinene.



Overfør flowcellen



Tøm beholderen med brugte reagenser, og sæt den på plads igen.  
Overfør bufferkassetten og reagenskassetten.



Gennemse kørselsparametre og resultater af automatisk kontrol. Vælg **Start**.



Overvåg kørslen fra kontrolsoftwarens grænseflade fra fanen Run (Kør) i BaseSpace eller fra en netværkstilsluttet computer ved hjælp af Sequencing Analysis Viewer.



Når sekventeringen er færdig, begynder instrumentvasken automatisk.

## Klargøring af reagenskassetten

Følg nedenstående anvisninger vedrørende reagenskassetten nøje for at opnå vellykket sekventering.

- 1 Tag reagenskassetten ud af fryseren (-25°C til -15°C).
- 2 Optø reagenserne ved hjælp af en af nedenstående metoder. Læg ikke kassetten i vand. Når kassetten er tøet op, skal du tørre den, inden du fortsætter til næste trin.

Temperatur	Optøningstid	Stabilitetsgrænse
Vandbad ved 15°C til 30°C	60 minutter	Maksimalt 6 timer
2°C til 8°C	7 timer	Maksimalt 5 dage



#### BEMÆRK!

Optøningstiden er længere, hvis der optøs mere end én kassette i samme vandbad.

- 3 Vend op og ned på kassetten fem 5 gange for at blande reagenserne.
- 4 Kontrollér bunden af kassetten for at sikre, at reagenserne er optøet og ikke indeholder bundfald. Kontrollér, at position 29, 30, 31 og 32 er optøet, da de er størst og tager længst tid om at tø op.
- 5 Bank forsigtigt kassetten mod bordet for at fjerne luftbobler.  
Fortsæt direkte til overførsel af prøven og konfiguration af kørslen for at opnå de bedste resultater.



#### ADVARSEL

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

## Klargøring af flowcellen

- 1 Tag en æske med en ny flowcelle ud af køleskabet (2°C til 8°C).
- 2 Sæt den udpakkede flowcelleæske til side ved rumtemperatur i 30 minutter.



#### BEMÆRK!

Hvis foliepakken er intakt, kan flowcellen opbevares ved rumtemperatur i op til 12 timer. Undgå gentagen nedkøling og opvarmning af flowcellen.

## Klargøring af biblioteker til sekventering

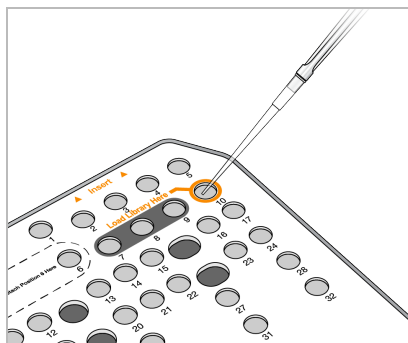
### Denaturer og fortynd biblioteker

Denaturer og fortynd dine biblioteker til en overførselsvolumen på 1,3 ml og en overførselskoncentration på 1,8 pM. I praksis kan overførselskoncentrationen variere afhængigt af biblioteksklargørings- og kvantificeringsmetoderne. Du kan finde instruktioner i *NextSeq System Denature and Dilute Libraries Guide* (dokumentnr. 15048776) (Vejledning i denaturering og fortynding af biblioteker til NextSeq-system).

### Overførsel af biblioteker til reagenskassetten

- 1 Rengør folieforseglingen, der dækker for reservoir nr. 10, som er mærket **Load Library Here** (Overfør bibliotek her), med en fnugfri serviet.
- 2 Prik hul på forseglingen med en ren 1 ml-pipettespids.
- 3 Overfør 1,3 ml klargjorte 1,8 pM biblioteker til reservoir nr. 10, der er mærket **Load Library Here** (Overfør bibliotek her). Undgå at røre ved folieforseglingen, når du hælder bibliotekerne i.

**Figur 10** Overførsel af biblioteker



## Konfiguration af en sekventeringskørsel

- 1 På startside skal du vælge **Experiment** (Eksperiment), og derefter vælge **Sequence** (Sekvens). Kommandoen Sequence (Sekvens) åbner døren til billedoptagelseskammeret, frigiver materialer fra en tidligere kørsel (hvis de er til stede), og åbner rækken af skærbilleder for kørselskonfiguration. Det kan tage lidt tid.

Hvis instrumentet er konfigureret til BaseSpace, bliver du bedt om at logge på BaseSpace. Hvis instrumentet er konfigureret til standalone-tilstand, er næste trin at overføre flowcellen.

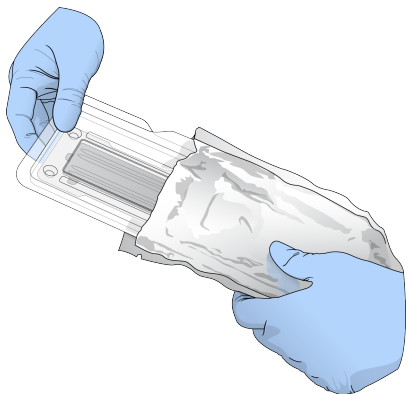
## Log på BaseSpace

- 1 Indtast dit brugernavn og din adgangskode til BaseSpace.
- 2 Vælg **Next** (Næste).

## Overførsel af flowcellen

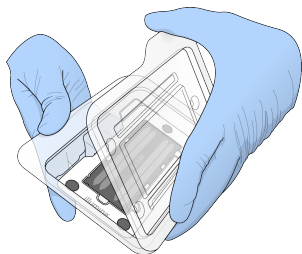
- 1 Fjern den flowcelle, der blev brugt ved sidste kørsel.
- 2 Tag flowcellen ud af folieemballagen.

**Figur 11** Flowcellen tages ud af folieemballagen



- 3 Åbn det klare plastiketui, og tag flowcellen ud.

**Figur 12** Flowcellen tages ud af etuiet



- 4 Rengør flowcellens glasoverflade med en frugfri alkoholserviet. Tør glasset med en frugfri laboratorieserviet.

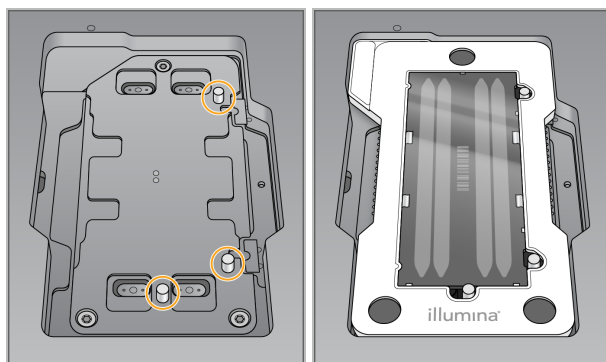


**BEMÆRK!**

Kontrollér, at flowcellens glasoverflade er ren. Gentag om nødvendigt rengøringstrinnet.

- 5 Anbring flowcellen ret over justeringsstykkerne på platformen.

**Figur 13** Overførsel af flowcellen



- 6 Vælg **Load** (Overfør).  
Døren lukker automatisk, flowcelle-id'et bliver vist på skærmen, og sensorerne bliver kontrolleret.



**BEMÆRK!**

Flyt hænderne fra flowcelledøren, så de ikke bliver klemt, når den lukker.

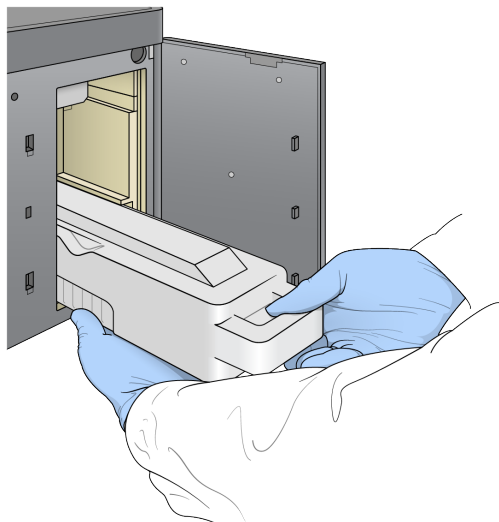
- 7 Vælg **Next** (Næste).

## Tømning af beholderen med brugte reagenser

- 1 Åbn døren til bufferkammeret ved hjælp af låsemekanismen under nederste venstre hjørne på døren.
- 2 Tag beholderen med de brugte reagenser ud, og bortskaf indholdet i overensstemmelse med gældende standarder.



**Figur 14** Udtagning af beholderen med brugte reagenser



**BEMÆRK!**

Anbring den ene hånd som støtte under beholderen, når du tager den ud.

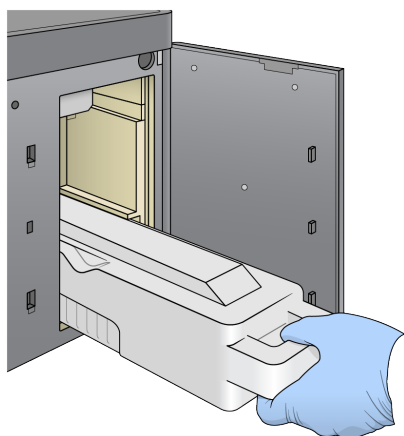


**ADVARSEL**

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 3 Skub den tomme beholder til brugte reagenser ind i bufferkammeret, indtil den ikke kan komme længere. Du kan høre, når beholderen klikker på plads.

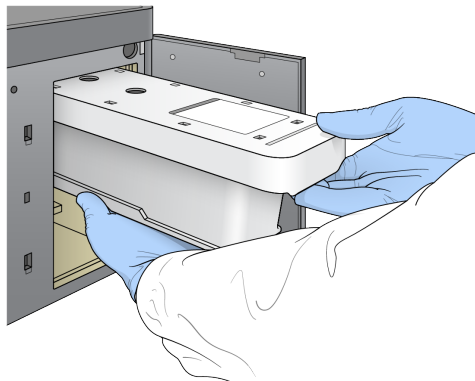
**Figur 15** Isætning af den tomme beholder til brugte reagenser.



## Indsættelse af bufferkassetten

- 1 Tag den brugte bufferkassette ud af det øverste kammer.  
Det kræver en vis kraft at løfte bufferkassetten og trække den ud.
- 2 Skub en ny bufferkassette ind i bufferkammeret, indtil den ikke kan komme længere.  
Du kan høre et klik, når kassetten kommer på plads, hvorefter bufferkassettsens id vises på skærmen, og sensoren bliver kontrolleret.

Figur 16 Indsættelse af bufferkassetten



- 3 Luk døren til bufferkammeret, og vælg **Next** (Næste).

## Indsættelse af reagenskassetten

- 1 Åbn døren til reagenskammeret ved hjælp af låsemekanismen under nederste højre hjørne på døren.
- 2 Tag den brugte reagenskassette ud af reagenskammeret. Ikke anvendt indhold bortskaffes i overensstemmelse med gældende standarder.



### ADVARSEL

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

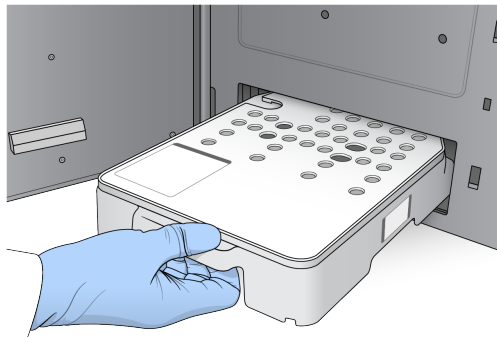


### BEMÆRK!

Reservoiret i position 6 kan tages ud, så ikke anvendt reagens nemt kan bortskaffes på sikker vis. Du kan finde yderligere oplysninger under *Udtagning af brugt reservoir i position 6* på side 22.

- 3 Skub reagenskassetten ind i reagenskammeret, indtil den ikke kan komme længere, og luk så døren til reagenskammeret.

**Figur 17** Overførsel af reagenskassetten

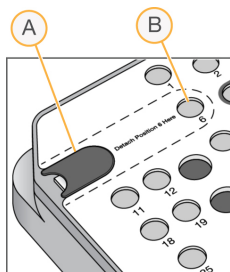


- 4 Vælg **Load** (Overfør).  
Softwaren flytter automatisk kassetten på plads (~30 sekunder), reagenskassetten id bliver vist på skærmen, og sensorerne bliver kontrolleret.
- 5 Vælg **Next** (Næste).

## Udtagning af brugt reservoir i position 6

- 1 Tag den **brugte** reagenskassette ud af instrumentet, og fjern beskyttelseslåget af gummi, der dækker for åbningen ved siden af position 6.

**Figur 18** Udtagelig position 6



- A Beskyttelseslåg af gummi
- B Position 6

- 2 Tryk ned på det klare plastikstykke, og skub det mod venstre for at skubbe reservoiret ud.
- 3 Bortskaf reservoiret i overensstemmelse med gældende standarder.

## Angivelse af kørselsparametre

Trinene på skærbilledet Run Setup (Kørselskonfiguration) afhænger af systemkonfigurationen:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace eller BaseSpace Onsite) – Skærbilledet Run Setup (Kørselskonfiguration) angiver kørsler, der blev konfigureret ved hjælp af fanen BaseSpace Prep. Hvis den planlagte kørsel ikke vises på skærbilledet Run Setup (Kørselsopsætning), skal du sørge for, at kørslen markeres til sekventering i BaseSpace.
- ▶ **Standalone** – Skærbilledet Run Setup (Kørselsopsætning) indeholder felter til at definere kørselsparametre.

## Vælg tilgængelig kørsel (BaseSpace-konfiguration)

- 1 Vælg et kørselsnavn på listen over tilgængelige kørsler.  
Brug op- og ned-pilene for at gennemse listen, eller indtast et kørselsnavn i feltet Search (Søg).
- 2 Vælg **Next** (Næste).
- 3 Bekræft kørselsparametrene
  - ▶ **Run Name** (Kørselsnavn) – Navn på kørslen som er tildelt i BaseSpace.
  - ▶ **Library ID** (Biblioteks-id) – Navn på de puljede biblioteker som er tildelt i BaseSpace.
  - ▶ **Recipe** (Opskrift) – Navn på opskriften, enten **NextSeq High** (NextSeq høj) eller **NextSeq Mid** (NextSeq Mellemmiddel) afhængigt af den reagenskassette, der anvendes til kørslen.
  - ▶ **Read Type** (Læsningstype) – Enkelt læsning eller paired-end.
  - ▶ **Read Length** (Læsningslængde) – Antal cyklusser for hver læsning.
  - ▶ **[Valgfrit]** Brugerdefinerede primers, hvis relevant.
- 4 **[Valgfrit]** Vælg knappen **Edit** (Rediger), for at ændre kørselsparametre. Vælg **Save** (Gem), når du er færdig.
  - ▶ **Run parameters** (Kørselsparametre) – Ret antallet af læsninger eller antallet af cyklusser pr. læsning.
  - ▶ **Custom primers** (Brugerdefinerede primere) – Ret indstillingerne for brugerdefinerede primere. Du kan finde yderligere oplysninger i *NextSeq Custom Primers Guide (dokumentnr. 15057456)* (Vejledning til brugerdefinerede primere til NextSeq).
  - ▶ **Purge consumables for this run** (Fjern materialer for denne kørsel) – Ret indstillingen for at fjerne materialer automatisk efter den aktuelle kørsel.
- 5 Vælg **Next** (Næste).

