

מצב מחקר של א NextSeq 550Dx

מדריך לעיון על המכשיר



מסמך זה ותכולתו הם קניין של Illumina, Inc. והחברות המסונפות אליה (להלן: "Illumina"), והם מיועדים אך ורק לשימוש של הלקוח, בהתאם לתנאי החוזה, בהקשר של השימוש במוצרים המתוארים בזאת, ולא לשום מטרה אחרת. אין להשתמש במסמך זה ותכולתו ואין להפיצם לכל מטרה אחרת ו/או לשלוח, לחשוף או לשכפל בשום צורה אחרת, ללא הסכמה מראש ובכתב מאת Illumina. במסמך זה, Illumina אינה מעניקה רישיון כלשהו לזכויות על פטנט, סימן מסחרי, זכות יוצרים או זכות חוקית או כל זכות אחרת, לשום צד שלישי.

כדי להבטיח שימוש הולם ובטוח במוצרים המתוארים בזאת, ההוראות שבמסמך זה חייבות להתבצע על-ידי עובדים שעברו הדרכה מתאימה וימלאו את ההוראות בצורה קפדנית ומפורשת. חובה לקרוא ולהבין את כל תכולתו של מסמך זה לפני השימוש במוצרים אלה.

א-קריאת ההוראות המופיעות בזאת במלואן ואי-הקפדה עליהן עלולות לגרום לנזק למוצרים, לפגיעה גופנית של בני אדם - לרבות המשתמשים או אנשים אחרים, ונזק לרכוש אחר, ויבטלו כל אחריות החלה על המוצרים.

ILLUMINA אינה מקבלת על עצמה שום חבות העולה מתוך שימוש בלתי הולם במוצרים המתוארים בזאת (לרבות חלקים מהם או התוכנה).

© 2018 Illumina, Inc. כל הזכויות שמורות.

כל הסימנים המסחריים הם רכושם של Illumina, Inc. או של בעליהם המתאימים. לקבלת מידע על סימן מסחרי ספציפי, בקר בכתובת www.illumina.com/company/legal.html.

גרסאות קודמות

מסמך	תאריך	תיאור השינוי
מסמך מס' 1000000041922 v01	מרץ 2018	נוסף מידע על שירות הניטור Illumina Proactive במקטע 'התאמה אישית של הגדרות המערכת'.
מסמך מס' 1000000041922 v00	נובמבר 2017	מהדורה ראשונית.

תוכן העניינים

1	פרק 1 סקירה כללית
1	אודות מדריך זה
1	מבוא
1	משאבים נוספים
2	רכיבי המכשיר
5	סקירה כללית של חומרים מתכלים לריצוף
9	פרק 2 תחילת העבודה
9	הפעלת המכשיר
10	התאמה אישית של הגדרות המערכת
11	ציוד וחומרים מתכלים המסופקים על-ידי המשתמש
13	פרק 3 ריצוף
13	מבוא
14	זרימת עבודה של ריצוף
14	הכנת מחסנית המגיב
15	הכנת תא הזרימה
15	הכנת ספריות לריצוף
16	הגדרת הפעלת ריצוף
22	ניטור התקדמות הפעלה
24	שטיפה לאחר הפעלה באופן אוטומטי
25	פרק 4 סריקה
25	מבוא
26	זרימת עבודה של סריקה
26	הורדת תיקיית DMAP
27	טעינת ה-BeadChip במתאם
28	הגדר סריקה
29	ניטור התקדמות סריקה
31	פרק 5 תחזוקה
31	מבוא
31	ביצוע שטיפה ידנית
34	החלפת מסנן אוויר
35	עדכוני תוכנה
36	אפשרויות אתחול וכיבוי
39	נספח A פתרון בעיות
39	מבוא
39	קובצי פתרון בעיות
40	פתרון שגיאות בדיקה אוטומטית
41	מכל המגיבים שנוצלו מלא
42	זרימת עבודה של הצלבה חוזרת

44.....	BeadChip ושגיאות סריקה
45.....	התאמה אישית של מתכונים ותיקיות מתכונים
45.....	הודעת שגיאה של RAID
45.....	קביעת תצורה של הגדרות המערכת
49.....	נספח B ניתוח בזמן אמת
49.....	סקירה של ניתוח בזמן אמת
50.....	זרימת עבודה של ניתוח בזמן אמת
53.....	נספח C קבצים ותיקיות פלט
53.....	קובצי פלט של ריצוף
55.....	מבנה תיקיית פלט של ריצוף
56.....	קובצי פלט של סריקה
57.....	מבנה תיקיית פלט של סריקה
59.....	אינדקס
63.....	סיוע טכני

פרק 1 סקירה כללית

1	אודות מדריך זה
1	מבוא
1	משאבים נוספים
2	רכיבי המכשיר
5	סקירה כללית של חומרים מתכלים לריצוף

אודות מדריך זה

המדריך לעיון של מכשיר זה כולל הוראות על השימוש במכשיר NextSeq 550Dx בהפעלת מחקר (RUO).

מבוא

המכשיר Illumina® NextSeq™ 550Dx הוא פתרון יחיד שמספק מעבר חלק בין ריצוף בתפוקה גבוהה לבין סריקת מערך.

תכונות ריצוף

- ◀ **ריצוף בתפוקה גבוהה** – המכשיר NextSeq™ 550 מאפשר ריצוף של אקסומים, גנומים שלמים וטרנסקריפטומים ותומך בספריות TruSeq™ ו-Nextera™.
- ◀ **סוגי תא זרימה** – תאי זרימה זמינים בתצורות המתאימות לתפוקה גבוהה ולתפוקה בינונית. כל סוג של תא זרימה מצויד במחסנית מגיב תואמת שמולאה מראש.
- ◀ **Real-Time Analysis (RTA)** – תוכנת ניתוח משולבת מבצעת ניתוח נתונים במכשיר, אשר כולל ניתוח תמונות וקישור בין בסיסים. NextSeq 550Dx משתמש בתוכנה להטמעה של RTA המכונה RTA v2 ואשר כוללת הבדלי תכונות וארכיטקטורה חשובים. לקבלת מידע נוסף, ראה **ניתוח בזמן אמת בעמוד 49**.
- ◀ **שילוב BaseSpace®** – זרימת העבודה של הריצוף משולבת ב-BaseSpace, סביבת מחשוב הגנומיקה של Illumina, לצורך ניתוח נתונים, אחסון ושיתוף פעולה. עבור מכשירים שתצורתם הוגדרה עבור BaseSpace, פרטי הספרייה ופרמטרי ההפעלה מפורטים בכרטיסייה BaseSpace Prep (הכנת BaseSpace). הפעלות שהוגדרו ב-BaseSpace מופיעות בממשק המכשיר במהלך הגדרת ההפעלה. עם התקדמות ההפעלה, קובצי הפלט מוזרמים בזמן אמת אל BaseSpace או BaseSpace Onsite.

תכונות סריקת מערך

- ◀ **סריקת מערך משולבת בתוכנת הבקרה** – המכשיר NextSeq 550Dx מאפשר לך לעבור בין סריקת מערך לבין ריצוף בתפוקה גבוהה באותו מכשיר באמצעות אותה תוכנת בקרה.
- ◀ **יכולת הדמיה מורחבת** – מערכת ההדמיה במכשיר NextSeq 550Dx כוללת שינויי תוכנה ושלב אשר מאפשרים הדמיה של שטח גדול יותר כדי שיהיה מקום לסריקת BeadChip.
- ◀ **סוגי BeadChip** – סוגי ה-BeadChip התואמים כוללים את CytoSNP-12, CytoSNP-850K ו-Karyomap-12.
- ◀ **מתאם BeadChip** – מתאם BeadChip הניתן לשימוש חוזר מאפשר טעינה קלה של BeadChip במכשיר.
- ◀ **ניתוח נתונים** – השתמש בתוכנה BlueFuse® Multi כדי לנתח את נתוני המערך.

משאבים נוספים

התיעוד הבא זמין להורדה מאתר האינטרנט של Illumina.

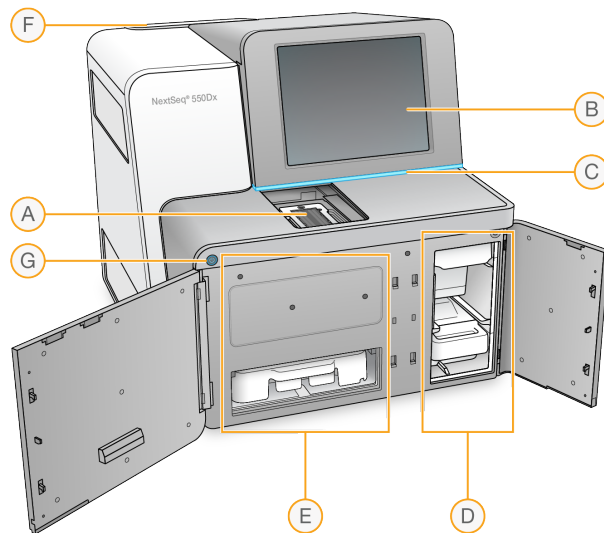
מסמך	תיאור
מדריך לעיון על המכשיר NextSeq 550Dx (מסמך מס' 1000000009513)	במצב אבחון הוא מספק הוראות על הפעלת המכשיר ונהלי פתרון בעיות.
מדריך הכנת אתר למכשיר NextSeq 550Dx (מסמך מס' 1000000009869)	מתאר את מפרט השטח במעבדה, דרישות החשמל ושיקולים סביבתיים.
מדריך בטיחות ותאימות של מכשיר NextSeq 550Dx (מסמך מס' 1000000009868)	מספק מידע על שיקולי בטיחות בהפעלה, הצהרות תאימות ותוויות המכשיר.
מדריך תאימות של קורא RFID (מסמך מס' 1000000030332)	מספק מידע על קורא ה-RFID במכשיר, אישורי תאימות ושיקולי בטיחות.
דנטורציה ודילול של ספריות עבור מערכת NextSeq (מסמך מס' 15048776)	מספק הוראות על דנטורציה ודילול של ספריות שהוכנו עבור הפעלת ריצוף ועל הכנת בקרת PhiX אופציונלית. שלב זה רלוונטי לרוב סוגי הספריות.
מדריך תחלים בהתאמה אישית של NextSeq (מסמך מס' 15057456)	מספק מידע על השימוש בתחלי ריצוף מותאמים אישית במקום בתחלי ריצוף של Illumina.
עזרה של BaseSpace (help.basespace.illumina.com)	מספקת מידע על השימוש ב-BaseSpace® ועל אפשרויות הניתוח הזמינות.

בקר בדף התמיכה של המכשיר NextSeq 550Dx באתר האינטרנט של Illumina כדי לגשת לתייעוד, להורדות תוכנה, להדרכה מקוונת ולשאלות נפוצות.

רכיבי המכשיר

המכשיר NextSeq 550Dx כולל צג מסך מגע, שורת מצב ו-4 תאים.