## Indtastning af kørselsparametre (Standalone-konfiguration)

- 1 Indtast et kørselsnavn efter eget valg.
- 2 **[Valgfrit]** Indtast et biblioteks-id efter eget valg.
- 3 Vælg en læsningstype, enten **Enkelt læsning** eller **Paired-end**.
- 4 Indtast antallet af cyklusser for hver læsning i sekventeringskørslen.
  - ▶ **Læsning 1** – Indtast en værdi op til 151 cyklusser.
  - ▶ **Indeks 1** – Indtast det nødvendige antal cyklusser for Indeks 1 (i7)-primeren.
  - ▶ **Indeks 2** – Indtast det nødvendige antal cyklusser for Indeks 2 (i5)-primeren.
  - ▶ **Læsning 2** – Indtast en værdi op til 151 cyklusser. Denne værdi er typisk det samme antal cyklusser som Læsning 1.


Kontrolsoftwaren bekræfter dine indtastninger ved hjælp af følgende kriterier:

  - ▶ Det samlede antal cyklusser overstiger ikke det maksimalt tilladte antal cyklusser
  - ▶ Cyklusser for Læsning 1 er større end de 5 cyklusser, der bruges til skabelongenerering.
  - ▶ Indeks-læsnings-cyklusser overstiger ikke Læsning 1- og Læsning 2-cyklusser
- 5 **[Valgfrit]** Hvis du bruger brugerdefinerede primere, skal du markere afkrydsningsfelter for de anvendte primere. Du kan finde yderligere oplysninger i *NextSeq Custom Primers Guide (Vejledning til brugerdefinerede primere til NextSeq) (dokumentnr. 15057456)*.
  - ▶ **Læsning 1** – Brugerdefineret primer til Læsning 1
  - ▶ **Indeks 1** – Brugerdefineret primer til Indeks 1
  - ▶ **Indeks 2** – Brugerdefineret primer til Indeks 2
  - ▶ **Læsning 2** – Brugerdefineret primer til Læsning 2

- [Valgfrit]** Vælg knappen **Advanced Settings** (Avancerede indstillinger)  for at ændre kørselsparametre.
  - ▶ Vælg en opskrift på rullemenuen Recipe (Opskrift). Kun compatible opskrifter er anført.
  - ▶ **Output folder location** (Placering af outputmappe) – Ret placeringen af outputmappen for den aktuelle kørsel. Vælg **Browse** (Gennemse), for at gå til en netværksplacering.
  - ▶ **Included file** (Inkluderet fil) – Vælg filer, der skal inkluderes i outputmappen, og som kan være nyttige ved behov for yderligere analyse. For eksempel manifestfiler og prøvelister.
  - ▶ **Purge consumables for this run** (Fjern materialer for denne kørsel) – Ret indstillingen for at fjerne materialer automatisk efter den aktuelle kørsel.
  - ▶ **Use run monitoring for this run** (Anvend kørselsovervågning for denne kørsel) – Ret indstillingen for at bruge kørselsovervågning i BaseSpace.
- Vælg **Next** (Næste).

## Gennemgang af prækørselskontrol

Softwareen udfører en automatisk prækørselskontrol af systemet. I løbet af kontrollen vises følgende indikatorer på skærmen:

- ▶ **Gråt flueben** – Kontrollen er ikke blevet udført endnu.
- ▶ **Ikon for igangværende kontrol**  – Kontrollen er i gang.
- ▶ **Grønt flueben** – Kontrollen blev bestået.
- ▶ **Rødt X** – Kontrollen blev ikke bestået. Ikke beståede elementer kræver handling, før du kan fortsætte. Se [Rettelse af fejl i forbindelse med automatisk kontrol på side 44](#).

Hvis du vil stoppe en igangværende automatisk kontrol, skal du trykke på knappen **Cancel** (Annuller). Tryk på knappen **Retry** (Prøv igen) for at genstarte kontrollen. Kontrollen bliver genoptaget fra den første ufuldstændige eller mislykkede kontrol.

Vælg fanen Category (Kategori), for at gennemse resultaterne af de enkelte kontroller i en kategori.

## Opstart af kørslen

Vælg **Start**, når den automatiske prækørselskontrol er færdig. Sekventeringskørslen går i gang.

Systemet kan konfigureres til at starte kørslen automatisk efter en vellykket kontrol. Se hvordan under [Konfiguration af indstillinger for kørselskonfiguration på side 13](#).

## Overvågning af kørselsstatus

- Du kan overvåge kørselsstatus, intensiteter og kvalitetsscorer via målinger på skærmen.

Figur 19 Status og målinger af sekventeringskørslen



- A **Run progress** (Kørselsstatus) – Viser det aktuelle trin og antallet af fuldførte cykluser for hver læsning. Statuslinjen er ikke proportionel med kørselshastigheden på hvert trin. Forventet dato og tidspunkt for afslutning af kørslen vises nederst.
- B **Q-Score** – Viser tildelingen af kvalitetsscorer (Q-scorer). Se *Kvalitetsscorebestemmelse på side 58*.
- C **Intensity** (Intensitet) – Viser 90-percentilens clusterintensitetsværdi for hver flise. De forskellige baser vises med farver: rød er A, grøn er C, blå er G, og sort er T.
- D **Cluster Density (K/mm<sup>2</sup>)** (Clusterdensitet (K/mm<sup>2</sup>)) – Viser antallet af detekterede clustre for kørslen.
- E **Clusters Passing Filter (%)** (Clustre, der passerer filteret (%)) – Viser procentdelen af clustre, der passerer filteret. Se *Clustre, der passerer filteret på side 58*.
- F **Estimated Yield (Gb)** (Estimeret udbytte (Gb)) – Viser det forventede antal baser for kørslen.
- G **Lot Information** (Batchoplysninger) – Viser sekventeringsmaterialernes batchnumre. Det viste nummer for flowcellen, er serienummeret.
- H **End Run** (Stop kørslen) – Stopper den igangværende sekventeringskørsel. Materialerne kan ikke genbruges.



#### BEMÆRK!

Når du har valgt Home (Startside), kan du ikke vende tilbage til visningen af kørselsmålinger. Kørselsmålinger er imidlertid tilgængelige i BaseSpace eller kan ses fra en standalone-computer ved hjælp af Sequencing Analysis Viewer (SAV).

## Cykluser med kørselsmålinger

Kørselsmålingerne bliver vist på forskellige tidspunkter af en kørsel.

- ▶ På trinnene med clustergenerering bliver der ikke vist nogen målinger.
- ▶ De første 5 cykluser er forbeholdt skabelongenerering.
- ▶ Der bliver vist kørselsmålinger efter cyklus 25, herunder clusterdensitet, clustre, der passerer filteret, udbytte og kvalitetsscorer.

## Dataoverførsel

Status	Illumina BaseSpace	BaseSpace Onsite	Standalone-instrument
Forbundet			
Forbundet og overfører data			
Ikke forbundet			
Deaktiveret			

Afhængigt af den valgte analysekonfiguration vises der et ikon på skærmen under kørslen, der indikerer dataoverførselsstatus.

Hvis dataoverførslen bliver afbrudt i løbet af kørslen, bliver dataene lagret midlertidigt på instrumentcomputeren. Når forbindelsen bliver genoprettet, fortsætter dataoverførslen automatisk. Hvis forbindelsen ikke bliver genoprettet, inden kørslen er færdig, skal dataene fjernes manuelt fra instrumentcomputeren, inden den næste kørsel bliver startet.

## Kørselskopieringstjeneste

NextSeq 550Dx systemsoftwarepakke omfatter en Kørselskopieringstjeneste. RTA v2 anmoder tjenesten om at kopiere filer fra en kildeplacering til en destinationsplacering, og tjenesten behandler kopieringsanmodningerne i den modtagne rækkefølge. Hvis der opstår en undtagelse, sættes filen i kopieringskøen igen baseret på antallet af filer i kopieringskøen.

## Sequencing Analysis Viewer

Sequencing Analysis Viewer-softwaren viser sekventeringsmålinger, der genereres under kørslen. Målinger vises i form af plots, grafer og tabeller på baggrund af data genereret af RTA og skrevet til InterOp-filer. Målinger opdateres i løbet af kørslen. Vælg **Refresh** (Opdater) på et vilkårligt tidspunkt under kørslen, for at få vist opdaterede målinger. Du kan finde yderligere oplysninger i *Sequencing Analysis Viewer User Guide (part # 15020619)* (Brugervejledning til Sequencing Analysis Viewer).

Sequencing Analysis Viewer er inkluderet i den software, der installeres på instrumentcomputeren. Du kan også installere Sequencing Analysis Viewer på en anden computer, der er tilsluttet samme netværk som instrumentet, for at fjernovervåge kørselsmålinger.

## Automatisk vask efter kørslen

Når sekventeringskørslen er fuldført, starter softwaren en automatisk vask med vaskeopløsningen i bufferkassetten og NaOCl i reagenskassetten. Hvis muligheden Purge consumables for the run (Fjern materialer for kørslen) er aktiveret, foregår denne fjernelse inden den automatiske vask efter kørslen.

Den automatiske vask efter kørslen tager cirka 90 minutter. Når vasken er færdig, bliver knappen Home (Startside) aktiv. Sekventeringsresultaterne bliver stående på skærmen under vasken.

## Efter vasken

Efter vasken bliver sugerørene nede for at forhindre, at der kommer luft ind i systemet. Lad kassetterne blive i instrumentet indtil næste kørsel.

# Kapitel 4 Scanning

Introduktion .....	27
Arbejdsgang for scanning .....	28
Download af DMAP-mappen .....	28
Overfør BeadChip til adapteren .....	29
Konfigurer en scanning .....	30
Overvågning af scanningsstatus .....	32

## Introduktion

For at udføre en scanning på NextSeq 550Dx-instrumentet skal du bruge følgende kørselskomponenter:

- ▶ En hybridiseret og farvet BeadChip
- ▶ Den genanvendelige BeadChip-adapter
- ▶ Decode Map (DMAP)-filer til den BeadChip, du bruger
- ▶ En manifestfil til den type BeadChip, du bruger
- ▶ En clusterfil til den type BeadChip, du bruger

Outputfiler genereres under scanningen, og sættes derefter i kø til overførsel til den anførte outputmappe.

Udfør analyse ved hjælp af BlueFuse Multi-softwaren, som kræver tilstedeværelse af scanningsdata i et GTC-filformat (genotypebestemmelse). Som standard genererer NextSeq 550Dx-instrumentet normaliserede data og tilknyttede genotypebestemmelser i formatet for en GTC-fil. Alternativt kan du konfigurere instrumentet, til at generere yderligere IDAT-filer (intensitetsdata). Du kan finde yderligere oplysninger under *Konfiguration af BeadChip-scanning* på side 52.

## Decode File Client

DMAP-mappen indeholder oplysninger, der identificerer bead-positioner på BeadChip, og kvantificerer det signal, der er forbundet med hver bead. En DMAP-mappe er unik for hver BeadChip-stregkode.

Ved hjælp af Decode File Client-programmet kan du downloade DMAP-mapper direkte fra Illumina-servere ved hjælp af en standard-HTTP-standard HTTP-protokol.

For at få adgang til Decode File Client skal du gå til [Decode File Client-supportsiden](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) på Illuminas websted (support.illumina.com/array/array\_software/decode\_file\_client/downloads.html). Installér Decode File Client på en computer med adgang til DMAP-mappens netværksplacering.

Du kan finde yderligere oplysninger under *Download af DMAP-mappen* på side 28.

## Manifestfiler og clusterfiler

For hver BeadChip skal softwaren have adgang til en manifestfil og en clusterfil. Hver manifestfil og clusterfil er unik for en BeadChip-type. Sørg for at bruge clusterfiler, hvor NS550 indgår i filnavnet. Disse filer er kompatible med NextSeq 550Dx-systemet.

- ▶ **Manifestfil** – Manifestfiler beskriver SNP- eller probeindhold på en BeadChip. Manifestfiler bruger \*.bpm-filformatet.
- ▶ **Clusterfiler** – Clusterfiler beskriver clusterpositionerne for Illumina-genotypebestemmelsesarray, og bruges til analyse af data med henblik på genotypebestemmelse. Clusterfiler bruger \*.egt-filformatet.



Placeringen af filerne er anført på skærmbilledet BeadChip Scan Configuration (BeadChip-scanningskonfiguration). På startsiden skal du vælge **Manage Instrument** (Administrer instrument), **System Configuration** (Systemkonfiguration) og derefter **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-scanningskonfiguration).

Når NextSeq 550Dx-instrumentet installeres, downloader Illumina-repræsentanten disse filer, og angiver stien i kontrolsoftwaren. Der er ikke behov for at ændre disse filer bortset fra i tilfælde af tab, eller hvis en ny version er tilgængelig. Du kan finde yderligere oplysninger under *Erstatning af manifestfiler og clusterfiler* på side 49.

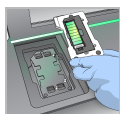
## Arbejdsgang for scanning

### DMAP

Download DMAP-oplysningerne, og gem dem på den anførte DMAP-mappeplacering.



Overfør BeadChip til BeadChip-adapteren.



Overfør BeadChip-adapteren til instrumentet.



Angiv scanningsparametre: DMAP-mappeplacering og outputplacering.



Gennemse resultater af automatisk kontrol.  
Vælg **Start**.



Overvåg scanningen fra kontrolsoftwarens grænseflade.

## Download af DMAP-mappen

Du kan få adgang til DMAP -mappen ved hjælp af Decode File Client i henhold til med konto eller BeadChip (standardvisning).

### Åbn DMAP-mappen i henhold tilmed konto

- 1 På hovedfanen for Decode File Client skal du vælge en downloadmulighed:
  - ▶ AutoPilot
  - ▶ Alle BeadChips, der endnu ikke er downloadet
  - ▶ Alle BeadChips
  - ▶ BeadChips i henhold til indkøbsordre
  - ▶ BeadChips i henhold til strejkode
- 2 Indtast de nødvendige oplysninger.
- 3 Find den DMAP-mappe, som du vil downloade.

- 4 Sørg for at have tilstrækkelig ledig plads på downloaddestinationen.
- 5 Start download. Se downloadstatus på fanen Download Status (Downloadstatus) og Log.
- 6 Gem DMAP-mappen på den angivne DMAP-mappeplacering.

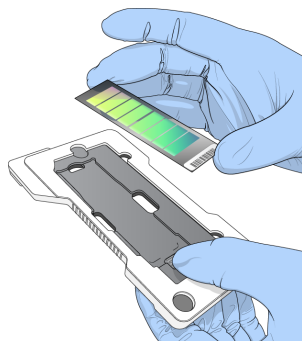
## Åbn DMAP-mappen i henhold tilmed BeadChip

- 1 Identifier BeadChips ved hjælp af 2 af følgende muligheder:
  - ▶ BeadChip-stregkode
  - ▶ Kasse-id for BeadChips
  - ▶ Indkøbsordrenummer
  - ▶ Salgsordrenummer
- 2 Find den DMAP-mappe, som du vil downloade.
- 3 Sørg for at have tilstrækkelig ledig plads på downloaddestinationen.
- 4 Start download. Se downloadstatus på fanen Download Status (Downloadstatus) og Log.
- 5 Gem DMAP-mappen på den angivne DMAP-mappeplacering.

## Overfør BeadChip til adapteren

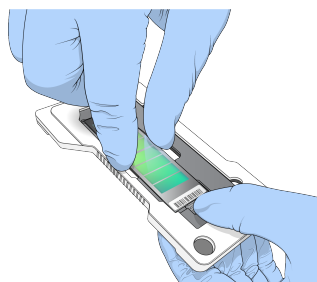
- 1 Tryk ned på adapterens fastgørelsesklips. Klipsen vipper lidt tilbage og åbner sig.
- 2 Hold på kanten af BeadChip, placer BeadChip med stregkoden nær fastgørelsesklipsen, og placer BeadChip i udskæringen på adapteren.

**Figur 20** Overfør BeadChip til adapteren



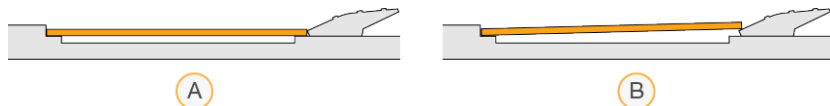
- 3 Ved hjælp af åbningerne på hver side af BeadChip skal du sørge for, at BeadChip ligger korrekt i udskæringen på adapteren.

**Figur 21** Placer og fastgør BeadChip



- Udløs forsigtigt fastgørelsesklipsen for at fastgøre BeadChip.
- Inspicer BeadChip fra siden for at sikre, at den ligger helt fladt på adapteren. Placer BeadChip igen, hvis det er nødvendigt.

**Figur 22** Kontrollér placeringen af BeadChip



- A Korrekt placering – BeadChip ligger fladt på adapteren, når klipsen er udløst.  
B Forkert placering – BeadChip ligger ikke fladt, når klipsen er udløst.

## Konfigurer en scanning

- På startsiden skal du vælge **Experiment** (Eksperiment), og derefter vælge **Scan**. Kommandoen Scan åbner døren til billedoptagelseskammeret, frigiver materialer fra en tidligere kørsel (hvis de er til stede), og åbner rækken af skærbilleder for scaningskonfiguration. Det kan tage lidt tid.

## Tag sekventeringsmaterialer ud

Hvis der er brugte sekventeringsmaterialer, når du konfigurerer en scanning, beder softwaren dig om at tage reagenskassetten og bufferkassetten ud, inden du fortsætter til næste trin.

- Hvis du bliver bedt om det, skal du fjerne brugte sekventeringsmaterialer fra en tidligere sekventeringskørsel.
  - Tag reagenskassetten ud af reagenskammeret. Ikke anvendt indhold bortskaffes i overensstemmelse med gældende standarder.
  - Tag den brugte bufferkassette ud af bufferkammeret.



### ADVARSEL

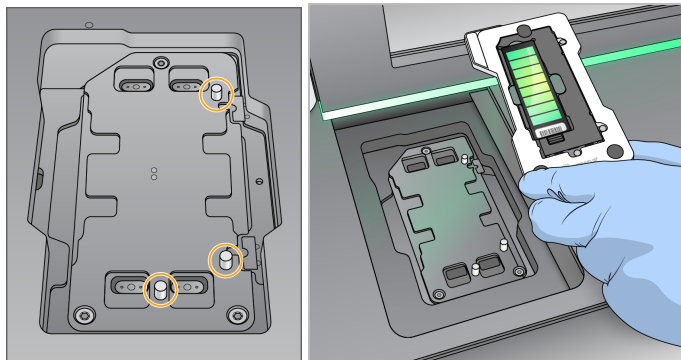
Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

- Tag flowcellen ud af billedoptagelseskammeret .
- Luk dørene til reagenskammeret og bufferkammeret.

## Overfør BeadChip-adapteren

- Brug justeringsstykkerne til at placere BeadChip-adapteren i holderen.

**Figur 23** Overfør BeadChip-adapteren




- 2 Vælg **Load** (Overfør).  
Døren lukker automatisk, BeadChip-id'et bliver vist på skærmen, og sensorerne bliver kontrolleret. Det kan tage lidt tid. Hvis BeadChip-stregkoden ikke kan læses, vises en dialogboks, hvor du kan indtaste stregkoden manuelt. Se *Software kan ikke læse BeadChip-stregkoden på side 48*.
- 3 Vælg **Next** (Næste).

## Scanningskonfiguration

- 1 På skærbilledet Scan Setup (Scanningskonfiguration) skal du bekræfte følgende oplysninger:
  - ▶ **Barcode** (Stregkode) – Softwaren læser BeadChip-stregkoden, når BeadChip er overført. Hvis stregkoden blev indtastet manuelt, vises knappen Edit (Rediger), så der kan foretages yderligere ændringer.
  - ▶ **Type** – Feltet for BeadChip-type udfyldes automatisk på baggrund af BeadChip-stregkoden.
  - ▶ **DMAP Location** (DMAP-placering) – DMAP-mappeplaceringen er anført på skærbilledet BeadChip Scan Configuration (BeadChip-scanningskonfiguration). For kun at ændre placeringen for den aktuelle scanning skal du vælge **Browse** (Gennemse), og gå til den korrekte placering.
  - ▶ **DMAP Location** (Outputplacering) – Outputplaceringen er anført på skærbilledet BeadChip Scan Configuration (BeadChip-scanningskonfiguration). For kun at ændre placeringen for den aktuelle scanning skal du vælge **Browse** (Gennemse), og gå til den foretrukne placering.
- 2 Vælg **Next** (Næste).

## Gennemgang af prækørselskontrol

Softwaren udfører en automatisk prækørselskontrol af systemet. I løbet af kontrollen vises følgende indikatorer på skærmen:

- ▶ **Gråt flueben** – Kontrollen er ikke blevet udført endnu.
- ▶ **Ikon for igangværende kontrol**  – Kontrollen er i gang.
- ▶ **Grønt flueben** – Kontrollen blev bestået.
- ▶ **Rødt X** – Kontrollen blev ikke bestået. Ikke beståede elementer kræver handling, før du kan fortsætte. Se *Rettelse af fejl i forbindelse med automatisk kontrol på side 44*.

Hvis du vil stoppe en igangværende automatisk kontrol, skal du trykke på knappen **Cancel** (Annuller). Tryk på knappen **Retry** (Prøv igen) for at genstarte kontrollen. Kontrollen bliver genoptaget fra den første ufuldstændige eller mislykkede kontrol.

Vælg fanen Category (Kategori), for at gennemse resultaterne af de enkelte kontroller i en kategori.

## Start scanningen

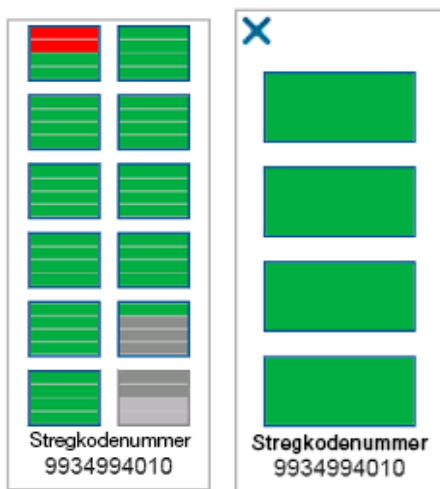
Vælg **Start**, når den automatiske kontrol er færdig. Scanningen starter.

Systemet kan konfigureres til at starte scanningen automatisk efter en vellykket kontrol. Se hvordan under *Konfiguration af indstillinger for kørselskonfiguration* på side 13.

## Overvågning af scanningsstatus

- 1 Overvågning af scanningsstatus ved hjælp af BeadChip-billedet. Hver farve på billedet angiver scanningsstatus.
  - ▶ **Lysegrå** – Ikke scannet.
  - ▶ **Mørkegrå** – Scannet, men ikke registreret.
  - ▶ **Grøn** – Scannet og registreret uden problemer.
  - ▶ **Rød** – Scanning og registrering mislykkedes.Hvis registrering mislykkes, kan du scanne prøver med mislykkede sektioner igen. Se *Mislykket BeadChip-scanning* på side 48.
- 2 Vælg BeadChip-billedet for at skifte mellem fuld visning og detaljeret visning af en valgt prøve.
  - ▶ Den fulde visning viser prøverne på BeadChip'en og sektioner inden for hver prøve.
  - ▶ Den detaljerede visning viser hver sektion inden for den valgte prøve.

Figur 24 BeadChip-billede: Fuld visning og detaljeret visning



### BEMÆRK!

Hvis en scanning bliver stoppet, kan den ikke genoptages. Hvis du stopper scanningen, før den er fuldført, gemmes scanningsdataene *ikke*.

## Dataoverførsel

Data sættes i overførselskøen i scanningsoutputmappen, når scanningen er fuldført. Data skrives midlertidigt til instrumentcomputeren. Den midlertidige mappe slettes automatisk fra instrumentcomputeren, når en efterfølgende scanning startes.

Den tid, det tager at overføre data, afhænger af din netværksforbindelse. Inden start af en efterfølgende scanning skal du sikre, at data er skrevet til outputmappen. For at kontrollere skal du sikre, at der er GTC-filer i stregkodemappen. Du kan finde yderligere oplysninger under *Struktur af scanningsoutputmappe på side 65*.

Hvis forbindelsen afbrydes, genoptages dataoverførslen automatisk, når forbindelsen er genoprettet. Hver fil har en timer på 1 time efter, at den er blevet sat i overførselskø til outputmappen. Når timeren udløber, eller hvis instrumentet genstartes, inden overførslen er afsluttet, skrives der ikke data til outputmappen.



# Kapitel 5 Vedligeholdelse

Introduktion .....	35
Udførelse af manuel vask .....	35
Udskiftning af luftfilter .....	38
Softwareopdateringer .....	39
Indstillinger for genstart og nedlukning .....	41

## Introduktion

Vedligeholdelsesprocedurer omfatter manuel instrumentvask og opdateringer af systemsoftware, når de er tilgængelige.

- ▶ **Instrumentvask** – En automatisk vask efter hver sekventeringskørsel vedligeholder instrumentets ydeevne. I visse tilfælde er det imidlertid nødvendigt at udføre en manuel vask med jævne mellemrum. Se *Udførelse af manuel vask på side 35*.
- ▶ **Softwareopdateringer** – Når en opdateret version af systemsoftwaren er tilgængelig, kan du installere opdateringen automatisk via en forbindelse til BaseSpace eller manuelt efter download af installationsprogrammet fra Illumina-webstedet. Se *Softwareopdateringer på side 39*.
- ▶ **Udskiftning af luftfilteret** – Regelmæssig udskiftning af luftfilteret sikrer korrekt luftgennemstrømning i instrumentet.

## Forebyggende vedligeholdelse

Illumina anbefaler forebyggende vedligeholdelsesservice en gang om året. Kontakt din lokale account manager eller Illuminas tekniske support for at bestille forebyggende service mod betaling, hvis du ikke har en servicekontrakt på instrumentet.

## Udførelse af manuel vask

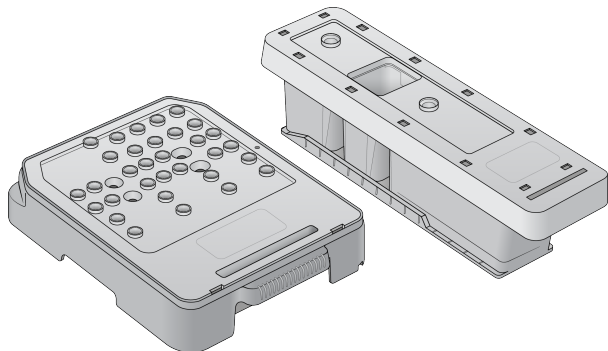
Du starter en manuel vask på startside. Du kan vælge mellem Quick Wash (Hurtigvask) og Manual Post-Run Wash (Manuel vask efter kørslen).

Vasketyper	Beskrivelse
Quick Wash (Hurtigvask) Varighed: 20 minutter	Gennemskyller systemet med en brugerleveret vaskeopløsning bestående af vand godkendt til laboratorier og Tween 20 (buffervaskekassette). <ul style="list-style-type: none"><li>• Påkrævet hver 14. dag, når instrumentet er inaktivt med isat reagenskassette og bufferkassette.</li><li>• Påkrævet hver 7. dag, når instrumentet er i tør tilstand (uden reagenskassetten og bufferkassetten).</li><li>• Påkrævet efter en nedlukning.</li></ul>
Manual Post-Run Wash (Manuel vask efter kørslen) Varighed: 90 minutter	Gennemskyller systemet med en brugerleveret vaskeopløsning bestående af vand godkendt til laboratorier og Tween 20 (buffervaskekassette) og 0,12 % natriumhypochlorit (reagensvaskekassette). Påkrævet, hvis den automatiske vask efter kørslen ikke blev gennemført.

Den manuelle vask kræver reagensvaskekassetten og buffervaskekassetten, som leveres sammen med instrumentet, og en brugt flowcelle. En brugt flowcelle kan bruges til instrumentvask op til 20 gange.



Figur 25 Reagensvaskekassette og buffervaskekassette



## Klargøring til manuel vask efter kørslen

Vælg, om du vil gøre klar til en manuel vask efter kørslen, som beskrevet nedenfor, eller til en hurtigvask (næste afsnit). Hvis du vil udføre en manuel vask efter kørslen, skal du springe afsnittet om hurtigvask over og fortsætte til *Isætning af brugt flowcelle og vaskekassetter på side 37*.

Brugerleverede materialer	Volumen og beskrivelse
NaOCl	1 ml, fortyndet til 0,12 % Overføres til reagensvaskekassetten (position nr. 28)
100 % Tween 20 Vand godkendt til laboratorier	Anvendes til fremstilling af 125 ml 0,05 % Tween 20-vaskeopløsning Overføres til buffervaskekassetten (midterste reservoir)

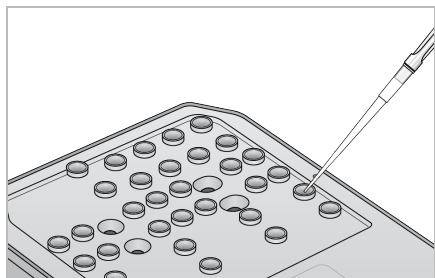


### BEMÆRK!

Anvend altid en frisk fortynding af NaOCl, der er klargjort inden for de sidste **24 timer**. Hvis du klargør en volumen over 1 ml, kan den resterende fortynding sættes til opbevaring ved 2°C til 8°C og anvendes inden for de næste 24 timer. Ellers skal den resterende NaOCl-fortynding kasseres.