איור 1 רכיבי המכשיר



- A תא הדמיה – מחזיק את תא הזרימה או מתאם ה-BeadChip לצורך סריקה.
- B צג מסך מגע – מאפשר הגדרה וקביעת תצורה במכשיר באמצעות ממשק תוכנת הבקרה.
- C שורת מצב – מציינת את מצב המכשיר: מעבד (כחול), מצריך תשומת לב (כתום) או מוכן לריצוף (ירוק).
- D תא בופר – מחזיק את מחסנית הבופר ואת מכל המגיבים שנוצלו.
- E תא מגיב – מחזיק את מחסנית המגיב.
- F תא מסנן אוויר – מחזיק את מסנן האוויר. הגישה למסנן מגב המכשיר.
- G לחצן הפעלה – מפעיל או מכבה את המכשיר ואת מחשב המכשיר.

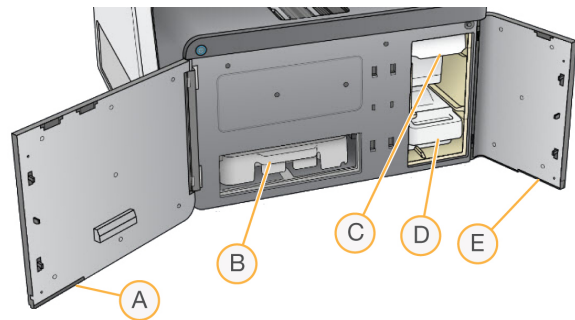
תא הדמיה

בתא ההדמיה נמצאת הבמה, אשר כוללת שלושה פניי יישור שמטרתם לייצב את תא הזרימה לצורך ריצוף או את מתאם ה-BeadChip לצורך סריקה. לאחר טעינת תא הזרימה או מתאם ה-BeadChip, דלת תא ההדמיה נסגרת אוטומטית ומזיזה את הרכיבים למקומותיהם.

תאי מגיב ובופר

הגדרת הפעלת ריצוף במכשיר NextSeq 550Dx מצריכה גישה לתא המגיב ולתא הבופר כדי לטעון את החומרים המתכלים להפעלה ולרוקן את מכל המגיבים שכבר נוצלו.

איור 2 תאי מגיב ובופר



- A **דלת תא מגיב** – מכסה את תא המגיב עם תפס מתחת לאזור הימני התחתון של הדלת. בתא המגיב מוחזקת מחסנית המגיב.
- B **מחסנית המגיב** – מחסנית המגיב מולאה מראש בחומר מתכלה לשימוש חד-פעמי.
- C **מחסנית הבופר** – מחסנית הבופר מולאה מראש בחומר מתכלה לשימוש חד-פעמי.
- D **מכל מגיבים שנוצלו** – המכילים שנוצלו נאספים לצורך סילוקם לאחר כל הפעלה.
- E **דלת תא בופר** – מכסה את תא הבופר עם תפס מתחת לפינה השמאלית התחתונה של הדלת.

תא מסנן אוויר

תא מסנן האוויר מחזיק את מסנן האוויר וממוקם בגב המכשיר. החלף את מסנן האוויר מדי 90 יום. לקבלת מידע על החלפת המסנן, ראה [החלפת מסנן אוויר בעמוד 34](#).

תוכנת NextSeq 550Dx

תוכנת המכשיר כוללת יישומים משולבים אשר מבצעים הפעלות ריצוף או סריקת מערך.

- ◀ **NextSeq Control Software (NCS)** – תוכנת הבקרה מנחה אותך לאורך השלבים להגדרת הפעלת ריצוף או סריקת מערך.
- ◀ **תוכנת Real-Time Analysis (RTA)** – עבור הפעלות ריצוף, RTA מבצעת ניתוח תמונה וקישור בין בסיסים במהלך ההפעלה. המכשיר NextSeq 550Dx משתמש ב-RTA v2, אשר כוללת הבדלי תכנות וארכיטקטורה חשובים ביחס לגרסאות הקודמות. לקבלת מידע נוסף, ראה [ניתוח בזמן אמת בעמוד 49](#).

סמלי מצב

סמל מצב בפינה הימנית העליונה של תוכנת הבקרה מצביע על כל שינוי בתנאים במהלך הגדרת הפעלה או במהלך ההפעלה.

סמל מצב	שם מצב	תיאור
	Status OK (מצב תקין)	המערכת תקינה.
	Processing (עיבוד)	המערכת מבצעת עיבוד.
	Warning (אזהרה)	הופיעה אזהרה. אזהרות אינן מפסיקות הפעלה או מצריכות פעולה לפני התקדמות.
	Error (שגיאה)	אירעה שגיאה. שגיאות מחייבות לבצע פעולה התקדמות בהפעלה.
	Service Needed (נדרש שירות)	אירעה התראה המצריכה תשומת לב. עיין בהודעה לקבלת מידע נוסף.

במקרה של שינוי מצב הסמל מהבהב כדי להתריע בפניך על כך. בחר את הסמל כדי להציג תיאור של המצב. בחר Acknowledge (אשר) כדי לאשר את ההודעה או Close (סגירה) כדי לסגור את תיבת הדו-שיח.

הערה 

אישור הודעה מאפס את מצב הסמל וההודעה משנה את צבעה לאפור. ההודעה עדיין גלויה למשתמש אם הוא בחר בסמל, אולם היא נעלמת ברגע ש-NCS מופעלת מחדש.

לחצן הפעלה

לחצן ההפעלה שבחזית ה-NextSeq 550Dx מפעיל את אספקת החשמל למכשיר ולמחשב המכשיר. לחצן ההפעלה מבצע את הפעולות הבאות, בתלות במצב אספקת החשמל למכשיר. כברירת מחדל, באתחול NextSeq 550Dx נכנס למצב אבחון.

לקבלת מידע על כיבוי המכשיר, ראה [כיבוי המכשיר בעמוד 37](#).

מצב אספקת חשמל	פעולה
אספקת החשמל למכשיר כבויה	לחץ לחיצה קצרה על הלחצן כדי להדליק את אספקת החשמל.
אספקת החשמל למכשיר דולקת	לחץ לחיצה קצרה על הלחצן כדי לכבות את אספקת החשמל. במסך מופיעה תיבת דו-שיח לאישור כיבוי רגיל של המכשיר.
אספקת החשמל למכשיר דולקת	לחץ על לחצן ההפעלה לחיצה ארוכה בת 10 שניות כדי לכבות את המכשיר ואת מחשב המכשיר. השתמש בשיטה זו כדי לכבות את המכשיר רק אם המכשיר אינו מגיב.

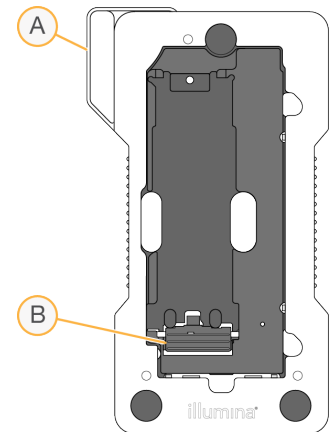
הערה 

כיבוי המכשיר במהלך הפעלת ריצוף עוצר את ההפעלה באופן מיידי. עצירת הפעלה היא סופית. לא יתאפשר שימוש חוזר בחומרים המתכלים שהיו בשימוש בהפעלה ונתוני הריצוף מההפעלה לא יישמרו.

סקירה כללית של מתאם BeadChip הניתן לשימוש חוזר

מתאם ה-BeadChip הניתן לשימוש חוזר מחזיק את ה-BeadChip במהלך הסריקה. ה-BeadChip שמור בצורה מאובטחת במדף השקוע של המתאם באמצעות תפס ההחזקה. לאחר מכן, מתאם ה-BeadChip נטען לתוך הבמה בתא ההדמיה.

איור 3 מתאם BeadChip הניתן לשימוש חוזר



A מתאם BeadChip
B תפס החזקה

סקירה כללית של חומרים מתכלים לריצוף

ביצוע הפעלת ריצוף במכשיר ה-NextSeq 550Dx במצב מחקר מחייב ערכת NextSeq 500/550 לשימוש חד-פעמי או ערכת מגיבים NextSeq בתפוקה גבוהה 550Dx. כל אחת מהערכות כוללת תא זרימה אחד ואת המגיבים הנדרשים לצורך הפעלת ריצוף.

תא הזרימה, מחסנית המגיב ומחסנית הבופר משתמשים בזיהוי תדר רדיו (RFID) לשם מעקב מדויק אחר חומרים מתכלים ותאימות.

הערה 

שמור על החומרים המתכלים לריצוף כאשר הם מאוחסנים באריזותיהם עד שיהיו מוכנים לשימוש.

אם אתה משתמש בערכת מגיבים NextSeq 550Dx בתפוקה גבוהה להפעלה במצב מחקר, כל הרכיבים חייבים להיות מאותה אצוות ערכה. לא ניתן להשתמש בערכת NextSeq 500/550 להפעלה במצב אבחון.

סימון תאימות הערכה

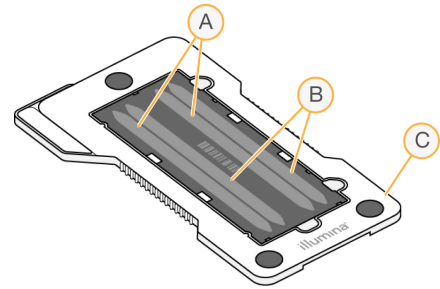
רכיבי הערכה מסומנים במחווונים בעלי קידוד צבע כדי להצביע על תאימות בין תאי זרימה לבין מחסניות מגיבים. השתמש תמיד במחסנית מגיב ובתא זרימה תואמים. מחסנית הבופר היא אוניברסלית.

על כל תא זרימה ומחסנית מגיב מופיע סימון High (גבוהה) או Mid (בינונית). בדוק תמיד את התווית בעת ההכנה של חומרים מתכלים להפעלה.

סימון על התווית	סוג הערכה
	רכיבי ערכה בעלת תפוקה גבוהה
	רכיבי ערכה בעלת תפוקה בינונית

סקירה כללית של תא הזרימה

איור 4 מחסנית תא הזרימה



- A צמד מסלולים A – מסלולים 1 ו-3
- B צמד מסלולים B – מסלולים 2 ו-4
- C מסגרת מחסנית תא הזרימה

תא הזרימה הוא בסיס זכוכית שעליו נוצרים אשכולות ומבוצעת תגובת הריצוף. תא הזרימה נתון בתוך מחסנית תא זרימה.

תא הזרימה מכיל 4 מסלולים שההדמיות שלהם מבוצעות בזוגות.

◀ למסלולים 1 ו-3 (צמד מסלולים A) מתבצעת הדמיה באותו הזמן.

◀ למסלולים 2 ו-4 (צמד מסלולים B), מתבצעת הדמיה כאשר ההדמיה של צמד מסלולים A מסתיימת.

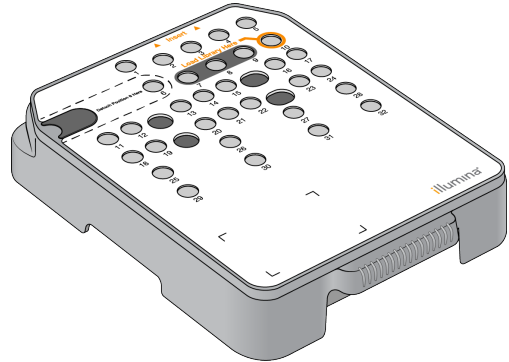
למרות שבתא הזרימה יש 4 מסלולים, בתא הזרימה מתבצע ריצוף רק של ספרייה אחת או של סדרת ספריות שקובצו במאגר. ספריות נטענות במחסנית המגיב מתוך מכל יחיד ומועברות אוטומטית לתא הזרימה לכל 4 המסלולים.