- 1 Bland følgende voluminer i et mikrocentrifugerør for at opnå 1 ml 0,12 % NaOCl:
  - ▶ 5 % NaOCl (24 µl)
  - ▶ Vand godkendt til laboratorier (976 µl)
- 2 Vend op og ned på røret for at blande indholdet.
- 3 Hæld 1 ml 0,12 % NaOCl i reagensvaskekassetten. Det korrekte reservoir svarer til position nr. **28** på den fyldte kassette.

Figur 26 Overførsel af NaOCl



- Bland følgende voluminer for at opnå en 0,05 % Tween 20-vaskeopløsning:
  - ▶ 100 % Tween 20 (62 µl)
  - ▶ Vand godkendt til laboratorier (125 ml)
- Hæld 125 ml vaskeopløsning i det midterste reservoir på buffervaskekassetten.
- Vælg **Perform Wash** (Udfør vask), og vælg så **Manual Post-Run Wash** (Manuel vask efter kørslen).

## Klargøring til en hurtigvask

Som alternativ til *Klargøring til manuel vask efter kørslen på side 36* kan du klargøre til en hurtigvask, som beskrevet nedenfor.

Brugerleverede materialer	Volumen og beskrivelse
100 % Tween 20 Vand godkendt til laboratorier	Anvendes til fremstilling af 40 ml 0,05 % Tween 20-vaskeopløsning Overføres til buffervaskekassetten (midterste reservoir)

- Bland følgende voluminer for at opnå en 0,05 % Tween 20-vaskeopløsning:
  - ▶ 100 % Tween 20 (20 µl)
  - ▶ Vand godkendt til laboratorier (40 ml)
- Hæld 40 ml vaskeopløsning i det midterste reservoir på buffervaskekassetten.
- Vælg **Perform Wash** (Udfør vask), og vælg så **Quick Wash** (Hurtigvask).

## Isætning af brugt flowcelle og vaskekassetter

- Hvis der ikke er en brugt flowcelle i instrumentet, skal du indsætte en brugt flowcelle. Vælg **Load** (Overfør), og vælg så **Next** (Næste).
- Tag beholderen med de brugte reagenser ud, og bortskaf indholdet i overensstemmelse med gældende standarder.



### ADVARSEL

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- Skub den tomme beholder til brugte reagenser ind i bufferkammeret, indtil den ikke kan komme længere.
- Fjern den brugte bufferkassette fra sidste kørsel, hvis der er nogen.
- Overfør buffervaskekassetten, der indeholder vaskeopløsning.
- Fjern den brugte reagenskassette fra sidste kørsel, hvis der er nogen.
- Sæt reagensvaskekassetten i instrumentet.
- Vælg **Next** (Næste). Kontrollen inden vasken begynder automatisk.

## Igang sættelse af vask

- 1 Vælg **Start**.
- 2 Vælg **Home** (Startside), når vasken er færdig.

## Efter vasken

Efter vasken bliver sugerørerne nede for at forhindre, at der kommer luft ind i systemet. Lad kassetterne blive i instrumentet indtil næste kørsel.

## Udskiftning af luftfilter

Luftfilteret sikrer korrekt luftgennemstrømning i instrumentet. NextSeq 550Dx Operating Software i diagnostisk tilstand på instrumentet viser en notifikation om udskiftning af luftfilter hver 90. dag. Når beskeden kommer, kan du vælge **Remind in 1 day** (Påmind mig om 1 dag) eller følge nedenstående procedure og derefter vælge **Filter Changed** (Filter udskiftet). Når du vælger **Filter Changed** (Filter udskiftet), starter nedtællingen til næste udskiftningsbesked om 90 dage.

- 1 Tag det nye luftfilter ud af emballagen, og notér installationsdatoen på filterrammen.
- 2 Tryk ned på toppen af filterbakken bag på instrumentet for at frigøre bakken.
- 3 Tag fat i toppen af filterbakken, og træk den helt op af instrumentet.
- 4 Tag det gamle luftfilter ud, og kassér det.
- 5 Sæt det nye luftfilter i bakken.

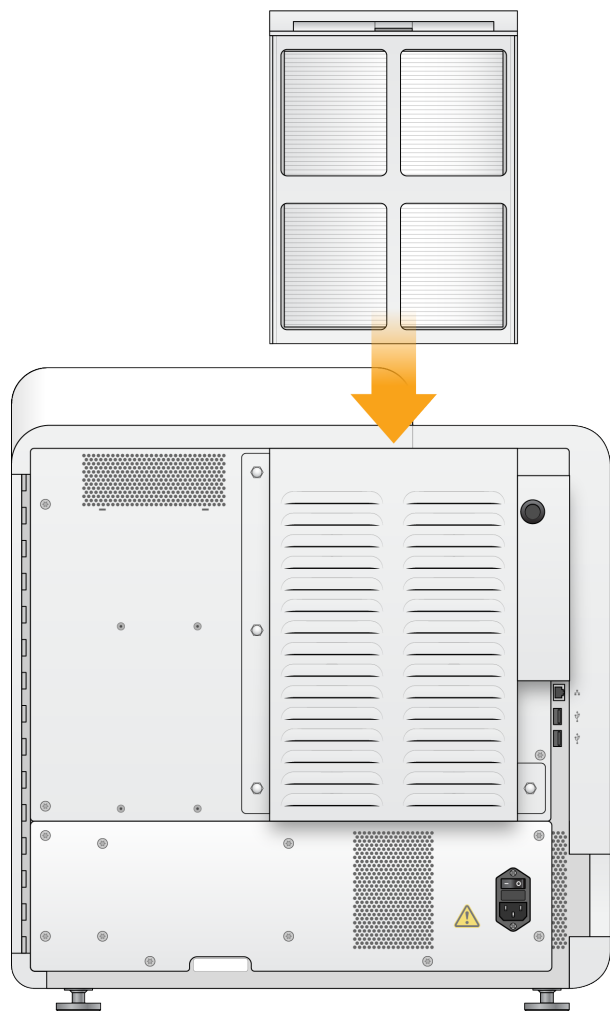


### BEMÆRK!

Luftfilteret virker ikke korrekt, hvis det vender forkert. Sørg for at indsætte filteret i bakken, så du kan se den grønne pil ("Up") og ikke advarselmærket. Pilen skal pege mod håndtaget på filterbakken.

- 6 Skub filterbakken ned i instrumentet. Tryk ned på toppen af filterbakken, indtil den klikker på plads.

Figur 27 Isætning af luftfilter




## Softwareopdateringer

Softwareopdateringer er pakket i en softwarepakke, som kaldes for systempakken, og indeholder følgende software:

- ▶ NextSeq Control Software (NCS)
- ▶ NextSeq-opskrifter
- ▶ RTA2
- ▶ NextSeq Service Software (NSS)
- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

Du kan installere softwareopdateringer automatisk ved hjælp af en internetforbindelse eller manuelt fra en netværks- eller USB-placering.

- ▶ **Automatic updates** (Automatiske opdateringer) – For instrumenter tilsluttet et netværk med internetadgang vises et advarselsikon  på knappen **Manage Instrument** (Administrer instrument) på startside, når en opdatering er tilgængelig.
- ▶ **Manual updates** (Manuelle opdateringer) – Download installationsprogrammet til systempakken fra [support siden til NextSeq 550Dx-instrumentet](#) på Illumina-webstedet.

## Automatisk softwareopdatering

- 1 Vælg **Manage Instrument** (Administrer instrument).
- 2 Vælg **Software Update** (Softwareopdatering).
- 3 Vælg **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Installér opdateringen, der allerede er downloadet fra BaseSpace).
- 4 Vælg **Update** (Opdater) for at starte opdateringen. En dialogboks åbner, for at bekræfte kommandoen.
- 5 Følg anvisningerne i installationsvejledningen:
  - a Godkend licensaftalen.
  - b Gennemse produktbemærkningerne.
  - c Gennemse listen over software inkluderet i opdateringen.

Når opdateringen er færdig, genstarter kontrolsoftwaren automatisk.



### BEMÆRK!

Hvis en firmwareopdatering er inkluderet, er der behov for en automatisk genstart af systemet efter opdatering af denne firmware.

## Manuel softwareopdatering

- 1 Download installationsprogrammet til systempakken fra Illumina-webstedet og gem det et sted på netværket. Alternativt kan softwareinstallationsfilen kopieres til et bærbart USB-drev.
- 2 Vælg **Manage Instrument** (Administrer instrument).
- 3 Vælg **Software Update** (Softwareopdatering).
- 4 Vælg **Manually install the update from the following location** (Installér opdateringen manuelt fra følgende placering).
- 5 Vælg **Browse** (Gennemse), for at gå til placeringen for softwareinstallationsfilen, og vælg dernæst **Update** (Opdater).
- 6 Følg anvisningerne i installationsvejledningen:
  - a Godkend licensaftalen.
  - b Gennemse produktbemærkningerne.
  - c Gennemse listen over software inkluderet i opdateringen.

Når opdateringen er færdig, genstarter kontrolsoftwaren automatisk.



### BEMÆRK!

Hvis en firmwareopdatering er inkluderet, er der behov for en automatisk genstart af systemet efter opdatering af denne firmware.

## Indstillinger for genstart og nedlukning

Tryk på knappen Shut Down Options (Indstillinger for nedlukning) for at få adgang til følgende funktioner:

- ▶ Restart (Genstart) – Instrumentet åbnes i Dx-tilstand.
- ▶ Shutdown (Luk ned) – Instrumentet åbnes i Dx-tilstand.
- ▶ Exit to Windows (Afslut til Windows) – Afhængigt af dine brugerrettigheder kan du lukke NCS, og gå til visning af Windows.

## Genstart i diagnostisk tilstand

Brug kommandoen Restart (Genstart) for til at lukke instrumentet sikkert ned og genstarte det i diagnostisk tilstand. Instrumentet genstarter som standard i diagnostisk tilstand.

- 1 Vælg **Manage Instrument** (Administrer instrument).
- 2 Vælg **Shutdown Options** (Nedlukningsmuligheder).
- 3 Vælg **Restart** (Genstart).

## Nedlukning af instrumentet

- 1 Vælg **Manage Instrument** (Administrer instrument).
- 2 Vælg **Shutdown Options** (Nedlukningsmuligheder).
- 3 Vælg **Shut Down** (Luk ned).  
Funktionen Shut Down (Luk ned) lukker softwaren på sikker vis og afbryder strømmen til instrumentet. Vent mindst 60 sekunder, før du tænder instrumentet igen.



### BEMÆRK!

Instrumentet starter som standard i diagnostisk tilstand, når det bliver tændt.



### FORSIGTIG

*Flyt ikke* instrumentet. Forkert flytning af instrumentet kan påvirke den optiske justering og kompromittere dataintegriteten. Hvis du skal flytte instrumentet, skal du kontakte Illumina-repræsentanten.

## Exit to Windows (Afslut til Windows)

Kommandoen Exit to Windows (Udgang til Windows) giver adgang til instrumentets operativsystem og alle foldere på instrumentcomputeren. Kommandoen lukker softwaren på sikker vis, og afslutter til Windows.

- 1 Vælg **Manage Instrument** (Administrer instrument).
- 2 Vælg **Shutdown Options** (Nedlukningsmuligheder).
- 3 Vælg **Exit to Windows** (Udgang til Windows).



# Bilag A Fejlfinding

Introduktion .....	43
Fejlfindingsfiler .....	43
Rettelse af fejl i forbindelse med automatisk kontrol .....	44
Beholderen med brugte reagenser er fuld .....	46
Arbejdsgang ved rehybridisering .....	46
BeadChip- og scanningsfejl .....	48
Brugerdefinerede opskrifter og opskriftsmapper .....	50
RAID-fejlbesked .....	50
Konfiguration af systemindstillinger .....	50

## Introduktion

I forbindelse med tekniske spørgsmål henvises der til supportsiderne fortil NextSeq 550Dx-instrumentet på Illumina-webstedet. Supportsiderne indeholder dokumentation, downloads og ofte stillede spørgsmål.

Log på din Myllumina-konto for at få adgang til supportmeddelelser.

Kontakt Illuminas tekniske support i tilfælde af problemer med kørselskvaliteten eller ydeevnen. Se *Teknisk hjælp* på side 71.

Overvej at dele et link til kørselsoversigten i BaseSpace med Illuminas tekniske support, for at lette fejlfinding.

## Fejlfindingsfiler

Illuminas tekniske supportmedarbejdere kan bede om kopier af kørselsspecifikke eller scanningspecifikke filer i forbindelse med fejlfinding. Følgende filer anvendes typisk til fejlfinding.

### Fejlfindingsfiler til sekventeringskørsler

Nøglefil	Mappe	Beskrivelse
Kørselsoplysningsfil (RunInfo.xml)	Rodmappe	Indeholder følgende oplysninger: <ul style="list-style-type: none"><li>• Kørselsnavn</li><li>• Antal cyklusser i kørslen</li><li>• Antal cyklusser i hver læsning</li><li>• Angivelse af, om læsningen er indekseret</li><li>• Antal udsnit og fliser på flowcellen</li></ul>
Kørselsparameterfil (RunParameters.xml)	Rodmappe	Indeholder oplysninger om kørselsparametrene og kørselskomponenterne. Oplysningerne omfatter RFID, serienummer, delnummer og udløbsdato.
RTA-konfigurationsfil (RTAConfiguration.xml)	Rodmappe	Indeholder RTA-konfigurationsindstillingerne for kørslen. Filen RTAConfiguration.xml bliver oprettet i starten af kørslen.
InterOp-filer (*.bin)	InterOp	Binære rapporteringsfiler anvendt til Sequencing Analysis Viewer. InterOp-filerne opdateres i løbet af kørslen.
Log-filer	Logs	Logfilerne indeholder en beskrivelse af alle de trin, som instrumentet har udført for hver cyklus, og en angivelse af de anvendte software- og firmwareversioner i forbindelse med kørslen. Filen [Instrumentnavn]_CurrentHardware.csv indeholder en liste med instrumentkomponenternes serienumre.
Fejllogfiler (*ErrorLog*.txt)	RTA logs	RTA-fejllog. Fejllogfilerne bliver opdateret hver gang, der opstår en fejl.
Globale logfiler (*GlobalLog*.tsv)	RTA logs	Log over alle RTA-hændelser. De globale logfiler bliver opdateret under kørslen.



## RTA-fejl

For at udføre fejlfinding i forbindelse med RTA-fejl skal du først kontrollere loggen over RTA-fejl, som findes i mappen RTALogs. Denne fil findes ikke for vellykkede kørsler. Vedhæft fejl-loggen, når du kontakter Illuminas tekniske support.

## Fejlfinding af filer til arrayscanninger

Nøglefil	Mappe	Beskrivelse
Filen Scan parameters (ScanParameters.xml)	Rodmappe	Indeholder oplysninger om scanningsparametre. Oplysningerne omfatter scanningsdato, BeadChip-stregkode, clusterfilplacering og manifestfilplacering.
Log-filer	Logs	Logfiler beskriver hvert trin, der udføres på instrumentet under scanningen.
Målingsfiler	[Stregkode] [Barcode]	Målinger angives som prøvemålinger og sektionmålinger. <b>[barcode]_sample_metrics.csv</b> – For hver prøve og kanal (rød og grøn) anføres Percent Off Image, Percent Outliers, P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev og Min Registration Score. <b>[barcode]_section_metrics.csv</b> – For hver sektion og felt anføres Laser Z-position, Through Focus Z-position, Red FWHM, Green FWHM, Red Avg Pixel Intensity, Green Avg Pixel Intensity, Red Registration Score og Green Registration Score.
Omscanningsfil	[Stregkode] [Barcode]	<b>[barcode]_rescan.flowcell</b> – Anfører feltplaceringerne justeret for en omscanning, som omfatter en øget felt-til-felt-overlapning.

## Rettelse af fejl i forbindelse med automatisk kontrol

Hvis der opstår fejl i løbet af den automatiske kontrol, kan de løses ved hjælp af de anbefalede handlinger nedenfor. Automatiske kontroller er forskellige for sekventerings- og arrayscanninger.

## Kontroller i forbindelse med sekventeringskørsler

Hvis prækørselskontrollen mislykkes, bliver reagenskassetens RFID ikke spærret, og den kan anvendes til en senere kørsel. RFID'en bliver imidlertid spærret, når der er blevet prikket hul på folieforseglingerne.

Systemkontroller	Anbefalet handling
Doors Closed (Lukkede døre)	Kontrollér, at kammerdørene er lukkede.
Consumables Loaded (Overførte materialer)	Materiale-sensorene registrerer ingenting. Kontrollér, at alle materialer er korrekt overført. Vælg <b>Back</b> (Tilbage) på skærmene med kørselskonfiguration for at vende tilbage til overførselstrinnet, og gentag kørselskonfigurationen.
Required Software (Nødvendig software)	Der mangler vigtige softwarekomponenter. Foretag en manuel softwareopdatering for at gendanne alle softwarekomponenter.
Instrument Disk Space (Diskplads på instrumentet)	Der er ikke nok diskplads på instrumentets harddisk til at gennemføre en kørsel. Det er muligt, at data fra en tidligere kørsel ikke er blevet overført. Slet kørselsdata fra instrumentets harddisk.
Network Connection (Netværksforbindelse)	Netværksforbindelsen blev afbrudt. Kontrollér netværksstatussen og den fysiske netværksforbindelse.
Network Disk Space (Diskplads på netværket)	Enten er BaseSpace-kontoen eller netværksserveren fuld.

Temperatur	Anbefalet handling
Temperature (Temperatur)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Temperature Sensors (Temperatursensorer)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Fans (Ventilatorer)	Kontakt Illuminas tekniske support.

Imaging System (Billedoptagelsessystem)	Anbefalet handling
Imaging Limits (Billedoptagelsesgrænser)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Z Steps-and-Settle	Kontakt Illuminas tekniske support.
Bit Error Rate (Bitfejlrate)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Flow Cell Registration (Registrering af flowcelle)	Flowcellen er muligvis ikke placeret korrekt. <ul style="list-style-type: none"> <li>Vælg <b>Back</b> (Tilbage) på skærmene med kørselskonfiguration for at vende tilbage til flowcelletrinnet. Dørene til billedoptagelseskammeret går op.</li> <li>Tag flowcellen ud, og sæt den i igen, så du er sikker på, at den er placeret korrekt.</li> </ul>

Reagensforsyning	Anbefalet handling
Valve Response (Ventilrespons)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Pump (Pumpe)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Buffer Mechanism (Buffermekanisme)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Spent Reagents Empty (Tømning af brugte reagenser)	Tøm beholderen med brugte reagenser, og sæt den tomme beholder på plads igen.

## Kontroller i forbindelse med arrayscanninger

Systemkontroller	Anbefalet handling
Doors Closed (Lukkede døre)	Kontrollér, at kammerdørene er lukkede.
Consumables Loaded (Overførte materialer)	Materiale-sensorerne registrerer ingenting. Kontrollér, at alle materialer er korrekt overført. Vælg <b>Back</b> (Tilbage) på skærmene med kørselskonfiguration for at vende tilbage til overførselstrinnet, og gentag kørselskonfigurationen.
Required Software (Nødvendig software)	Der mangler vigtige softwarekomponenter. Foretag en manuel softwareopdatering for at gendanne alle softwarekomponenter.
Verificer inputfiler	Sørg for, at stien til clusterfilen og manifestfilen er korrekt, og at filerne er til stede.
Instrument Disk Space (Diskplads på instrumentet)	Der er ikke nok diskplads på instrumentets harddisk til at gennemføre en kørsel. Det er muligt, at data fra en tidligere kørsel ikke er blevet overført. Slet kørselsdata fra instrumentets harddisk.
Network Connection (Netværksforbindelse)	Netværksforbindelsen blev afbrudt. Kontrollér netværksstatussen og den fysiske netværksforbindelse.
Network Disk Space (Diskplads på netværket)	Enten er BaseSpace-kontoen eller netværksserveren fuld.

Imaging System (Billedoptagelsessystem)	Anbefalet handling
Imaging Limits (Billedoptagelsesgrænser)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Z Steps-and-Settle	Kontakt Illuminas tekniske support.
Bit Error Rate (Bitfejlrate)	Kontakt Illuminas tekniske support.
Auto-Center	Tag BeadChip-adapteren ud. Sørg for, at BeadChip ligger i adapteren, og isæt adapteren igen.

## Beholderen med brugte reagenser er fuld

Start altid en kørsel med en tom beholder til brugte reagenser.

Hvis du starter en kørsel uden at fjerne beholderen med brugte reagenser, vil systemsensorerne få softwaren til at sætte kørslen på pause, når beholderen er fuld. Systemsensorerne kan ikke sætte en kørsel på pause under clusterdannelsen, paired end-ryntesen eller den automatiske vask efter kørslen.

Når kørslen bliver sat på pause, bliver der åbnet en dialogboks, som giver mulighed for at hæve sugerørene og tømme beholderen.

## Tømning af beholderen med brugte reagenser

- 1 Vælg **Raise Sippers** (Hæv sugerør).
- 2 Tag beholderen med brugte reagenser ud, og bortskaf indholdet korrekt.
- 3 Sæt den tomme beholder tilbage i bufferkammeret.
- 4 Vælg **Continue** (Fortsæt). Kørslen genoptages automatisk.

## Arbejdsgang ved rehybridisering

Det kan være nødvendigt med en rehybridiseringskørsel, hvis de målinger, der blev genereret under de første par cyklusser, viser intensiteter under 2500. Visse biblioteker med lav diversitet kan vise intensiteter under 1000, hvilket forventes, og kan ikke løses med rehybridisering.



### BEMÆRK!

Kommandoen End Run (Stop kørslen) er endelig. Kørslen kan ikke genoptages, kørselsmaterialer kan ikke genbruges, og sekventeringsdataene fra kørslen bliver ikke gemt.

Når du stopper en kørsel, udfører softwaren følgende trin, inden kørslen stopper:

- ▶ Placerer flowcellen i en sikker tilstand.
- ▶ Låser flowcellens RFID op til en senere kørsel.
- ▶ Giver flowcellen en udløbsdato for rehybridisering.
- ▶ Skriver kørselslogge for gennemførte cyklusser. Det kan tage lidt tid.
- ▶ Omgår den automatiske vask efter kørsel.

Når du starter en rehybridisering, udfører softwaren følgende trin for at udføre kørslen:

- ▶ Opretter en kørselsmappe baseret på et unikt kørselsnavn.
- ▶ Kontrollerer, at datoen for rehybridisering af flowcellen ikke er udløbet.
- ▶ Klargør reagenser. Det kan tage lidt tid.

- ▶ Springer clusterdannelsestrinnet over.
- ▶ Fjerner den tidligere Læsning 1-primer.
- ▶ Hybridiserer en frisk Læsning 1-primer.
- ▶ Fortsætter med Læsning 1 og resten af kørslen ud fra angivne kørselsparametre.

## Tidspunkter for afslutning af kørsel med henblik på rehybridisering

Senere rehybridisering er kun mulig, hvis du stopper kørslen på følgende tidspunkter:

- ▶ **Efter cyklus 5** – Intensiteter vises efter skabelonregistrering, hvilket kræver de første 5 sekventeringscykluser. Selvom det er sikkert at stoppe en kørsel efter cyklus 1, anbefales det at stoppe den efter cyklus 5. Stop ikke en kørsel under generering af cluster.
- ▶ **Læsning 1 eller Indeks 1-læsning** – Stop kørslen, *inden* paired end-resyntesen begynder. Flowcellen kan ikke gemmes til senere rehybridisering, når paired end-resyntesen er begyndt.

## Nødvendige materialer

En rehybridiseringskørsel kræver en ny NextSeq 550Dx-reagenskassette og bufferkassette, uanset hvornår kørslen blev stoppet.

## Afslutning af aktuel kørsel

- 1 Vælg **End Run** (Stop kørslen). Når du bliver bedt om at bekræfte kommandoen, skal du vælge **Yes** (Ja).
- 2 Når du bliver bedt om at gemme flowcellen, skal du vælge **Yes** (Ja). Bemærk udløbsdatoen for rehybridisering.
- 3 Fjern den gemte flowcelle, og opbevar den ved 2°C til 8°C, indtil du er klar til at konfigurere rehybridiseringskørslen.



### BEMÆRK!

Du kan opbevare flowcellen i op til 7 dage ved 2°C til 8°C i plastiketuiet *uden* posen med tørremiddel. De bedste resultater opnås, hvis den opbevarede flowcelle rehybridiseres inden for 3 dage.

## Udførelse af manuel vask

- 1 Vælg **Perform Wash** (Udfør vask) på startsideen.
- 2 På skærbilledet Wash Selection (Valg af vask), skal du vælge **Manual Post-Run Wash** (Manual vask efter kørsel). Se [Udførelse af manuel vask på side 35](#).



### BEMÆRK!

Hvis du ikke har fjernet reagenskassetten og bufferkassetten fra den stoppede kørsel, kan du bruge dem til den manuelle vask. Ellers skal den manuelle vask udføres med reagensvaskekassetten og buffervaskekassetten.

## Konfiguration af ny kørsel på fanen BaseSpace Prep

- 1 Hvis instrumentet er konfigureret til BaseSpace eller BaseSpace Onsite, skal du konfigurere en ny kørsel på fanen Prep ved hjælp af samme parametre som den oprindelige kørsel.



## SPIDS

Klik på fanen Pools (Puljer), og vælg det relevante Pool ID (Pulje-id) for at bevare de tidligere kørselsindstillinger, og giv derefter den nye kørsel et unikt navn.

## Konfiguration af en kørsel på instrumentet

- 1 Klargør en ny reagenskassette.
- 2 Hvis den gemte flowcelle blev opbevaret, skal den først nå rumtemperatur (15-30 minutter).
- 3 Rengør og overfør den gemte flowcelle.
- 4 Tag beholderen med de brugte reagenser ud, og bortskaf indholdet korrekt. Isæt herefter den tomme beholder.
- 5 Overfør den nye bufferkassette og reagenskassette.
- 6 På skærbilledet Run Setup (Kørselskonfiguration) skal du vælge en af følgende muligheder:
  - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace eller BaseSpace Onsite) – Vælg kørslen, og bekræft kørselsparametrene.
  - ▶ **Standalone** – Indtast navnet på kørslen, og angiv de samme parametre som den oprindelige kørsel.
- 7 Vælg **Next** (Næste) for at fortsætte til prækørselskontrollen, og start kørslen.

## BeadChip- og scanningsfejl

### Software kan ikke læse BeadChip-stregkoden

Når dialogboksen for stregkodefejl vises, skal du vælge en af følgende muligheder:

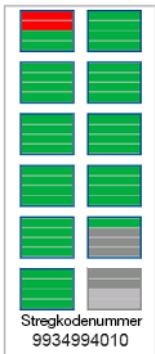
- ▶ Vælg **Rescan** (Scan igen). Softwaren forsøger at læse stregkoden igen.
- ▶ Vælg tekstfelt, og indtast den numeriske stregkode, som vist på billedet. Afhængigt af BeadChip'en har stregkodenumrene op til 12 cifre. Vælg **Save** (Gem). Stregkodebilledet gemmes i outputmappen.
- ▶ Vælg **Cancel** (Annuller). Dørene til billedoptagelseskammeret går op, så BeadChip-adapteren kan tages ud.

### Mislykket BeadChip-scanning

Billeder registreres, når de er scannet. Ved registrering identificeres beads ved at korrelere placeringer på det scannede billede med oplysninger anført i bead-kortet eller DMAP-mappen.

Sektioner, der ikke registreres, markeres med rødt på BeadChip-billedet.

**Figur 28** BeadChip, der viser mislykkede afsnit



Når scanningen er afsluttet, og scanningsdataene er skrevet til outputmappen, bliver knappen Rescan (Scan igen) aktiv.

Når Rescan (Scan igen) vælges, udfører softwaren følgende trin:

- ▶ Foretager en ny scanning af prøver, der indeholder mislykkede sektioner, ved hjælp af øget felt-til-felt overlappning.
- ▶ Genererer outputfiler i den oprindelige outputmappe.
- ▶ Overskriver tidligere outputfiler for mislykkede sektioner.
- ▶ Øger scanningstælleren med 1 for hver omscanning. Dette foregår i baggrunden. Softwaren omdøber ikke outputmappen.

## Scan igen, eller start ny scanning

- 1 Vælg **Rescan** (Scan igen) for at scanne prøver, der indeholder mislykkede sektioner.
- 2 Hvis scanning fortsat mislykkes, skal den afsluttes.
- 3 Fjern BeadChip og adapter, og inspicer BeadChip for støv og rester. Brug en trykluftbeholder/trykluftsbekholder eller anden trykluftbaseret afstøvningsmetode, til at fjerne resterne.
- 4 Isæt BeadChip, og start en ny scanning.

Når en ny scanning startes, udfører softwaren følgende trin:

- ▶ Scanner hele BeadChip.
- ▶ Genererer outputfiler i en ny outputmappe.
- ▶ Øger scanningstælleren med 1 baseret på scanningstællingen for den sidste omscanning

## Erstatning af manifestfiler og clusterfiler

- 1 Gå til Illuminas supportside ([support.illumina.com](https://support.illumina.com)), for at finde den BeadChip, som du bruger, og klik på fanen **Downloads**.
- 2 Download de filer, der skal erstattes eller opdateres, og kopiér filerne til din foretrukne netværksplacering.



### **BEMÆRK!**

Husk at vælge manifest- og clusterfiler, der er kompatible med NextSeq 550Dx-instrumentssystemet. Kompatible filer har **NS550** i filnavnet.


- 3 Kun hvis placeringen er ændret, skal placeringen opdateres på skærmbilledet BeadChip Scan Configuration (BeadChip-scanningskonfiguration) som følger:
  - a På NCS-startsiden skal du vælge **Manage Instrument** (Administrer instrument).
  - b Vælg **System Configuration** (Systemkonfiguration).
  - c Vælg **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-scanningskonfiguration).
- 4 Vælg **Browse** (Gennemse), og gå til placeringen for de erstattede eller opdaterede filer.