ההדמיה של כל אחד מהמסלולים מבוצעת באזורי הדמיה קטנים המכונים אריחים. לקבלת מידע נוסף, ראה **אריחי תא הזרימה בעמוד 53**.

סקירה כללית של מחסנית מגיב

מחסנית המגיב היא חומר מתכלה לשימוש חד-פעמי עם מעקב RFID ומכלים העטופים ברדידי אלומיניום שמולאו מראש במגיבים יצירת אשכולות וריצוף.

איור 5 מחסנית מגיב



מחסנית המגיב כוללת מכל אגירה ייעודי לטעינת ספריות שהוכנו. אחרי שמתחילה ההפעלה, הספריות מועברות אוטומטית ממכל האגירה לתא הזרימה. מספר מכלי אגירה נשמרים לצורך השטיפה האוטומטית לאחר ההפעלה. תמיסת השטיפה נשאבת ממחסנית הבופר למכלי האגירה שנשמרו, דרך המערכת, ולאחר מכן מועברת למכל המגיבים שנוצלו.

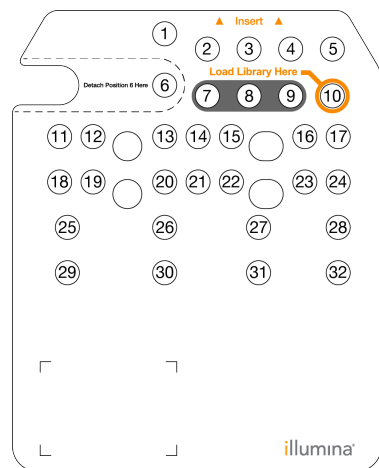
אזהרה



סדרה זו של מגיבים כוללת חומרים כימיים שעשויים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בצידוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנים האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים. למידע נוסף על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות שבכתובת support.illumina.com/sds.html.

מכלי אגירה שמורים

איור 6 מכלי אגירה ממוספרים



מיקום	תיאור
7, 8 ו-9	שמורים לתחלים מותאמים אישית אופציונליים
10	טעינת ספריות

לקבלת מידע על תחלים בהתאמה אישית, ראה מדריך תחלים בהתאמה אישית של NextSeq (מסמך מס' 15057456).

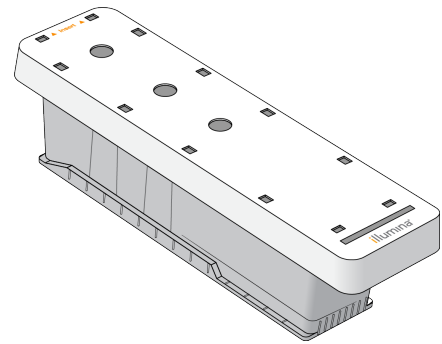
מכל ניתן להסרה במיקום #6

מחסנית המגיב שמולאה מראש כוללת מגיב דנטורציה במיקום 6 אשר מכיל פורמאמיד. כדי לסייע בסילוק בטוח של כל מגיב שלא היה בשימוש אחרי הפעלת הריצוף, המכל שבמיקום 6 ניתן להסרה. לקבלת מידע נוסף, ראה **הסרת מכל אגירה משומש ממיקום #6 בעמוד 20**.

סקירה כללית של מחסנית בופר

מחסנית הבופר היא חומר מתכלה לשימוש חד-פעמי המכיל שלושה מכלים שמולאו מראש בבופרים ובתמיסת שטיפה. תכולת מחסנית הבופר מספיקה לריצוף של תא זרימה אחד.

איור 7 מחסנית בופר



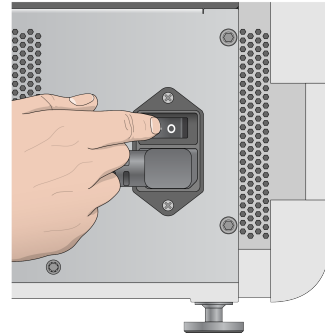
פרק 2 תחילת העבודה

- 9 הפעלת המכשיר
- 10 התאמה אישית של הגדרות המערכת
- 11 ציוד וחומרים מתכלים המסופקים על-ידי המשתמש

הפעלת המכשיר

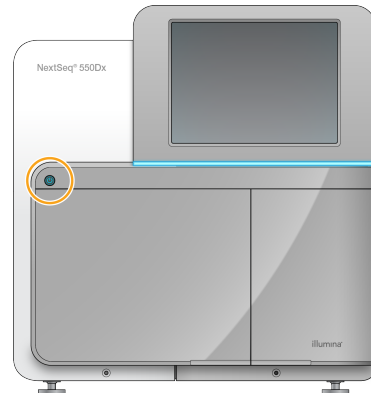
העבר את מתג ההפעלה הדו-מצבי למצב I (מופעל).

איור 8 מתג ההפעלה הממוקם בגב המכשיר



- 1 לחץ על לחצן ההפעלה שמעל תא המגיב. לחצן ההפעלה מפעיל את אספקת החשמל למכשיר ומפעיל את המחשב המשולב במכשיר ואת התוכנה. כברירת מחדל, במהלך האתחול המכשיר נכנס למצב אבחון.

איור 9 לחצן ההפעלה הממוקם בחזית המכשיר



- 2 המתן עד שמערכת ההפעלה תסיים את טעינתה. NextSeq 550Dx Operating Software (NOS) מופעלת ומאתחלת את המערכת באופן אוטומטי. לאחר ששלב האתחול יושלם, המסך Home (בית) ייפתח.
- 3 הזן את שם המשתמש והסיסמה שלך ל-Local Run Manager. לקבלת מידע על סיסמאות של Local Run Manager, ראה מדריך לעיון על המכשיר NextSeq 550Dx (מסמך מס' 1000000009513).
- 4 בחר Login (התחברות). המסך Home (בית) נפתח ומוצגים בו סמלי הריצוף, Local Run Manager, ניהול מכשיר וביצוע שטיפה.
- 5 השתמש בפקודה Reboot to RUO (אתחול ל-RUO) ב-NOS כדי לכבות בבטחה את המכשיר ולאחל מחדש כך שייכנס למצב מחקר.

- ◀ בחר Manage Instrument (ניהול מכשיר).
- ◀ בחר Reboot / Shut Down (אתחול / כיבוי).
- ◀ בחר Reboot to RUO (אתחול ל-RUO).
- 6 המתן עד שמערכת ההפעלה תסיים את טעינתה.
- NCS מופעלת ומאתחלת את המערכת אוטומטית. לאחר ששלב האתחול יושלם, המסך Home (בית) ייפתח.
- 7 אם תצורת המערכת מחייבת הרשאות כניסה, התחבר ל-Windows באמצעות שם המשתמש והסיסמה לאתר שלך.



הערה

אם אינך יודע בוודאות באיזה מצב נתון המכשיר, ראה **מחווני מצב מכשיר**.

מחווני מצב מכשיר

הטבלה הבאה מפרטת את מחווני מצב המכשיר במסך ה-NCS או ה-NOS. לקבלת מידע כיצד לעבור ממצב מחקר למצב אבחון ראה **אפשרויות אתחול וכיבוי בעמוד 36**.

מצב	מסך הבית	סרגל צבע	כיוון סמל המצב
מצב אבחון	ברוכים הבאים אל NextSeqDx	כחול	אופקי
מצב מחקר	ברוכים הבאים אל NextSeq	כתום	אנכי

התאמה אישית של הגדרות המערכת

תוכנת הבקרה כוללת הגדרות מערכת שניתנות להתאמה אישית עבור הפריטים הבאים.

- ◀ העדפות קלט
- ◀ הגדרות שמע
- ◀ שם המכשיר
- ◀ העדפות הגדרת הפעלה
- ◀ השלכת מגיבים שלא היו בשימוש

התאמה אישית של האווטאר והכינוי של המכשיר

- 1 במסך Manage Instrument (ניהול מכשיר), בחר System Customization (התאמה אישית של המערכת).
- 2 כדי להקצות תמונת אווטאר מועדפת למכשיר שלך, בחר Browse (עיון) ונווט אל התמונה.
- 3 בשדה Nick Name (כינוי), הזן שם מועדף עבור המכשיר.
- 4 בחר Save (שמור) כדי לשמור את ההגדרות ולצאת מהמסך. התמונה והשם מופיעים בפינה השמאלית העליונה של כל אחד מהמסכים.

הגדרת אפשרות מקלדת וצליל חיווי

- 1 במסך Manage Instrument (ניהול מכשיר), בחר System Customization (התאמה אישית של המערכת).
- 2 סמן את תיבת הסימון Use on-screen keyboard (השתמש במקלדת על המסך) כדי להפעיל את המקלדת שעל המסך לצורך הזנת קלט במכשיר.
- 3 סמן את תיבת הסימון Play audio (הפעל שמע) כדי להפעיל חיוויים קוליים לאירועים הבאים.
 - ◀ בעת אתחול המכשיר
 - ◀ כאשר מתחילה הפעלה
 - ◀ כשמתרחשות שגיאות מסוימות
 - ◀ כשנדרשת אינטראקציה עם המשתמש

◀ כשהפעלה מסתיימת

4 בחר **Save** (שמור) כדי לשמור את ההגדרות ולצאת מהמסך.

הגדרה של אפשרויות הגדרת ההפעלה

- 1 במסך **Manage Instrument** (ניהול מכשיר), בחר **System Customization** (התאמה אישית של המערכת).
- 2 סמן את תיבת הסימון **Use Advanced Load Consumables** (השתמש בטעינת חומרים מתכלים מתקדמת) כדי לאפשר טעינה של כל החומרים המתכלים של ההפעלה דרך מסך יחיד.
- 3 סמן את תיבת הסימון **Skip Pre-Run Check Confirmation** (דלג על אישור בדיקה לפני הפעלה) כדי להתחיל ריצוף או סריקה אוטומטית לאחר בדיקה אוטומטית שהצליחה.
- 4 בחר **Save** (שמור) כדי לשמור את ההגדרות ולצאת מהמסך.

הגדרת אפשרות השלכה אוטומטית

- 1 במסך **Manage Instrument** (ניהול מכשיר), בחר **System Customization** (התאמה אישית של המערכת).
- 2 סמן את תיבת הסימון **Purge Consumables at End of Run** (השלך חומרים מתכלים בסוף ההפעלה) כדי להשליך את המגיבים שלא היו בשימוש ממחסנית המגיבים למכל המגיבים שנוצלו אוטומטית לאחר כל הפעלה.



השלכה אוטומטית של חומרים מתכלים מאריכה את זרימת העבודה.

3 בחר **Save** (שמור) כדי לשמור את ההגדרות ולצאת מהמסך.

ציוד וחומרים מתכלים המסופקים על-ידי המשתמש

החומרים מתכלים והציוד הבאים נמצאים בשימוש בפעולות הכנת החומרים המתכלים, הריצוף ותחזוקת המכשיר.