## Brugerdefinerede opskrifter og opskriftsmapper

Originale opskrifter må ikke ændres. Tag altid en kopi af den originale opskrift med et nyt navn. Hvis en original opskrift ændres, kan softwareopdateringsprogrammet ikke længere genkende opskriften til senere opdateringer, og nyere versioner installeres ikke.

Gem brugerdefinerede opskrifter i den relevante opskriftsmappe. Opskriftsmapper er organiseret som følger.


### **Brugerdefineret**

 **Høj** – Brugerdefinerede opskrifter anvendt med et sæt med højt output.

 **Mellemmiddel** – Brugerdefinerede opskrifter anvendt med et sæt med mellemmiddel output.

 **Høj** – Originale opskrifter anvendt med et sæt med højt output.

 **Mellemmiddel** – Originale opskrifter anvendt med et sæt med mellemmiddel output.

 **Vask** – Indeholder manuel vaskeopskrift.

## RAID-fejlbesked

NextSeq 550Dx-computeren er udstyret med fire harddiske, to til diagnostisk tilstand og to til forskningstilstand. Hvis en harddisk begynder at svigte, genererer systemet en RAID-fejlbesked og foreslår, at du kontakter Illuminas tekniske support. Det vil som regel være nødvendigt at udskifte harddisken.

Du kan fortsætte trinnene med kørselskonfiguration og normal drift. Formålet med beskeden er at opfordre til planlægning af service før tid for at undgå afbrydelser i den normale instrumentdrift. Vælg **Close** (Luk), for at fortsætte.

## Konfiguration af systemindstillinger

Systemet bliver konfigureret i forbindelse med installationen. Hvis der er brug for en ændring, eller hvis systemet skal omkonfigureres, gøres det ved brug af indstillingerne for systemkonfiguration. Indstillingerne for systemkonfiguration kan kun tilgås via en Windows-administratorkonto.

- ▶ **Network Configuration** (Netværkskonfiguration) – Giver mulighed for at konfigurere indstillingerne for IP-adresse, DNS-adresse, computernavn og domænenavn.
- ▶ **Analysis Configuration** (Analysekonfiguration) – Indeholder valgmuligheder for analysemetoder, herunder BaseSpace, BaseSpace Onsite, standalone-tilstand og kørselsovervågning i BaseSpace samt indstillinger for et standard-BaseSpace-logon og rapportering om instrumentets tilstand.
- ▶ **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-scanningskonfiguration) – Giver mulighed for at angive standard-DMAP-standard DMAP-mappeplacering, outputmappeplacering, filformat for gemte billeder og outputfiltype.

## Indstillinger for netværkskonfiguration

- 1 Vælg **System Configuration** (Systemkonfiguration) på skærmen Manage Instrument (Administrer instrument).

- 2 Vælg **Network Configuration** (Netværkskonfiguration).
- 3 Vælg **Obtain an IP address automatically** (Hent automatisk en IP-adresse) for at få IP-adressen via DHCP-serveren.



#### **BEMÆRK!**

Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) er en standardnetværksprotokol, der automatisk tildeler dynamiske IP-adresser til enhederne på et netværk.

Alternativt kan du vælge **Use the following IP address** (Brug følgende IP-adresse) for at forbinde instrumentet til en anden server manuelt, som følger. Kontakt din netværksadministrator for at få de specifikke adresser til den pågældende facilitet.

- ▶ Indtast IP-adressen. IP-adressen består af 4 tal, der er adskilt af punktummer, for eksempel 168.62.20.37.
  - ▶ Indtast undernetmasken, som er en undergruppe i IP-netværket.
  - ▶ Indtast standardgatewayen, som er den router på netværket, der forbinder til internettet.
- 4 Vælg **Obtain a DNS server address automatically** (Hent automatisk en DNS-serveradresse) for at forbinde instrumentet til den navneserver for domænet, der er knyttet til IP-adressen.  
Alternativt kan du vælge **Use the following DNS server addresses** (Vælg følgende DNS-serveradresser) for at forbinde instrumentet til domænets navneserver manuelt, som følger.
    - ▶ Indtast den foretrukne DNS-adresse. DNS-adressen er det servernavn, der anvendes til at oversætte domænenavne til IP-adresser.
    - ▶ Indtast den alternative DNS -adresse. Den alternative adresse bliver anvendt, hvis den foretrukne DNS ikke kan oversætte et bestemt domænenavn til en IP-adresse.
  - 5 Vælg **Save** (Gem) for at Vælg Save (Gem), for at gå videre til skærmen Computer.



#### **BEMÆRK!**

Instrumentcomputeren får tildelt et navn, når den bliver fremstillet. Ændringer i computernavnet kan påvirke forbindelsen og skal udføres af en netværksadministrator.

- 6 Forbind instrumentcomputeren til et domæne eller en arbejdsgruppe, som følger.
  - ▶ **Instrumenter, der er forbundet til internettet** – Vælg **Member of Domain** (Medlem af domæne), og indtast så det domænenavn, der er knyttet til internetforbindelsen på den pågældende facilitet. Domæneændringer kræver administratorbrugernavn og -adgangskode.
  - ▶ **Instrumenter, der ikke er forbundet til internettet** – Vælg **Member of Work Group** (Medlem af arbejdsgruppe), og indtast så et arbejdsgruppenavn. Arbejdsgruppenavnet er unikt for den pågældende facilitet.
- 7 Vælg **Save** (Gem).

## Angivelse af analysekonfiguration


- 1 Vælg **System Configuration** (Systemkonfiguration) på skærmen Manage Instrument (Administrer instrument).
- 2 Vælg **Analysis Configuration** (Analysekonfiguration).
- 3 Vælg en af følgende muligheder for at angive en placering, hvor data overføres til med henblik på efterfølgende analyse.
  - ▶ Vælg **BaseSpace** for at sende sekventeringsdata til Illumina BaseSpace. **[Valgfrit]** Markér afkrydsningsfeltet **Output Folder** (Outputmappe), vælg **Browse** (Gennemse), og gå til en sekundær netværksplacering for at gemme BCL-filer ud over BaseSpace.



- ▶ Vælg **BaseSpace Onsite**. I feltet Server Name (Servernavn) skal du indtaste den komplette sti til din BaseSpace Onsite-server. **[Valgfrit]** Markér afkrydsningsfeltet **Output Folder** (Outputmappe), vælg **Browse** (Gennemse), og gå til en sekundær netværksplacering for at gemme BCL-filer ud over BaseSpace Onsite-serveren.
- ▶ Vælg **Standalone instrument** (Standalone-instrument) for kun at gemme data på en netværksplacering. Vælg **Browse** (Gennemse), og gå til en foretrukken netværksplacering. Kontrolsoftwaren genererer automatisk outputmappens navn.
  - ▶ **[Valgfrit]** Vælg **Use Run Monitoring** (Anvend kørselsovervågning) for at overvåge kørslen med visualiseringsværktøjer i BaseSpace. Der skal bruges BaseSpace-logonoplysninger og en internetforbindelse.
- 4 Hvis du valgte BaseSpace eller BaseSpace Onsite, skal BaseSpace-parametrene indstilles, som følger.
  - ▶ Indtast et **brugernavn** og en **adgangskode** til BaseSpace for at registrere instrumentet i BaseSpace.
  - ▶ Vælg **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Brug standardlogon, og omgå BaseSpace-logonskærmen) for at indstille det registrerede brugernavn og adgangskode som standardlogon. Med denne indstilling omgås BaseSpace-skærmen under kørselskonfiguration.
- 5 Vælg **Send instrument health information to Illumina** (Send instrumentfunktionsdata til Illumina) for at aktivere overvågningstjenesten Illumina Proactive. Indstillingen kan have et andet navn i softwarens brugergrænseflade end i denne vejledning, afhængigt af hvilken NOS-version du bruger. Når denne indstilling er aktiveret, bliver der sendt instrumentfunktionsdata til Illumina. Disse data hjælper Illumina med at udføre fejlfinding og opdage potentielle fejl og muliggør dermed proaktiv vedligeholdelse og optimering af instrumentets effektive driftstid. Du kan finde yderligere oplysninger om fordelene ved denne tjeneste i *Illumina Proactive Technical Note (Teknisk notat om Illumina Proactive)* (dokumentnr. 1000000052503).

Tjenesten:

  - ▶ Sender ingen sekventeringsdata
  - ▶ Kræver, at instrumentet er forbundet til et netværk med internetadgang
  - ▶ Kræver, at instrumentet er forbundet til BaseSpace

 **BEMÆRK!**  
Denne funktion er ikke tilgængelig for BaseSpace Onsite

  - ▶ Er aktiveret som standard. Du kan fravælge denne tjeneste ved at deaktivere indstillingen **Send instrument health information to Illumina** (Send oplysninger om instrumentets tilstand til Illumina).
- 6 Vælg **Save** (Gem).

## Konfiguration af BeadChip-scanning

- 1 Vælg **System Configuration** (Systemkonfiguration) på skærmen Manage Instrument (Administrer instrument).
- 2 Vælg **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-scanningskonfiguration).
- 3 For at angive en standard -DMAP-mappeplacering skal du vælge **Browse** (Gennemse), og gå til den foretrukne mappeplacering på dit facilitetsnetværk.



### BEMÆRK!

Inden hver scanning skal du downloade og kopiere DMAP-indholdet til denne placering. DMAP-indhold er påkrævet for hver BeadChip, og er unik for hver BeadChip-stregkode.

- 4 For at angive en standardoutputplacering, skal du vælge **Browse** (Gennemse), og gå til den foretrukne placering på dit facilitetsnetværk.
- 5 Vælg et billedfilformat til gemte billeder. Standardbilledtypen er **JPG**.
- 6 Vælg et outputfilformat til scanningsdata. Standardoutputfiltypen er **kun GTC**.
- 7 Vælg **Save** (Gem).
- 8 Fra skærbilledet Scan Map (Scanningskort) skal du angive den komplette sti til manifestfilen og clusterfilen for hver BeadChip-type. Vælg **Browse** (Gennemse) for hver filtype, og gå til mappeplaceringen, der indeholder disse filer.
- 9 **[Valgfrit]** Vælg **Hide Obsolete BeadChips** (Skjul forældede BeadChips) for at fjerne forældede BeadChips fra visningen.
- 10 Vælg **Save** (Gem).



# Bilag B Real-Time Analysis

Oversigt over Real-Time Analysis .....	55
Arbejdsgang i Real-Time Analysis .....	56

## Oversigt over Real-Time Analysis

NextSeq 550Dx-instrumentet anvender en version af Real-Time Analysis (RTA)-softwaren, der hedder RTA2. RTA2 kører på instrumentcomputeren og ekstraherer intensiteter fra billederne, udfører basebestemmelse og tildeler kvalitetsscorer til basebestemmelserne. RTA2 og kontrolsoftwaren kommunikerer via en webbaseret HTTP-interface og delte hukommelsesfiler. Hvis RTA2 bliver afbrudt, bliver behandlingen ikke genoptaget, og kørselsdataene bliver ikke gemt.



### BEMÆRK!

Demultiplexering beregnes ikke. Derfor udfyldes fanen Index (Indeks) i Sequencing Analysis Viewer (SAV) ikke.

## RTA2-input

RTA2-behandlingen kræver følgende input:

- ▶ Flisebillederne i den lokale systemhukommelse.
- ▶ RunInfo.xml, som bliver genereret automatisk i starten af kørslen, og som indeholder kørselsnavnet, antallet af cyklusser, angivelse af, om læsningen er indekseret, og antallet af fliser på flowcellen.
- ▶ RTA.exe.config, som er en softwarekonfigurationsfil i XML-format.

RTA2 modtager oplysninger fra kontrolsoftwaren om, hvor RunInfo.xml er placeret, og hvorvidt der er angivet en valgfri outputmappe.

## Outputfiler i RTA v2

Billeder af hver kanal bliver gemt som fliser. Fliser er små billedoptagelsesområder på flowcellen, der svarer til kameraets synsfelt. Ud fra disse billeder frembringer softwaren output i form af et sæt basebestemmelsesfiler med kvalitetsscorer og filterfiler. Alle andre filer er understøttende outputfiler.

Filtype	Beskrivelse
Basebestemmelsesfiler	Alle analyserede fliser bliver medtaget i en aggregeret basebestemmelsesfil (*.bcl.bgzf) for hver bane og for hver cyklus. Den aggregerede basebestemmelsesfil indeholder basebestemmelsen og den tilhørende kvalitetsscore for hver cluster i den pågældende bane.
Filterfiler	Hver flise frembringer filteroplysninger, som bliver aggregeret i 1 filterfil (*.filter) for hver bane. Filterfilen angiver, om en cluster passerer filtrene.
Clusterplaceringsfiler	Clusterplaceringsfiler (*.locs) indeholder X- og Y-koordinaterne for hver cluster på en flise. Der bliver genereret en clusterplaceringsfil for hver bane i forbindelse med skabelongenereringen.
Basebestemmelsesindeksfiler	Der bliver oprettet en basebestemmelsesindeksfil (*.bci) for hver bane for at bevare de oprindelige fliseoplysninger. Indeksfilen indeholder to værdier for hver flise: flisenummeret og antallet af clustre på den pågældende flise.

Outputfiler bruges til nedstrømsanalyse i BaseSpace. Alternativt kan du bruge bcl2fastq-konverteringssoftware til FASTQ-konvertering og tredjepartsanalyteløsninger. NextSeq 550Dx-filer skal bruge bcl2fastq v2.0 eller nyere. For den nyeste version af bcl2fastq henvises til siden [NextSeq 550Dx-downloads](#) på Illuminas websted.

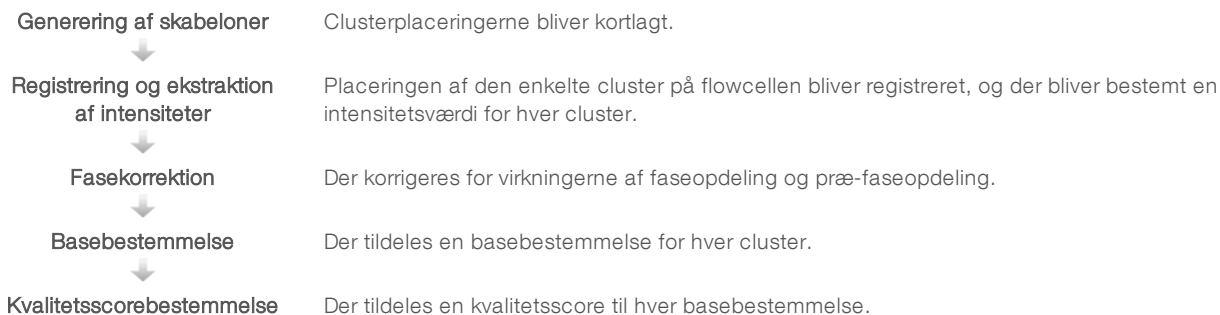
RTA v2 frembringer realtidsmålinger af kørselskvaliteten, der bliver lagret som InterOp-filer. InterOp-filer er binære output indeholdende felt-, cyklus- og læsningsniveaumålinger, som kræves for at se realtidsmålinger ved hjælp af Sequencing Analysis Viewer (SAV). For den nyeste version af SAV henvises til siden [SAV-downloads](#) på Illuminas websted.

## Fejlhåndtering

RTA2 opretter logfiler og gemmer dem i mappen RTALogs. Fejl bliver registreret i en fejlfil i filformatet \*.tsv. Følgende log- og fejlfiler bliver overført til den endelige outputplacering efter endt behandling:

- ▶ \*GlobalLog\*.tsv opsummerer vigtige kørselshændelser.
- ▶ \*Error\*.tsv indeholder en liste over de fejl, der opstod under en kørsel.
- ▶ \*WarningLog\*.tsv indeholder en liste over advarsler, der opstod under en kørsel.

## Arbejdsgang i Real-Time Analysis



## Generering af skabeloner

Det første trin i arbejdsgangen i RTA er genereringen af skabeloner, som definerer placeringen af hver cluster på en flise ved brug af X- og Y-koordinater.

Genereringen af skabeloner kræver billeddata fra de første 5 cyklusser i kørslen. Når den sidste skabeloncyklus for en flise er blevet fotograferet, bliver skabelonen genereret.



### BEMÆRK!

For at påvise en cluster i løbet af skabelon-genereringen skal der være mindst 1 base, som ikke er G, i de første 5 cyklusser. For indekssekvenser kræver RTA v2 mindst 1 base, som ikke er G, i de første 2 cyklusser.

Skabelonen anvendes som reference på de efterfølgende trin med registrering og intensitetsekstraktion. Clusterpositionerne for hele flowcellen bliver gemt i clusterplaceringsfilerne (\*.locs). D, der er 1 fil pr. bane.

## Registrering og ekstraktion af intensiteter

Når der er blevet genereret skabeloner, begynder registreringen og ekstraktionen af intensiteter.

- ▶ I forbindelse med registreringen bliver de billeder, der bliver taget i løbet af alle efterfølgende billedoptagelsescyklusser, sammenlignet med skabelonen.
- ▶ I forbindelse med ekstraktionen af intensiteter bliver der fastlagt en intensitetsværdi for hver cluster i skabelonen for et givent billede.

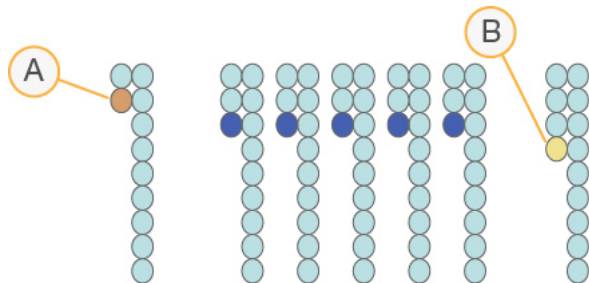
Hvis registreringen mislykkes for et eller flere billeder i en cyklus, bliver der ikke genereret nogen basebestemmelse for den pågældende flise i den pågældende cyklus. Brug Sequencing Analysis Viewer (SAV) -softwaren til at undersøge miniaturebilleder og identificere billeder, der ikke blev registreret.

## Fasekorrektion

I løbet af sekventeringsreaktionen udvides hver DNA-streng i en cluster med 1 én base pr. cyklus. Faseopdeling og præ-faseopdeling opstår, når en streng kommer ud af fase med den aktuelle inkorporeringscyklus.

- ▶ Faseopdeling opstår, når en base kommer bagud.
- ▶ Præ-faseopdeling opstår, når en base hopper fremad.

Figur 29 Faseopdeling og præ-faseopdeling



- A Læsning med en faseopdelende base.
- B Læsning med en præ-faseopdelende base.

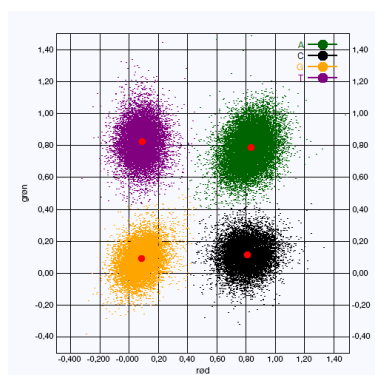
RTA2 korrigerer for virkningerne af faseopdeling og præ-faseopdeling, hvilket maksimerer datakvaliteten i hver kørselscyklus.

## Basebestemmelse

Basebestemmelsen bestemmer en base (A, C, G eller T) for hver cluster på en given flise ved en specifik cyklus. NextSeq 550Dx-instrumentet udfører sekventering baseret på 2 kanaler, hvilket kun kræver 2 billeder for at kode dataene for 4 DNA-baser, 1 fra den røde kanal og 1 fra den grønne kanal.

Der bliver ekstraheret intensiteter fra et billede, som bliver sammenlignet med et andet billede, hvilket resulterer i 4 særskilte populationer, som hver især svarer til et nukleotid. Basebestemmelsesprocessen afgør, hvilken population den enkelte cluster hører til.

Figur 30 Visualisering af clusterintensiteter



**Tabel 1 Basebestemmelser ved sekventering baseret på 2 kanaler**

Base	Rød kanal	Grøn kanal	Resultat
A	1 (til)	1 (til)	Clustre, som viser intensitet i både den røde og den grønne kanal.
C	1 (til)	0 (fra)	Clustre, som kun viser intensitet i den røde kanal.
G	0 (fra)	0 (fra)	Clustre, som ikke viser nogen intensitet på en kendt clusterplacering.
T	0 (fra)	1 (til)	Clustre, som kun viser intensitet i den grønne kanal.

## Clustre, der passerer filteret

Under kørslen filtrerer RTA2 rådata og fjerner læsninger, som ikke opfylder kvalitetstærsklen for data. Overlappende clustre og clustre af lav kvalitet bliver fjernet.

I forbindelse med analyser baseret på 2 kanaler anvender RTA2 et populationsbaseret system til at bestemme renheden af en basebestemmelse. Clustre passerer filteret (PF), når højst 1 basebestemmelse i de første 25 cyklusser har en renhed  $< 0,63$ . Clustre, som ikke passerer filteret, bliver ikke basebestemt.

## Overvejelser vedrørende indeksering

Fremgangsmåden ved basebestemmende indekslæsninger adskiller sig fra basebestemmelsen i forbindelse med andre læsninger.

Indekslæsninger skal begynde med mindst 1 anden base end G i en af de første to 2 cyklusser. Hvis en indekslæsning begynder med 2 G-basebestemmelser, bliver der ikke genereret nogen signalstyrke. Der skal være signal i en af de første 2 cyklusser for at sikre korrekt demultiplexering.

Du kan gøre demultiplexeringen mere robust ved at vælge indeksskvenser, der giver signal i mindst 1 kanal, helst begge kanaler, for hver cyklus. Hvis du følger denne vejledning, undgår du indekssk kombinationer, der kun resulterer i G-baser alene i en cyklus.

- ▶ Rød kanal – A eller C
- ▶ Grøn kanal – A eller T

Denne fremgangsmåde i forbindelse med basebestemmelse sikrer nøjagtighed i forbindelse med analysering af low-plex-prøver.

## Kvalitetsscorebestemmelse

En kvalitetsscore, eller Q-score, er en prognose for sandsynligheden for en ukorrekt basebestemmelse. En høj Q-score betyder, at en basebestemmelse er af høj kvalitet og har højere sandsynlighed for at være korrekt.

Q-scoren er en kompakt måde at vise sandsynligheden for fejl. Kvalitetsscorer angives som Q(X), hvor X er scoren. I nedenstående tabel vises forholdet mellem kvalitetsscoren og fejlsandsynligheden.

Q-Score Q(X)	Fejlsandsynlighed
Q40	0,0001 (1 ud af 10.000)
Q30	0,001 (1 ud af 1.000)
<b>Q20</b>	0,01 (1 ud af 100)
Q10	0,1 (1 ud af 10)



### BEMÆRK!

Kvalitetsscorebestemmelsen er baseret på en modificeret version af Phred-algoritmen.

Ved kvalitetsscorebestemmelsen bliver der beregnet et sæt prædiktorer for hver basebestemmelse. Disse prædiktorværdier bliver så anvendt til at finde Q-scoren i en kvalitetstabel. Kvalitetstabellerne har til formål at give kvalitetsprognoser af optimal præcision for kørsler, der er genereret ved en specifik konfiguration af sekventeringsplatformen og kemiversionen.

Når Q-scoren er blevet bestemt, bliver resultaterne registreret i base call-filerne (\*.bcl.bgzf).





# Bilag C Outputfiler og -mapper

Sekventeringsoutputfiler .....	61
Sekventeringsoutputmappestruktur .....	64
Scanning af outputfiler .....	65
Struktur af scanningsoutputmappe .....	65

## Sekventeringsoutputfiler

Filtype	Filbeskrivelse, -placering og -navn
Basebestemmelsesfiler	Hver analyseret flise inkluderes i en basebestemmelsesfil, aggregeret i 1 fil for hver bane for hver cyklus. Den aggregerede fil indeholder basebestemmelsen og den tildelte kvalitetscore for hver cluster i den pågældende bane. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filerne lagres i 1 mappe for hver bane. [Cyklus].bcl.bgzf, hvor [Cyklus] er cyklusnummeret på fire 4 cifre. Basebestemmelsesfiler komprimeres via gzip-komprimering.
Basebestemmelsesindeksfil	For hver bane angiver en binær indeksfil de oprindelige fliseoplysninger i form af to værdier for hver flise: flisenummeret og antallet af clustre på den pågældende flise. Basebestemmelsesindeksfilerne bliver oprettet første gang, der bliver oprettet en basebestemmelsesfil for den pågældende bane. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filerne lagres i 1 mappe for hver bane. s_[Bane].bci
Clusterplaceringsfiler	For hver flise bliver X- og Y-koordinaterne for hver cluster aggregeret i 1 clusterplaceringsfil for hver bane. Clusterplaceringsfilerne oprettes på baggrund af genereringen af skabeloner. Data\Intensities\L00[X] – Filerne lagres i 1 mappe for hver bane. s_[bane].locs
Filterfiler	Filterfilen indeholder oplysninger om, hvorvidt en cluster passerede filtrene. Filteroplysningerne aggregeres i 1 filterfil for hver bane og læsning. Filterfilerne bliver genereret ved cyklus 26 på baggrund af data fra 25 cyklusser. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filerne lagres i 1 mappe for hver bane. s_[bane].filter
InterOp-filer	Binære rapporteringsfiler anvendt til Sequencing Analysis Viewer (SAV). InterOp-filerne opdateres i løbet af kørslen. InterOp-mappen
RTA-konfigurationsfil	RTA-konfigurationsfilen oprettes i begyndelsen af kørslen og indeholder indstillingerne for kørslen. [Rodmappe], RTAConfiguration.xml
Kørselsoplysningsfil	Indeholder kørselsnavnet, antallet af cyklusser i hver læsning, oplysninger om, hvorvidt læsningen er en indekseret læsning, samt antallet af udsnit og fliser på flowcellen. Kørselsoplysningsfilen oprettes i starten af kørslen. [Rodmappe], RunInfo.xml

## Flowcellefliser

Fliser er små billedoptagelsesområder på flowcellen, der svarer til kameraets synsfelt. Det samlede antal fliser afhænger af antallet af baner, udsnit og overflader, der bliver fotograferet på flowcellen, og hvordan kameraerne arbejder sammen om at indhente billederne. Flowceller med højt output har i alt 864 fliser.

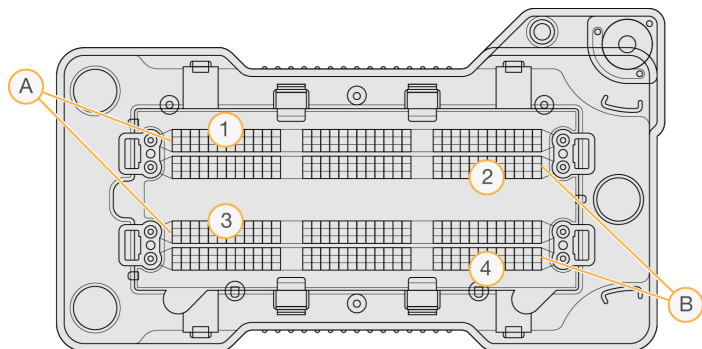
Tabel 2 Flowcellefliser

Flowcellekomponent	Højt output	Beskrivelse
Baner	4	En bane er en fysisk kanal med dedikerede input- og outputporte.
Overflader	2	Flowcellen bliver fotograferet på 2 overflader, oversiden og undersiden. Oversiden af 1 flise bliver fotograferet, hvorefter undersiden af samme flise bliver fotograferet, inden der fortsættes til næste flise.
Udsnit pr. bane	3	Et udsnit er en kolonne af fliser i en bane.
Kamerasegmenter	3	Instrumentet har 6 kameraer, der tager billeder af flowcellen i 3 segmenter i hver bane.
Fliser pr. udsnit pr. kamerasegment	12	En flise er det område på flowcellen, som kameraet ser som 1 billede.
Fliser i alt, der bliver fotograferet	864	Det samlede antal fliser er lig med baner x overflader x udsnit x kamerasegmenter x fliser pr. udsnit pr. segment.

## Banenumre

Bane 1 og 3, som kaldes for banepar A, bliver fotograferet samtidigt. Bane 2 og 4, som kaldes for banepar B, bliver fotograferet, når banepar A er blevet fotograferet.

Figur 31 Banenumre

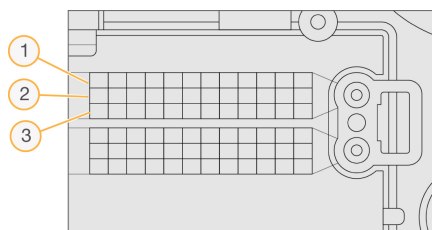


- A Banepar A – Bane 1 og 3
- B Banepar B – Bane 2 og 4

## Udsnitsnumre

Hver bane er opdelt i 3 udsnit, der bliver fotograferet. Udsnittene er nummereret fra 1 til 3 på flowceller med højt output.

Figur 32 Udsnitsnumre

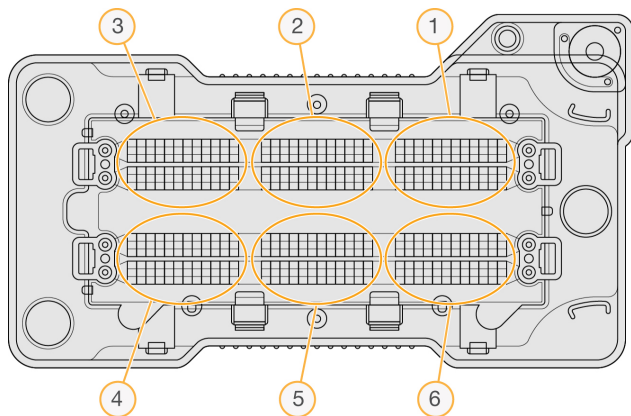


## Kameranumre

NextSeq 550Dx-instrumentet har 6 kameraer, der tager billeder af flowcellen.