חומרים מתכלים להפעלות ריצוף המסופקים על-ידי המשתמש

חומר מתכלה	ספק	מטרה
1 N NaOH (sodium hydroxide)	ספק מעבדה כללי	דנטורציית ספרייה, עם דילול ל-0.2 N
200 mM Tris-HCl, pH7	ספק מעבדה כללי	דנטורציית ספרייה
מטליות אלכוהול, 70% איזופרופיל או אתנול, 70%	VWR, מק"ט 714-95041 (או שווה-ערך) ספק מעבדה כללי	ניקוי תא זרימה ומטרה כללית
מטליות לשימוש במעבדה, רמת סיבים נמוכה	VWR, מק"ט 026-21905 (או שווה-ערך)	ניקוי תא זרימה ומטרה כללית

חומרים מתכלים המסופקים על-ידי המשתמש לתחזוקת המכשיר

חומר מתכלה	ספק	מטרה
NaOCl, 5% (סודיום היפוכלורית)	Sigma-Aldrich, מק"ט 239305 (או מוצר שווה-ערך בדרגת מעבדה)	שטיפת המכשיר באמצעות השטיפה הידנית לאחר הפעלה; מדולל ל-0.12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, מק"ט P7949	שטיפת המכשיר עם אפשרויות השטיפה הידנית; מדולל ל-0.05%
מים, דרגת-מעבדה	ספק מעבדה כללי	שטיפת המכשיר (שטיפה ידנית)
מסנן אוויר	illumina, מק"ט 20022240	ניקוי האוויר שנכנס למכשיר לצורך צינונו

הנחיות בנוגע למים בדרגת-מעבדה

השתמש תמיד במים בדרגת-מעבדה או במים ללא יונים לשם ביצוע ההליכים עם המכשיר. לעולם אל תשתמש במי ברז. השתמש רק בדרגות המים הבאות או בשווי-ערך:

- ◀ מים ללא יונים
- ◀ Illumina PW1
- ◀ מים 18 מגאוהם (MΩ)
- ◀ מים Milli-Q
- ◀ מים Super-Q
- ◀ מים בדרגה ביולוגית מולקולרית

ציוד המסופק על-ידי המשתמש

מקור	פריט
ספק מעבדה כללי	מקפיא, -25°C עד -15°C, ללא קרח
ספק מעבדה כללי	מקרר, 2°C עד 8°C

פרק 3 ריצוף

13.....	מבוא
14.....	זרימת עבודה של ריצוף
14.....	הכנת מחסנית המגיב
15.....	הכנת תא הזרימה
15.....	הכנת ספריות לריצוף
16.....	הגדרת הפעלת ריצוף
22.....	ניטור התקדמות הפעלה
24.....	שטיפה לאחר הפעלה באופן אוטומטי

מבוא

כדי לבצע הפעלת ריצוף במכשיר NextSeq 550Dx, הכן מחסנית מגיב ותא זרימה ולאחר מכן פעל בהתאם להנחיות התוכנה לצורך הגדרת והתחלת ההפעלה. יצירת אשכולות וריצוף מבוצעים במכשיר. אחרי ההפעלה מתחילה שטיפה של המכשיר באופן אוטומטי, באמצעות רכיבים שכבר טעונים במכשיר.

יצירת אשכולות

במהלך יצירת אשכולות, מולקולות DNA יחידות נקשרות לפני השטח של תא הזרימה ולאחר מכן מוגברות כדי ליצור אשכולות.

ריצוף

יצירת הדמיה של האשכולות מבוצעת באמצעות כימית ריצוף בשני ערוצים ושילובי מסננים הספציפיים לכל אחד מהנוקלאוטידים בעלי התוויות הפלואורסצנטיות. אחרי שהושלמה הדמיה של אריח בתא הזרימה, מתבצעת הדמיה של האריח הבא. תהליך זה חוזר על עצמו עבור כל מחזור ריצוף. לאחר ניתוח ההדמיה התוכנה מבצעת קישור בין בסיסים, סינון ומתן ציון איכות.

נטר את ההתקדמות והנתונים הסטטיסטיים של ההפעלה מתוך ממשק תוכנת הבקרה, מהכרטיסייה Run (הפעלה) ב-BaseSpace, או ממחשב המחובר לרשת, באמצעות Sequencing Analysis Viewer (SAV). ראה *Sequencing Analysis Viewer* בעמוד 24.

ניתוח

עם התקדמות ההפעלה, תוכנת הבקרה מעבירה אוטומטית קובצי קישור בין בסיסים (BCL) אל BaseSpace או למיקום הפלט שצוין לצורך ניתוח משני.

ישנן מספר שיטות ניתוח, בתלות ביישום. לקבלת מידע נוסף, עיין בעזרה של BaseSpace (help.basespace.illumina.com).

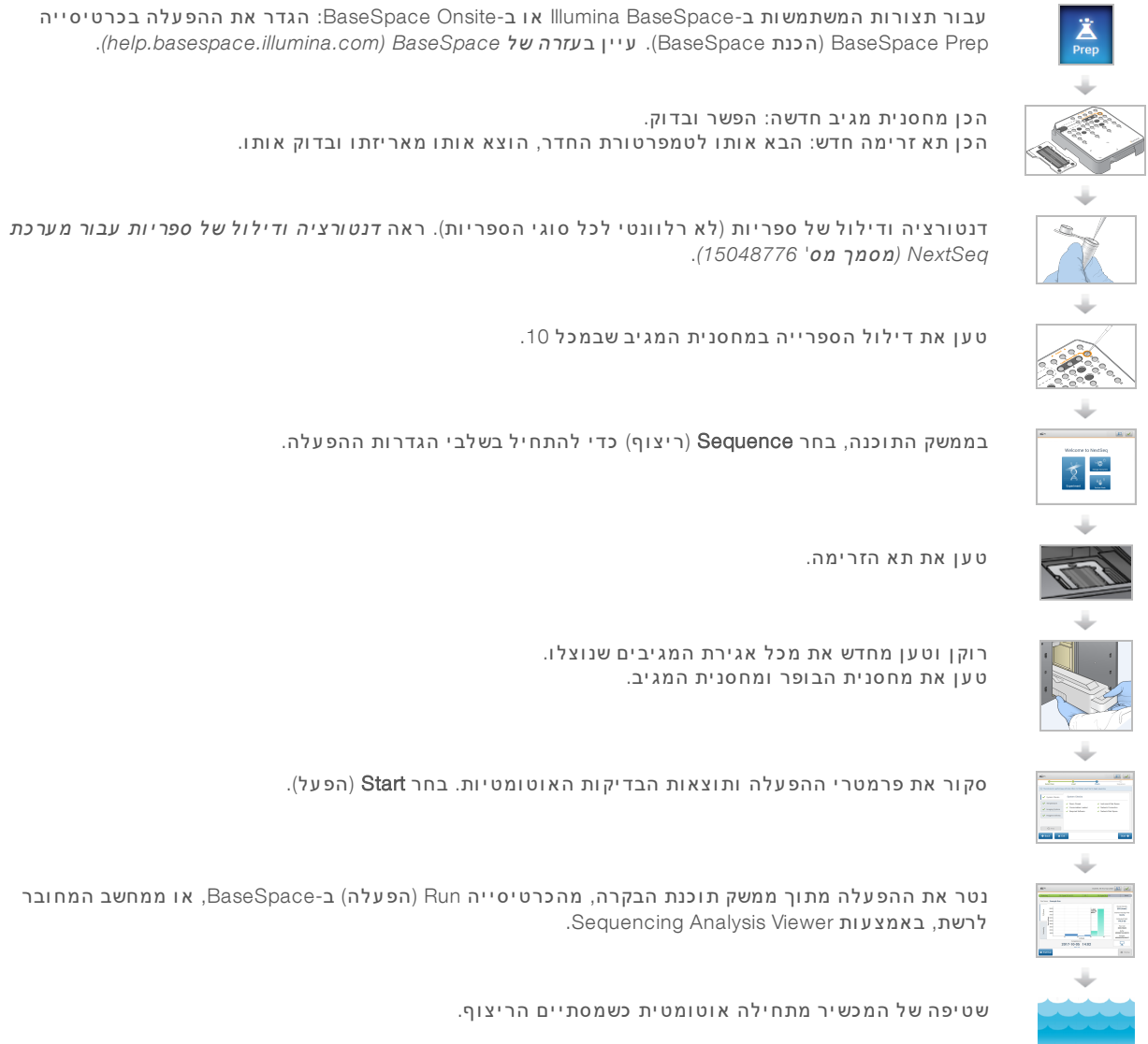
משך הזמן של הפעלת ריצוף

משך הזמן של הפעלת ריצוף תלוי במספר המחזורים המבוצעים. אורך ההפעלה המקסימלי הוא הפעלה עם קצה משויך של 150 מחזורים בכל קריאה (2 x 150) ובנוסף עד 8 מחזורים לכל קריאה עבור 2 קריאות אינדקס.

מספר מחזורים בקריאה

בהפעלת ריצוף, מספר המחזורים שמבוצעים בקריאה הוא מחזור 1 יותר ממספר המחזורים שמנותחים. לדוגמה, הפעלה בעלת 150 מחזורים עם קצה משויך מבצעת קריאות של 151-מחזורים (2 x 151) ל-302 מחזורים בסך הכל. בסוף ההפעלה מנותחים 2 x 150 מחזורים. המחזור הנוסף נדרש עבור חישובי פאזה וקדם-פאזה.

זרימת עבודה של ריצוף



הכנת מחסנית המגיב

- כדי שהריצוף יצליח, הקפד לפעול בהתאם להוראות המתייחסות למחסנית המגיב.
- 1 הוצא את מחסנית המגיב מהאחסון בטמפרטורה של -25°C עד -15°C .
 - 2 בחר אחת מהשיטות הבאות להפשרת המגיבים. אל תשקיע את המחסנית בנוזל. אחרי שהמחסנית הופשרה, יבש אותה לפני שתמשיך לשלב הבא.

מגבלת יציבות	זמן עד להפשרה	טמפרטורה
לא יותר מ-6 שעות	60 דקות	אמבט מים בטמפרטורה של 15°C עד 30°C
לא יותר מ-5 ימים	7 שעות	2°C עד 8°C

הערה



כאשר מפשירים יותר ממחסנית אחת באותו אמבט מים, הארך את זמן ההפשרה.

- 3 הפוך את המחסנית 5 פעמים כדי לערבב את המגיבים.
- 4 התבונן בתחתית המחסנית כדי לוודא שהמגיבים הפשירו ושאינן בהם משקעים. אשר שמיקומים 29, 30, 31 ו-32 הופשרו, מאחר שהם הגדולים ביותר ודורשים זמן ממושך יותר להפשרה.
- 5 הקש בעדינות על הדלפק כדי להפחית את בועות האוויר. להשגת תוצאות מיטביות, התקדם ישירות לטעינת הדגימה ולהגדרת ההפעלה.

אזהרה



סדרה זו של מגיבים כוללת חומרים כימיים שעשויים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בציוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנים האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים. למידע נוסף על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות שבכתובת support.illumina.com/sds.html.

הכנת תא הזרימה

- 1 הוצא קופסת תא זרימה חדשה מאחסון בטמפרטורה של 2°C עד 8°C.
- 2 השאר את קופסת תא הזרימה הפתוחה בצד, בטמפרטורת החדר, למשך 30 דקות.

הערה



כאשר אריזת האלומיניום שלמה ואין בה נזק, תא הזרימה יכול להישאר בטמפרטורת החדר עד 12 שעות. הימנע מצינון וחימום חוזרים של תא הזרימה.

הכנת ספריות לריצוף

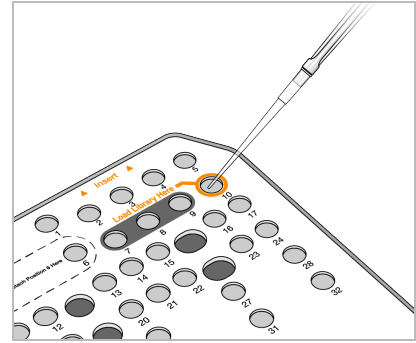
דנטורציה ודילול של ספריות

בצע דנטורציה ודילול של הספריות שלך לנפח טעינה של 1.3 מ"ל וריכוז טעינה של 1.8 pM. בפועל, ריכוז הטעינה יכול להשתנות בתלות בשיטות ההכנה והכימות של הספרייה. לקבלת הוראות, ראה מדריך דנטורציה ודילול של ספריות במערכת NextSeq (מסמך מס' 15048776).

טעינת ספריות במחסנית המגיב

- 1 נקה את רדיד האלומיניום המכסה את מכל #10 בעל הסימון Load Library Here (טען ספרייה כאן) בעזרת מטלית עם תכולת סיבים נמוכה.
- 2 דקור את הרדיד באמצעות קצה של טפטפת 1 מ"ל נקייה.
- 3 טען 1.3 מ"ל של ספריות 1.8 pM מוכנות לתוך מכל #10 בעל הסימון Load Library Here (טען ספרייה כאן). בעת שחרור הספריות, הימנע ממגע ברדיד האלומיניום.

איור 10 טעינת ספריות



הגדרת הפעלת ריצוף

1 במסך הבית, בחר Experiment (ניסוי) ואז בחר Sequence (ריצוף).
הפקודה Sequence (ריצוף) פותחת את דלת תא ההדמיה, משחררת חומרים מתכלים מהפעלה קודמת ופותחת את סדרת מסכי הגדרת ההפעלה. עיכוב קצר הוא מצב רגיל.

אם תצורת המכשיר מוגדרת עבור BaseSpace, תקבל הנחיה להתחבר אל BaseSpace. אם תצורת המכשיר מוגדרת למצב עצמאי, השלב הבא הוא טעינת תא הזרימה.

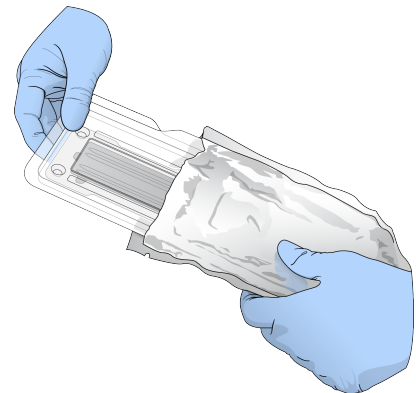
התחברות אל BaseSpace

- 1 הזן את שם המשתמש והסיסמה שלך ל-BaseSpace.
- 2 בחר Next (הבא).

טעינת תא הזרימה

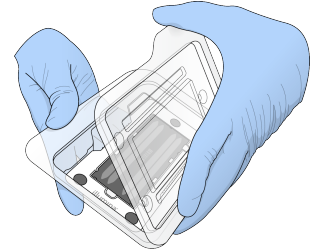
- 1 הסר את תא הזרימה המשומש מההפעלה הקודמת.
- 2 הוצא את תא הזרימה מאריזת האלומיניום.

איור 11 הוצאה מאריזת האלומיניום



3 פתח את אריזת הפלסטיק השקופה בעלת מבנה הצדקה והוצא את תא הזרימה.

איור 12 הוצאה מהאריזה בעלת מבנה הצדפה



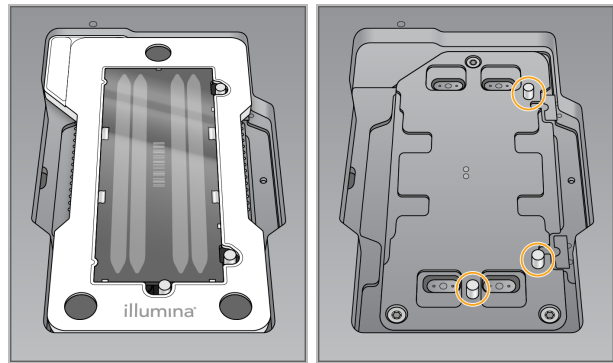
- 4 נקה את משטח הזכוכית של תא הזרימה באמצעות מטלית נטולת סיבים עם הספוגה באלכוהול. יבש את הזכוכית באמצעות מטלית לשימוש במעבדה בעלת תכולת סיבים נמוכה.

הערה 

ודא שמשטח הזכוכית של תא הזרימה נקי. במידת הצורך חזור על שלב הניקוי.

- 5 ישר את תא הזרימה כנגד פני היישור ושים את תא הזרימה על הבמה.

איור 13 טעינת תא הזרימה



- 6 בחר Load (טעינה). הדלת נסגרת אוטומטית, מזהה תא הזרימה מופיע במסך והחיישנים מסומנים.

הערה 

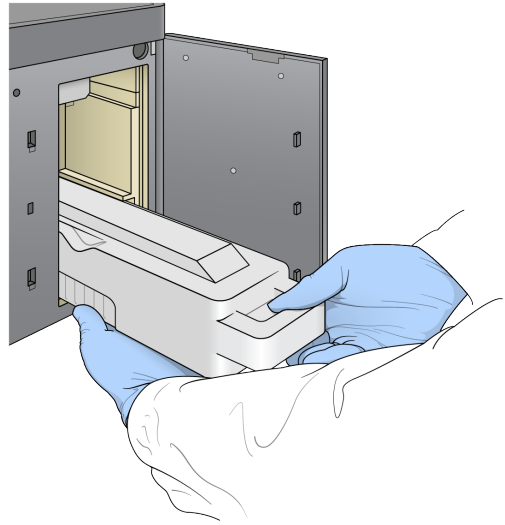
הרחק את ידיך מדלת תא הזרימה כשהיא נסגרת כדי להימנע מצביטה.

- 7 בחר Next (הבא).

ריקון מכל המגיבים שנוצלו

- 1 פתח את דלת מכל הבופר באמצעות התפס שמתחת לפינה השמאלית התחתונה של הדלת.
- 2 הסר את מכל המגיבים שנוצלו והשלך את המכלים בהתאם לסטנדרטים החלים.

איור 14 הסרת מכל המגיבים שנוצלו



הערה



כשאתה מסיר את המכל, שים את ידך מתחתיו לתמיכה.

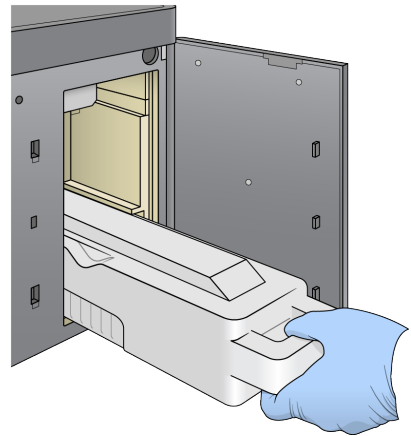
אזהרה



סדרה זו של מגיבים כוללת חומרים כימיים שעשויים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בצידוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנים האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים. למידע נוסף על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות שבכתובת support.illumina.com/sds.html.

3 הסט את מכל המגיבים שנוצלו הריק לתוך מכל הבופר עד שיעצר. קול נקישה מציין שהמכל נמצא במקומו.

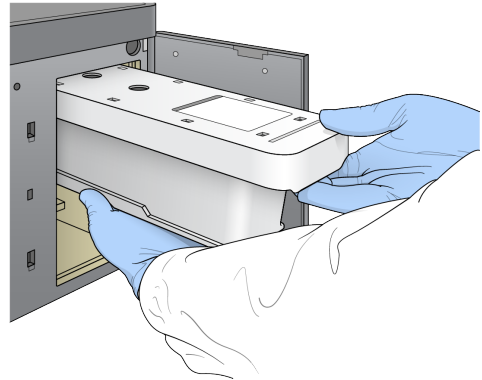
איור 15 טעינת מכל המגיבים שנוצלו הריק



טעינת מחסנית הבופר

- 1 הסר את מחסנית הבופר שהיה בשימוש מהתא העליון. נדרש כוח מסוים כדי להרים את מחסנית הבופר ואז למשוך אותה החוצה.
- 2 הסט מחסנית בופר חדשה לתוך תא הבופר עד שהיא תיעצר. קול נקישה מציין שהמחסנית נמצאת במקומה, מזהה מחסנית הבופר מופיע במסך והחיישן מסומן.

איור 16 טעינת מחסנית הבופר



- 3 סגור את דלת תא הבופר ובחר Next (הבא).

טען את מחסנית המגיב

- 1 פתח את דלת מכל המגיב באמצעות התפס שמתחת לפינה הימנית התחתונה של הדלת.
- 2 הסר את מחסנית המגיב שהיה בשימוש מתא המגיב. השלך את הרכיבים שלא היו בשימוש בהתאם לתקנות החלות.

אזהרה



סדרה זו של מגיבים כוללת חומרים כימיים שעשויים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בציוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנים האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים. למידע נוסף על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות שבכתובת support.illumina.com/sds.html.

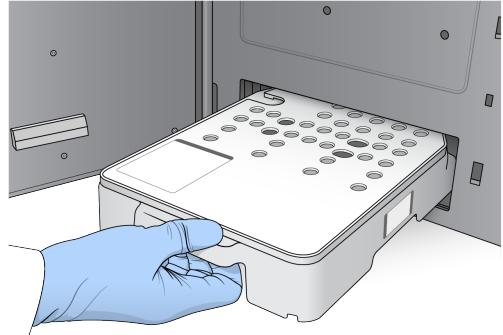
הערה



כדי לסייע לסילוק בטוח של המגיב שלא היה בשימוש, המכל שבמיקום 6 ניתן להסרה. לקבלת מידע נוסף, ראה **הסרת מכל אגירה משומש ממיקום #6 בעמוד 20**.

- 3 הסט את מחסנית המגיב לתוך תא המגיב עד שהמחסנית תיעצר ולאחר מכן סגור את דלת תא המגיב.

איור 17 טעינת מחסנית מגיב

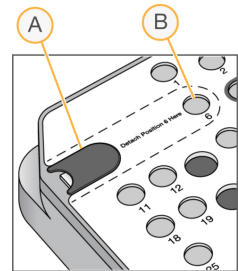


- 4 בחר Load (טעינה).
התכנה מעבירה את המחסנית למיקום באופן אוטומטי (כ-30 שניות), מזהה מחסנית המגיב מופיע במסך והחיישנים מסומנים.
- 5 בחר Next (הבא).