Kameraerne er nummereret fra 1-6. Kamera 1-3 tager billeder af bane 1. Kamera 4-6 tager billeder af bane 3. Når der er blevet taget billeder af bane 1 og 3, går billedbehandlingsmodulet til X-aksen for at tage billeder af bane 2 og 4.

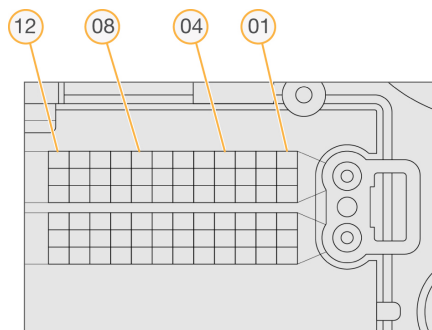
**Figur 33** Kamera- og segmentnumre (illustrationen viser en flowcelle med højt output).



## Flisenumre

Der er 12 fliser i hvert udsnit af hvert kamerasegment. Fliserne er nummereret med et tocifret tal fra 01 til 12, uanset udsnitsnummer eller kamerasegment.

**Figur 34** Flisenumre



Det fulde flisenummer består af 5 cifre, der repræsenterer placeringen, som følger:

- ▶ **Overflade** – 1 repræsenterer den øverste overflade; 2 repræsenterer den nederste overflade
- ▶ **Udsnit** – 1, 2 eller 3
- ▶ **Kamera** – 1, 2, 3, 4, 5 eller 6
- ▶ **Flise** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 eller 12

**Eksempel:** Flisenummer 12508 angiver øverste overflade, udsnit 2, kamera 5 og flise 8.

Det fulde femcifrede flisenummer bliver anvendt i filnavnet på miniaturebilleder og empiriske fasningsfiler. Du kan finde yderligere oplysninger under [Sekventeringsoutputfiler på side 61](#).

## Sekventeringsoutputmappestruktur

Kontrolsoftwaren genererer outputmappenavnet automatisk.

### 📁 Data

#### 📁 Intensities (Intensiteter)

##### 📁 BaseCalls (Basebestemmelser)

📁 L001 – Basebestemmelsesfiler for bane 1, aggregeret i 1 fil pr. cyklus.

📁 L002 – Basebestemmelsesfiler for bane 2, aggregeret i 1 fil pr. cyklus.

📁 L003 – Basebestemmelsesfiler for bane 3, aggregeret i 1 fil pr. cyklus.

📁 L004 – Basebestemmelsesfiler for bane 4, aggregeret i 1 fil pr. cyklus.

📁 L001 – En aggregeret fil i formatet \*.locs for bane 1.

📁 L002 – En aggregeret fil i formatet \*.locs for bane 2.

📁 L003 – En aggregeret fil i formatet \*.locs for bane 3.

📁 L004 – En aggregeret fil i formatet \*.locs for bane 4.

### 📁 Images (Billeder)

#### 📁 Focus (Fokus)

📁 L001 – Fokusbilleder for bane 1.

📁 L002 – Fokusbilleder for bane 2.

📁 L003 – Fokusbilleder for bane 3.

📁 L004 – Fokusbilleder for bane 4.

📁 InterOp – Binære filer anvendt af Sequencing Analysis Viewer (SAV).

📁 Logs – Logfiler med beskrivelser af driftstrinnene.

📁 Recipe (Opskrift) – Kørselsspecifik opskriftsfil, der navngives med reagenskassetens id.

📁 RTALogs – Logfiler med beskrivelser af analysetrinnene.

📄 RTAConfiguration.txt

📄 RunInfo.xml

📄 RunNotes.xml

📄 RunParameters.xml

## Scanning af outputfiler

Filtype	Filbeskrivelse, -placering og -navn
GTC-filer	Genotypebestemmelsesfil. En GTC-fil genereres for hver prøve, der scannes på BeadChip. Filnavnet indeholder den scannede stregkode og prøve. <b>[barcode]_[sample].gtc</b>
Billedfiler	Billedfiler navngives i henhold til det område, der scannes på BeadChip. Navnet omfatter stregkoden, prøven og sektionen på BeadChip, udsnit og billedoptagelseskanal (rød eller grøn). <b>[barcode]_[sample]_[section]_[swath]_[camera]_[tile]_[channel].jpg</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Stregkode</b> – Filnavnet starter med BeadChip-stregkoden.</li><li>• <b>Prøve</b> – Et område på BeadChip, der er nummereret som en række (R0X), top til bund, og kolonne (C0X) fra venstre til højre.</li><li>• <b>Sektion</b> – En nummereret række inden for en prøve.</li><li>• <b>Udsnit</b> – BeadChips fotograferes som en samling af overlappende felter. Der anvendes kun 1 udsnit til at fotografere sektionen.</li><li>• <b>Kamera</b> – Kameraet, der anvendes til at tage billedet.</li><li>• <b>Felt</b> – Et billedoptagelsesområde defineret som kameraets synsfelt.</li><li>• <b>Kanal</b> – En kanal er enten rød eller grøn.</li></ul>

## Struktur af scanningsoutputmappe

📁 [Date]\_[Instrument Name]\_[Scan#]\_[Barcode]

📁 [Barcode]

📁 Config

📄 Effective.cfg – Registrerer konfigurationsindstillinger anvendt under scanningen.

📁 Focus – Indeholder billedfiler, der anvendes til at fokusere scanningen.

📁 Logs – Indeholder logfiler, der anfører hvert trin, som udføres under scanningen.

📁 PreScanDiagnosticFiles

📁 [Date\_Time] Stregkodescanning

📄 ProcessedBarcode.jpg – Billede af BeadChip-stregkode.

📄 Scanning Diagnostics (logfiler)

📄 PreScanChecks.csv – Registrerer resultater af den automatiske kontrol.

📄 GTC files – Genotypebestemmelsesfiler (1 fil pr. prøve).

📄 IDAT files – [Valgfrit] Intensitetsdatafiler (2 filer pr. prøve; 1 for hver kanal).

📄 Image files – Scanningsbilleder for hver prøve, sektion, udsnit, kamera, felt og kanal.

📄 [Barcode]\_sample\_metrics.csv

📄 [Barcode]\_section\_metrics.csv

📄 ScanParameters.xml



# Indeks

## A

- adapter
  - BeadChip-overførsel 30
  - BeadChip-retning 29
  - oversigt 5
- administration af instrument
  - nedlukning 41
- administrer instrument
  - nedlukning 41
- analyse
  - outputfiler 61
- analyse, primær
  - signalrenhed 58
- arbejdsgang
  - avanceret overførselsmulighed 13
  - BaseSpace-tilstand 23
  - BeadChip 30
  - brugte reagenser 19
  - bufferkassette 21
  - flowcelle 18
  - klargøring af flowcelle 17
  - kørselsmålinger 24
  - kørselsvarighed 15-16
  - natriumhypochlorit 36
  - oversigt 16, 28
  - overvejelser vedrørende indeksering 58
  - prækørselskontrol 24, 31
  - reagenskassette 21
  - sekventering 56
  - standalone-tilstand 23
- arbejdsgangflow
  - BaseSpace-logon 18
- avanceret overførselsmulighed 13

## B

- banenumre 62
- banepar 62
- basebestemmelse 57
  - overvejelser vedrørende indeksering 58
- basebestemmelsesfiler 61
- BaseSpace 1, 51
  - logon 18
  - overførselsikoner 25
- BaseSpace-konfiguration 23
- BeadChip
  - adapter 5, 29
  - analyse 1
  - mislykket registrering 48

- overførsel 30
  - stregkode kan ikke læses 48
  - stregkoderetning 29
  - typer 1
- billedbehandling, 2-kanalssekventering 57
- billedoptagelseskammer 3
- BlueFuse Multi-software 1
- brugerleverede materialer 13-14
- brugernavn og adgangskode 11
- brugte reagenser
  - bortskaffelse 19, 37
  - fuld beholder 46
- bufferkammer 3
- bufferkassette 9, 21

## C

- clustergenerering 15, 25
- clusterplacering
  - filer 61
  - generering af skabeloner 56
- clustre, der passerer filter 58
- customer support 71
- cyklusser i en læsning 15

## D

- dataoverførsel
  - aktivitetsikoner 25
  - kørselskopieringstjeneste 26
  - scanningsdata 33
  - universel kopieringstjeneste 26
- Decode File Client 27
  - adgang i henhold tiltilgå med konto 28
  - tilgå medadgang i henhold til BeadChip 29
- DMAP-mappe
  - Decode File Client 27
  - downloader 28
- documentation 71
- dokumentation 2

## E

- empirisk faseopdeling 57

## F

- faseopdeling, præ-faseopdeling 57



- fejl i forbindelse med prækørselskontrol 44
- fejl og advarsler 4
  - in- og outputfiler 56
- fejlfinding
  - beholder med brugte reagenser 46
  - erstatning af manifest- og clusterfiler 49
  - kan ikke læse BeadChip-stregkode 48
  - kontaktmuligheder 43
  - kørselsspecifikke filer 43
  - mislykket scanningsregistrering 48
  - målinger af lav kvalitet 46
  - prækørselskontrol 44
  - scanningsspecifikke filer 44
- fejlsandsynlighed 58
- filterfiler 61
- fjern materialer 13
- flisenumre 63
- flowcelle
  - banenumre 62
  - banepar 7
  - billedoptagelse 63
  - emballage 17
  - flisenumre 63
  - fliser 61
  - gentaget hybridisering 46
  - justeringsstykker 18
  - oversigt 7
  - rengøring 17
  - typer 1
    - udsnitsnummer 62
- Forebyggende vedligeholdelse 35
- formamid, position 6 22

## G

- generering af skabeloner 56
- genstart 41
  - instrument 41
- genstart i forskningstilstand 12
- GTC -filer 65

## H

- help, technical 71
- hjælp
  - dokumentation 2

## I

- ikoner
  - fejl og advarsler 4
  - status 4
- Illumina Proactive-overvågningstjeneste 51
- inputfiler, scan
  - clusterfiler 27, 49
  - DMAP-mappe 27
  - DMAP-mappe, download 28
  - manifestfiler 27, 49
- instrument
  - avatar 12
  - genstart 41
  - indikatorer for tilstand 12
  - kaldenavn 12
  - konfigurationsindstillinger 50
  - nedlukning 41
  - opstart 11
  - strømknop 5
- instrumentvask 35
- instrumentvedligeholdelse
  - materialer 14
- intensiteter 57
- InterOp-filer 43, 61

## K

- kameranumre 63
- kompatibilitet
  - flowcelle, reagenskassette 6
  - RFID-spring 6-7
- komponenter
  - billedoptagelseskammer 3
  - bufferkammer 3
  - reagenskammer 3
  - statuslinje 3
- Konfiguration 51
- konfigurationsindstillinger 50
- kontrolsoftware 4
- kørselskonfiguration, avanceret mulighed 13
- kørselskopieringstjeneste 26
- kørselsmålinger 24
- kørselsparametre
  - BaseSpace-tilstand 23
  - redigeringsparametre 23
  - standalone-tilstand 23
- kørselsvarighed 15-16

## L

- locs-filer 61
- logfiler
  - GlobalLog 56
  - LaneNLog 56
- luftfilter 4, 38
- lyd 12
- læsningslængde 15-16

## M

- mappeplacering 23
- materialer 6
  - bufferkassette 9
  - flowcelle 7
  - laboratorievand 14
  - reagenskassette 7
  - sekventeringskørsler 13
  - vaskematerialer 35-36
- Materialer
  - instrumentvedligeholdelse 14
- målinger
  - basebestemmelse 57
  - clusterdensitetscykluser 25
  - intensitetscykluser 25

## N

- natriumhypochlorit, vask 36
- nedlukning af instrumentet 41

## O

- online-undervisning 2
- outputfiler 61
- outputfiler, scanning
  - GTC, IDAT 65
- outputfiler, sekventering 61
- overvejelser vedrørende indeksering 58

## P

- passerer filter (PF) 58
- Phred-algoritme 58
- prækørselskontrol 24, 31

## Q

- Q-scorer 58

## R

- RAID-fejlbesked 50
- reagenser
  - kit 6
  - korrekt bortskaffelse 21
- reagenskammer 3
- reagenskassette
  - oversigt 7
  - reservoir nr. 28 36
- Real-Time Analysis-software 1, 4
  - arbejdsgang 56
  - faseopdeling 57
  - resultater 61
- rehybridisering af primer 46
- rehybridisering, Læsning 1 46
- renhedsfilter 58
- retningslinjer for laboratorievand 14
- RFID-sporing 6
- RTA2
  - fejlhåndtering 56
- RunInfo.xml 43, 61
- RUO-tilstand 12

## S

- scan outputfiler
  - GTC, IDAT 65
- sekventering
  - brugerleverede materialer 13
  - introduktion 15
- sekventeringsarbejdsgang 56
- software
  - automatisk opdatering 40
  - billedanalyse, basebestemmelse 4
  - konfigurationsindstillinger 50
  - kørselsvarighed 15-16
  - manuel opdatering 40
  - på instrumentet 4
- Software
  - initialisering 11
- softwareopdatering 39
- standalone-konfiguration 23
- statusbeskeder 4
- statuslinje 3
- strømknop 5, 11

systembrugernavn og adgangskode 11  
systemindstillinger 12

## T

tastatur 12  
technical assistance 71

## U

udsnitsnumre 62

## V

vask  
    brugerleverede materialer 35  
    manuel vask 35  
    vaskekomponenter 35  
Vask  
    automatisk  
        vask efter kørslen 26  
vedligeholdelse, forebyggende 35

## W

Windows  
    udgang 41

# Teknisk hjælp

Kontakt Illuminas tekniske support for at få teknisk hjælp.

Websted: [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
E-mail: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Telefonnumre til Illuminas kundesupport

Område	Gratis	Regional
Nordamerika	+1.800.809.4566	
Australien	+1.800.775.688	
Belgien	+32 80077160	+32 34002973
Danmark	+45 80820183	+45 89871156
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrig	+33 805102193	+33 170770446
Holland	+31 8000222493	+31 207132960
Hongkong	800960230	
Irland	+353 1800936608	+353 016950506
Italien	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Kina	400.066.5835	
New Zealand	0800.451.650	
Norge	+47 800 16836	+47 21939693
Schweiz	+41 565800000	+41 800200442
Singapore	+1.800.579.2745	
Spanien	+34 911899417	+34 800300143
Storbritannien	+44 8000126019	+44 2073057197
Sverige	+46 850619671	+46 200883979
Taiwan	00806651752	
Tyskland	+49 8001014940	+49 8938035677
Østrig	+43 800006249	+43 19286540
Andre lande	+44.1799.534000	

Sikkerhedsdatablade (SDS'er) – kan findes på Illuminas websted på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Produktdokumentation – Kan downloades i PDF-format på Illuminas websted. Gå ind på [support.illumina.com](http://support.illumina.com), vælg et produkt, og vælg **Documentation & Literature**.





Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (uden for Nordamerika)

[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

[www.illumina.com](http://www.illumina.com)

**Kun til forskningsformål. Må ikke bruges til diagnostiske procedurer.**

© 2018 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

**illumina**<sup>®</sup>