הסרת מכל אגירה משומש ממיקום #6

- 1 אחרי שהסרת את מחסנית המגיב **המשומשת** מהמכשיר, הסר את כיסוי הגומי המגן מעל החריץ שליד מיקום #6.

איור 18 מיקום #6 של פריט ניתן להסרה



A כיסוי גומי מגן
B מיקום #6

- 2 לחץ על לשונית הפלסטיק השקופה כלפי מטה ודחף אותה שמאלה כדי להוציא את המכל.
- 3 השלך את המכל בהתאם לתקנות החלות.

ציין פרמטרי הפעלה

השליבים במסך Run Setup (הגדרות הפעלה) משתנים בהתאם לתצורת המערכת:


- ◀ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace או BaseSpace Onsite) – במסך Run Setup (הגדרות הפעלה) מפורטות ההפעלות שהוגדרו באמצעות הכרטיסייה BaseSpace Prep (הכנת BaseSpace). אם ההפעלה המיועדת לא מופיעה במסך Run Setup (הגדרות הפעלה), ודא שההפעלה מסומנת לריצוף ב-BaseSpace.
- ◀ **Standalone** (עצמאית) – המסך Run Setup (הגדרות הפעלה) כולל שדות להגדרת פרמטרי ההפעלה.

בחר הפעלה זמינה (תצורת BaseSpace)

- 1 בחר שם הפעלה מתוך רשימת ההפעלות הזמינות.
השתמש בחצים מעלה ומטה כדי לגלול ברשימה או להזין שם הפעלה בשדה Search (חיפוש).

- 2 בחר Next (הבא).
- 3 אשר את פרמטרי ההפעלה.
 - ◀ Run Name (שם הפעלה) – שם ההפעלה, כפי שהוקצה ב-BaseSpace.
 - ◀ Library ID (מזהה ספרייה) – שם הספריות שקובצו במאגר כפי שהוקצה ב-BaseSpace.
 - ◀ Recipe (מתכון) – שם המתכון, NextSeq High (NextSeq גבוהה) או NextSeq Mid (NextSeq בינונית), בתלות במחסנית המגיב שהייתה בשימוש בהפעלה.
 - ◀ Read Type (סוג קריאה) – קריאה יחידה או קצה משויך.
 - ◀ Read Length (אורך קריאה) – מספר המחזורים בכל קריאה.
 - ◀ [אופציונלי] תחלים בהתאמה אישית, אם רלוונטי.
- 4 [אופציונלי] בחר בלחצן Edit (ערוך) כדי לשנות את פרמטרי ההפעלה. בסיום בחר Save (שמור).
 - ◀ Run parameters (פרמטרי הפעלה) – שנה את מספר הקריאות או מספר המחזורים בכל קריאה.
 - ◀ Custom primers (תחלים בהתאמה אישית) – שנה את ההגדרות עבור התחלים המוגדרים אישית. לקבלת מידע נוסף ראה מדריך תחלים בהתאמה אישית של NextSeq (מסמך מס' 15057456).
 - ◀ Purge consumables for this run (השלך חומרים מתכלים עבור הפעלה זו) – שנה את ההגדרה כדי להשליך את החומרים המתכלים באופן אוטומטי אחרי ההפעלה הנוכחית.
- 5 בחר Next (הבא).

הזן פרמטרי הפעלה (תצורה עצמאית)

- 1 הזן שם הפעלה על-פי העדפתך.
- 2 [אופציונלי] הזן מזהה ספרייה על-פי העדפתך.
- 3 בחר סוג קריאה מבין האפשרויות Single Read (קריאה יחידה) או Paired End (קצה משויך).
- 4 הזן את מספר המחזורים בכל קריאה בהפעלת הריצוף.
 - ◀ Read 1 (קריאה 1) – הזן ערך של עד 151 מחזורים.
 - ◀ Index 1 (אינדקס 1) – הזן את מספר המחזורים שנדרשים עבור התחל של (i7) Index 1 (אינדקס 1 (i7)).
 - ◀ Index 2 (אינדקס 2) – הזן את מספר המחזורים שנדרשים עבור התחל של (i5) Index 2 (אינדקס 2 (i5)).
 - ◀ Read 2 (קריאה 1) – הזן ערך של עד 151 מחזורים. ערך זה הוא לרוב זהה למספר המחזורים שבקריאה 1. תוכנת הבקרה מאשרת את ההזנות שלך באמצעות הקריטריונים הבאים:
 - ◀ סה"כ מחזורים שלא חורגים ממספר המחזורים המרבי המותר
 - ◀ מחזורים לקריאה 1 שגדולים יותר מ-5 המחזורים המשמשים ליצירת תבנית
 - ◀ מחזורי קריאת אינדקס לא חורגים מהמחזורים של קריאה 1 וקריאה 2
- 5 [אופציונלי] אם אתה משתמש בתחלים בהתאמה אישית, סמן את תיבת הסימון המתייחסת לתחלים שבהם נעשה שימוש. לקבלת מידע נוסף ראה מדריך תחלים בהתאמה אישית של NextSeq (מסמך מס' 15057456).
 - ◀ Read 1 (קריאה 1) – תחל בהתאמה אישית עבור קריאה 1.
 - ◀ Index 1 (אינדקס 1) – תחל בהתאמה אישית עבור אינדקס 1.
 - ◀ Index 2 (אינדקס 2) – תחל בהתאמה אישית עבור אינדקס 1.
 - ◀ Read 2 (קריאה 2) – תחל בהתאמה אישית עבור קריאה 1.
- 6 [אופציונלי] בחר בלחצן Advanced Settings (הגדרות מתקדמות)  כדי לשנות את פרמטרי ההפעלה.
 - ◀ בחר מתכון ברשימה הנפתחת Recipe (מתכון). רק מתכונים תואמים מופיעים ברשימה.
 - ◀ Output folder location (מיקום תיקיית פלט) – שנה את מיקום תיקיית הפלט עבור ההפעלה הנוכחית. בחר Browse (עיון) כדי לנווט למיקום ברשת.
 - ◀ Included file (קובץ כלול) – בחר את הקבצים שייכללו בתיקיית הפלט ושעשויים להיות שימושיים במקרה שיידרש ניתוח נוסף. לדוגמה, קובצי מניפסט וקובצי דגימה.

- ◀ Purge consumables for this run (השלך חומרים מתכלים עבור הפעלה זו) – שנה את ההגדרה כדי להשליך את החומרים המתכלים באופן אוטומטי אחרי ההפעלה הנוכחית.
- ◀ Use run monitoring for this run (השתמש בניטור הפעלה עבור הפעלה זו) – שנה את ההגדרה כך שייעשה שימוש בניטור הפעלה ב-BaseSpace.

7 בחר Next (הבא).

סקירת הבדיקה לפני הפעלה

התוכנה מבצעת בדיקה אוטומטית לפני הפעלה של המערכת. במהלך הבדיקה מופיעים החיוויים הבאים במסך:

- ◀ **סימון אפור** – הבדיקה עדיין לא בוצעה.
 - ◀ **סמל התקדמות** – הבדיקה מתבצעת.
 - ◀ **סימון ירוק** – הבדיקה עברה בהצלחה.
 - ◀ **סימן X אדום** – הבדיקה לא עברה בהצלחה. עבור כל הפריטים שאינם עוברים, תידרש לבצע פעולה לפני שתוכל להתקדם. ראה **פתרון שגיאות בדיקה אוטומטית בעמוד 40**.
- כדי לעצור בדיקה אוטומטית שמתבצעת, בחר בלחצן Cancel (ביטול). כדי להפעיל את הבדיקה מחדש בחר בלחצן Retry (נסה שוב). הבדיקה מתחדשת מהבדיקה הראשונה שלא הושלמה או שנכשלה. כדי להציג את התוצאות של כל בדיקה ובדיקה בקטגוריה, בחר בכרטיסייה Category (קטגוריה).

התחלת ההפעלה

כאשר הבדיקה האוטומטית לפני הפעלה מסתיימת, בחר Start (התחל). הפעלת הריצוף מתחילה. כדי לקבוע את תצורת המערכת כך שתתחיל בהפעלה באופן אוטומטי לאחר בדיקה שהצליחה, ראה **הגדרה של אפשרויות הגדרת ההפעלה בעמוד 11**.

ניטור התקדמות הפעלה

1 ניטור התקדמות ההפעלה, העוצמות וציוני האיכות כאשר מדדים מופיעים במסך.

איור 19 התקדמות ומדדים של הפעלת ריצוף



- A Run progress (התקדמות הפעלה) – הצגת השלב הנוכחי ומספר המחזורים שהושלמו עבור כל קריאה. סרגל ההתקדמות אינו פרופורציונלי לקצב ההפעלה של כל שלב ושלב. התאריך והשעה המשוערים להשלמת הפעלה מוצגים בחלק התחתון.
- B Q-Score (ציון Q) – הצגת התפלגות ציוני האיכות (ציוני Q). ראה **ציון איכות בעמוד 52**.
- C Intensity (עוצמה) – הצגת הערך של עוצמות האשכולות של המאון ה-90 של כל אחד מהאריחים. צבעי המקרא נותנים חיווי על כל בסיס: אדום הוא A, ירוק הוא C, כחול הוא G ושחור הוא T.
- D Cluster Density (K/mm²) (צפיפות אשכול) – הצגת מספר האשכולות שזוהו עבור ההפעלה.

- E Clusters Passing Filter (%) (מסנן מעבר אשכולות (%)) – הצגת אחוז האשכולות שעוברים את המסנן. ראה **מסנן העברת אשכולות בעמוד 51**.
- F Estimated Yield (Gb) (תפוקה משוערת (Gb)) – הצגת מספר הבסיסים החזויים להפעלה.
- G Lot Information (פרטי אצווה) – הצגת מספרי האצוות של החומרים המתכלים לריצוף. ביחס לתא הזרימה מוצג המספר הסידורי.
- H End Run (סיום הפעלה) – מתבצעת עצירה של הפעלת הריצוף. לא ניתן לעשות שימוש חוזר בחומרים מתכלים.

הערה



אחרי שתבחר באפשרות Home (בית) לא תוכל לחזור להצגת מדדי ההפעלה. עם זאת, מדדי ההפעלה נגישים ב-BaseSpace או ניתנים להצגה ממחשב עצמאי באמצעות Sequencing Analysis Viewer (SAV).

מחזורים למדדי הפעלה

מדדי ההפעלה מופיעים בשלבים שונים של הפעלה.

◀ במהלך שלבי יצירת האשכול לא מופיעים מדדים.

◀ 5 המחזורים הראשונים נשמרים ליצירת תבנית.

◀ מדדי ההפעלה מופיעים אחרי מחזור 25 וכוללים מידע על צפיפות האשכול, מסנן מעבר האשכולות, התפוקה וציוני האיכות.

העברת נתונים

מצב	Illumina BaseSpace	BaseSpace Onsite	מכשיר עצמאי
מחובר			
מחובר ומעביר נתונים			
מנותק			
לא זמין			

בהתאם לתצורת הניתוח שנבחרה, במהלך ההפעלה יופיע במסך סמל כדי לציין את מצב העברת הנתונים. במקרה של הפרעה להעברת הנתונים במהלך ההפעלה, הנתונים מאוחסנים זמנית במחשב של המכשיר. כשהחיבור משוחזר, העברת הנתונים מתחדשת באופן אוטומטי. אם החיבור לא שוחזר לפני תום ההפעלה, הסר את הנתונים ידנית ממחשב המכשיר לפני שניתן יהיה להתחיל הפעלה נוספת.

Run Copy Service

חבילת תוכנות המערכת של NextSeq 550Dx כוללת Run Copy Service. RTA v2 מבקש מהשירות להעתיק קבצים ממיקום מקור למיקום יעד והשירות מעבד את בקשות ההעתיקה לפי סדר קבלתן. במקרה של חריגה, הקובץ מוחזר לתור ההעתיקה בהתאם למספר הקבצים שבתור ההעתיקה.

Sequencing Analysis Viewer

התוכנה Sequencing Analysis Viewer מציגה מדדי ריצוף שנוצרים במהלך ההפעלה. המדדים מופיעים כתרשימים, גרפים וטבלאות בהתבסס על נתונים שנוצרים על-ידי RTA ונכתבים בקובצי InterOp. המדדים מתעדכנים עם התקדמות ההפעלה. בחר Refresh (רענון) בכל שלב במהלך ההפעלה כדי להציג את המדדים המעודכנים. לקבלת מידע נוסף, ראה מדריך למשתמש ב-Sequencing Analysis Viewer (חלק מס' 15020619).

התוכנה Sequencing Analysis Viewer כלולה בתוכנות שמותקנות במחשב המכשיר. תוכל להתקין את Sequencing Analysis Viewer גם במחשב אחר המקושר לאותה רשת שאליה מקושר המכשיר, כדי לנטר את מדדי ההפעלה מרחוק.

שטיפה לאחר הפעלה באופן אוטומטי

בסיום הפעלת הריצוף, התוכנה יוזמת שטיפה אוטומטית לאחר הפעלה באמצעות תמיסת השטיפה שבמחסנית הבופר וה-NaOCl שבמחסנית המגיב. אם האפשרות להשליך את החומרים המתכלים הנדרשים עבור ההפעלה זמינה, ההשלכה מתרחשת לפני השטיפה האוטומטית המתבצעת לאחר הפעלה.

השטיפה האוטומטית לאחר הפעלה נמשכת כ-90 דקות. בסיום השטיפה הלחצן Home (בית) הופך לפעיל. תוצאות הריצוף ממשיכות להופיע במסך במהלך השטיפה.

לאחר השטיפה

לאחר השטיפה התקני היניקה נשארים במיקום התחתון כדי למנוע כניסת אוויר למערכת. השאר את המחסניות במקומן עד ההפעלה הבאה.

סריקה

25	מבוא
26	זרימת עבודה של סריקה
26	הורדת תיקיית DMAP
27	טעינת ה-BeadChip במתאם
28	הגדר סריקה
29	ניטור התקדמות סריקה

מבוא

כדי לבצע סריקה במכשיר NextSeq 550Dx דרושים לך רכיבי ההפעלה הבאים:

- ◀ BeadChip מוצלב ומוכתם
 - ◀ מתאם ה-BeadChip הניתן לשימוש חוזר
 - ◀ קובצי Decode Map (DMAP) עבור ה-BeadChip שבו אתה משתמש
 - ◀ קובץ מניפסט עבור סוג ה-BeadChip שבו אתה משתמש
 - ◀ קובץ אשכול עבור סוג ה-BeadChip שבו אתה משתמש
- קובצי הפלט נוצרים במהלך הסריקה ואז מועברים לתור להעברה לתיקיית הפלט שצוינה.
- בצע ניתוח באמצעות תוכנת BlueFuse Multi, אשר דורשת שנתוני הסריקה יהיו זמינים בתבנית קובץ של קביעת גנוטיפ (GTC). כברירת מחדל, המכשיר NextSeq 550Dx יוצר נתונים מתוקננים וקביעות גנוטיפ משויכות בתבנית של קובץ GTC. יש לך אופציה לקבוע את תצורת המכשיר כך שייצור קובצי נתוני עוצמה (IDAT) נוספים. לקבלת מידע נוסף, ראה **תצורת סריקת BeadChip בעמוד 47**.

Decode File Client

התיקייה DMAP מכילה מידע שמזהה את מיקומי החרוזים ב-BeadChip ומכמתת את האות שמשוך לכל אחד מהחרוזים. תיקיית DMAP היא ייחודית לכל ברקוד של BeadChip.

כלי השירות Decode File Client מאפשר לך להוריד תיקיות DMAP ישירות מהשרתים של Illumina באמצעות פרוטוקול HTTP סטנדרטי.

כדי לגשת אל Decode File Client עבור אל **דף התמיכה של Decode File Client** באתר האינטרנט של Illumina (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). התקן את Decode File Client במחשב עם גישה למיקום של תיקיית ה-DMAP ברשת. לקבלת מידע נוסף, ראה **הורדת תיקיית DMAP בעמוד 26**.

קובצי מניפסט וקובצי אשכול

עבור כל BeadChip, התוכנה מחייבת גישה לקובץ מניפסט ולקובץ אשכול. כל אחד מקובצי המניפסט והאשכול הוא ייחודי לסוג של BeadChip. הקפד להשתמש בקובצי אשכול ששמו כולל את הצירוף NS550. קבצים אלה תואמים למערכת NextSeq 550Dx.

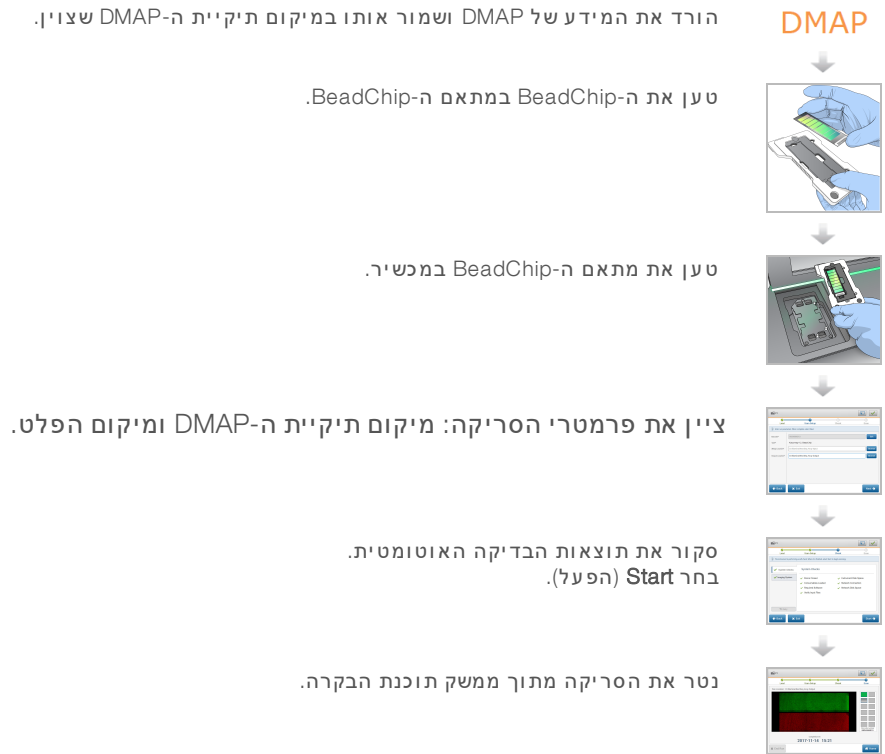
◀ **קובץ מניפסט** – קובצי מניפסט מתארים את תוכן הבדיקה או ה-SNP ב-BeadChip. קובצי מניפסט משתמשים בתבנית הקובץ *.bpm.

◀ **קובצי אשכול** – קובצי אשכול מתארים את מיקומי האשכולות עבור מערך הגנוטיפיזציה של Illumina ומשתמשים בהם בעת ניתוח נתונים כדי לבצע קביעת גנוטיפ. קובצי אשכול משתמשים בתבנית הקובץ *.egt.

מיקום הקבצים מפורט במסך BeadChip Scan Configuration (תצורת סריקת BeadChip). במסך הבית של NCS, בחר **Manage Instrument** (ניהול מכשיר), **System Configuration** (תצורת מערכת) ולאחר מכן **BeadChip Scan Configuration** (תצורת סריקת BeadChip).

בעת ההתקנה של מכשיר NextSeq 550Dx, נציג Illumina מוריד את הקבצים הללו ומציין את הנתיב בתוכנת הבקרה. אין צורך לשנות את הקבצים הללו, למעט במקרה של אובדן או כשזמינה גרסה חדשה. לקבלת מידע נוסף, ראה **החלפת קובצי מניפסט וקובצי אשכול בעמוד 45**.

זרימת עבודה של סריקה



הורדת תיקיית DMAP

באפשרותך לגשת לתיקיית DMAP עם Decode File Client באמצעות חשבון או באמצעות BeadChip (תצוגת ברירת המחדל).

גישה לתיקיית DMAP באמצעות חשבון

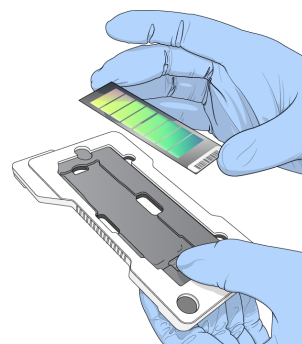
- 1 בכרטיסייה הראשית של Decode File Client, בחר אפשרות הורדה:
 - ◀ AutoPilot
 - ◀ כל שבבי ה-BeadChip עדיין לא הורדו
 - ◀ כל שבבי ה-BeadChip
 - ◀ שבבי BeadChip לפי הזמנת רכש
 - ◀ שבבי BeadChip לפי ברקוד
- 2 הזן את המידע הדרוש.
- 3 אתר את תיקיית ה-DMAP שברצונך להוריד.
- 4 ודא שיש מספיק מקום פנוי ביעד ההורדה.
- 5 התחל בהורדה. הצג את מצב ההורדה בכרטיסייה Download Status and Log (מצב ויומן ההורדה).
- 6 שמור את התיקייה DMAP במיקום תיקיית ה-DMAP שצוין.

גישה לתיקיית DMAP באמצעות BeadChip

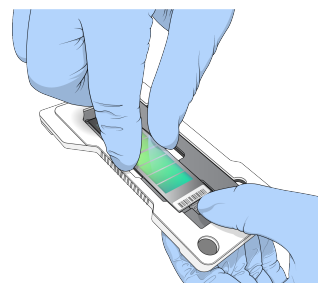
- 1 זהה שבבי BeadChip באמצעות 2 מבין האפשרויות הבאות:
 - ◀ ברקוד של BeadChip
 - ◀ מזהה קופסת שבבי ה-BeadChip
 - ◀ מספר הזמנת רכש
 - ◀ מספר הזמנת מכירה
- 2 אתר את תיקיית ה-DMAP שברצונך להוריד.
- 3 ודא שיש מספיק מקום פנוי ביעד ההורדה.
- 4 התחל בהורדה. הצג את מצב ההורדה בכרטיסייה Download Status and Log (מצב ויומן ההורדה).
- 5 שמור את התיקייה DMAP במיקום תיקיית ה-DMAP שצוין.

טעינת ה-BeadChip במתאם

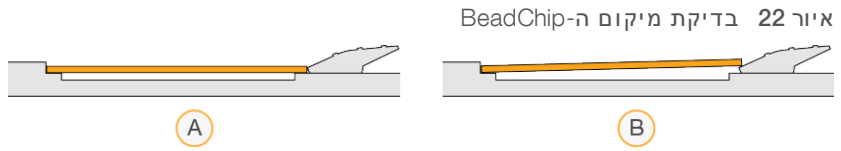
- 1 לחץ מטה את תפס החזקת המתאם. התפס מוטה קלות לאחור לצורך הפתיחה.
 - 2 כשאתה אוחד ב-BeadChip בקצותיו, הצב את ה-BeadChip כך שהברקוד קרוב לתפס ההחזקה ושים את ה-BeadChip בתוך המדף השקוע של המתאם.
- איור 20 טעינת BeadChip במתאם



- 3 באמצעות הפתחים שבכל אחד מצדי ה-BeadChip, ודא שה-BeadChip מיוצב במדף השקוע של המתאם.
- איור 21 ייצוב ואבטחת ה-BeadChip



- 4 שחרר בעדינות את תפס ההחזקה כדי לאבטח את ה-BeadChip.
- 5 התבונן ב-BeadChip בצדו וודא שה-BeadChip מונח אופקית על המתאם. במידת הצורך תקן את מיקום ה-BeadChip.



- A המיקום הנכון – ה-BeadChip מונח אופקית על המתאם כאשר התפס משוחרר.
 B מיקום לא נכון – ה-BeadChip אינו אופקי כאשר התפס משוחרר.

הגדר סריקה

- 1 במסך הבית, בחר Experiment (ניסוי) ואז בחר Scan (סריקה).
 הפקודה Scan (סריקה) פותחת את דלת תא ההדמיה, משחררת חומרים מתכלים מהפעלה קודמת (אם קיימת) ופותחת את סדרת מסכי הגדרת הסריקה. עיכוב קצר הוא מצב רגיל.

פריקת חומרים מתכלים לריצוף

- אם חומרים מתכלים לריצוף שכבר נעשה שבהם שימוש נמצאים במערכת כשאתה מגדיר סריקה, התוכנה מנחה אותך לפרוק את מחסנית המגיב ומחסנית הבופר לפני שתתקדם לשלב הבא.
- 1 אם תונחה לעשות זאת, הסר את החומרים המתכלים לריצוף המשומשים מהפעלה קודמת.
 - a הסר את מחסנית המגיב מתא ההדמיה. השלך את הרכיבים שלא היו בשימוש בהתאם לתקנות החלות.
 - b הסר את מחסנית הבופר שהיה בשימוש מתא הבופר.

אזהרה



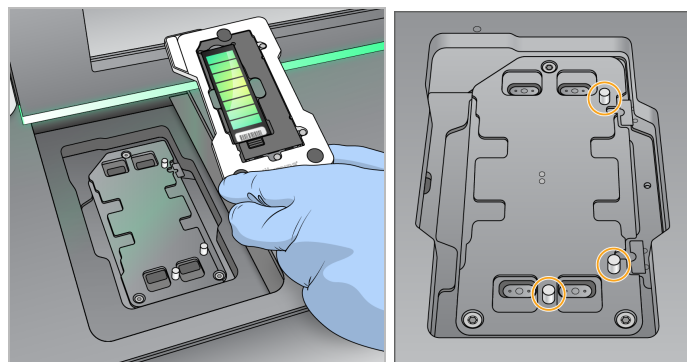
סדרה זו של מגיבים כוללת חומרים כימיים שעשויים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בצידוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנים האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים. למידע נוסף על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות שבכתובת support.illumina.com/sds.html.

- 2 הסר את תא הזרימה מתא ההדמיה.
- 3 סגור את דלתות מחסנית המגיב ומחסנית הבופר.

טעינת מתאם ה-BeadChip

- 1 השתמש בפיני היישור כדי למקם את מתאם ה-BeadChip על הבמה.

איור 23 טעינת מתאם ה-BeadChip



- 2 בחר Load (טעינה).

הדלת נסגרת אוטומטית, מזהה ה-BeadChip מופיע במסך והחיישנים מסומנים. עיכוב קצר הוא מצב רגיל. אם לא ניתן לקרוא את הברקוד של ה-BeadChip, מופיעה תיבת דו-שיח שבה תוכל להזין את הברקוד באופן ידני. ראה [לתוכנה אין אפשרות לקרוא את הברקוד של ה-BeadChip בעמוד 44](#).

3 בחר **Next** (הבא).

הגדרת סריקה

- 1 במסך **Scan Setup** (הגדרת סריקה) אשר את המידע הבא:
 - ◀ **Barcode** (ברקוד) – התוכנה קוראת את הברקוד של ה-BeadChip בעת טעינת ה-BeadChip. אם הברקוד הוזן ידנית, הלחצן **Edit** (ערוך) מופיע לצורך שינויים נוספים.
 - ◀ **Type** (סוג) – שדה הסוג **BeadChip** מאוכלס אוטומטית בהתבסס על הברקוד של ה-BeadChip.
 - ◀ **DMAP Location** (מיקום DMAP) – מיקום התיקייה **DMAP** מפורט במסך **BeadChip Scan Configuration** (תצורת סריקת BeadChip). כדי לשנות את מיקום הסריקה הנוכחית בלבד, בחר **Browse** (עיון) ונווט אל המיקום הנכון.
 - ◀ **Output Location** (מיקום פלט) – מיקום הפלט מצוין במסך **BeadChip Scan Configuration** (תצורת סריקת BeadChip). כדי לשנות את מיקום הסריקה הנוכחית בלבד, בחר **Browse** (עיון) ונווט אל המיקום המועדף.
- 2 בחר **Next** (הבא).

סקירת הבדיקה לפני הפעלה

- התוכנה מבצעת בדיקה אוטומטית לפני הפעלה של המערכת. במהלך הבדיקה מופיעים החיוויים הבאים במסך:
- ◀ **סימון אפור** – הבדיקה עדיין לא בוצעה.
 - ◀ **סמל התקדמות** – הבדיקה מתבצעת.
 - ◀ **סימון ירוק** – הבדיקה עברה בהצלחה.
 - ◀ **סימן X אדום** – הבדיקה לא עברה בהצלחה. עבור כל הפריטים שאינם עוברים, תידרש לבצע פעולה לפני שתוכל להתקדם. ראה [פתרון שגיאות בדיקה אוטומטית בעמוד 40](#).
- כדי לעצור בדיקה אוטומטית שמתבצעת, בחר בלחצן **Cancel** (ביטול). כדי להפעיל את הבדיקה מחדש בחר בלחצן **Retry** (נסה שוב). הבדיקה מתחדשת מהבדיקה הראשונה שלא הושלמה או שנכשלה. כדי להציג את התוצאות של כל בדיקה ובדיקה בקטגוריה, בחר בכרטיסייה **Category** (קטגוריה).

התחלת הסריקה

כאשר הבדיקה האוטומטית מסתיימת, בחר **Start** (התחל). הסריקה מתחילה. כדי לקבוע את תצורת המערכת כך שתתחיל בסריקה באופן אוטומטי לאחר בדיקה שהצליחה, ראה [הגדרה של אפשרויות הגדרת ההפעלה בעמוד 11](#).

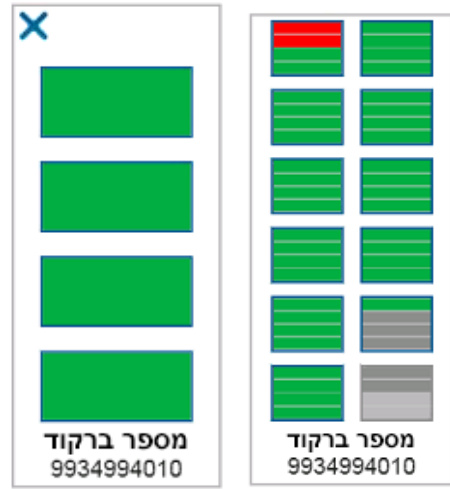
ניטור התקדמות סריקה

- 1 ניטור התקדמות הסריקה באמצעות תמונת ה-BeadChip. כל אחד מהצבעים בתמונה מציינ את מצב הסריקה.
 - ◀ **אפור בהיר** – לא נסרק
 - ◀ **אפור כהה** – נסרק אך לא נרשם.
 - ◀ **ירוק** – נסרק ונרשם בהצלחה.
 - ◀ **אדום** – הסריקה והרישום נכשלו.

אם הרישום נכשל, באפשרותך לסרוק מחדש את הדגימות שכוללות מקטעים שנכשלו. ראה [כשל בסריקת BeadChip בעמוד 44](#).
- 2 בחר את תמונת ה-BeadChip למעבר בין תצוגה מלאה ותצוגה מפורטת של דגימה נבחרת.
 - ◀ התצוגה המלאה מראה את הדגימות ב-BeadChip ואת המקטעים בתוך כל דגימה.

◀ התצוגה המפורטת מראה כל אחד מהמקטעים בדגימה שנבחרה.

איור 24 תמונת BeadChip: תצוגה מלאה ותצוגה מפורטת



הערה



עצירת סריקה היא סופית. אם תעצור את הסריקה לפני השלמתה, הנתונים הסרוקים לא יישמרו.

העברת נתונים

בתום הסריקה הנתונים מוכנסים לתור להעברה אל תיקיית פלט הסריקה. הנתונים נכתבים זמנית במחשב המכשיר. התיקייה הזמנית נמחקת ממחשב המכשיר באופן אוטומטי כשאחריה מתחילה סריקה אחרת.

משך הזמן שנדרש להעברת הנתונים תלוי בחיבור שלך לרשת. לפני שתתחיל בסריקה הבאה, ודא שהנתונים נכתבו בתיקיית הפלט. כדי לבדוק זאת, ודא שקובצי ה-GTC נמצאים בתיקיית הברקוד. לקבלת מידע נוסף, ראה **מבנה תיקיית פלט של סריקה בעמוד 57**.

במקרה של הפרעה לחיבור, העברת הנתונים מתחדשת אוטומטית כשהחיבור חוזר. לכל אחד מהקבצים יש קוצב זמן של שעה אחת מרגע שהוכנס לתור להעברה לתיקיית הפלט. כשקוצב הזמן נעצר, או כאשר המכשיר מאותחל מחדש לפני תום ההעברה, הנתונים אינם נכתבים בתיקיית הפלט.

פרק 5 תחזוקה

31	מבוא
31	ביצוע שטיפה ידנית
34	החלפת מסנן אוויר
35	עדכוני תוכנה
36	אפשרויות אתחול וכיבוי

מבוא

נהלי התחזוקה כוללים שטיפות ידניות של המכשיר ועדכונים של תוכנת המערכת, כאשר זמינים.

- ◀ **שטיפות של המכשיר** – שטיפה אוטומטית לאחר הפעלה, המתבצעת אחרי כל הפעלת ריצוף, שומרת על ביצועי המכשיר. עם זאת, מעת לעת נדרשת שטיפה ידנית בתנאים מסוימים. ראה **ביצוע שטיפה ידנית בעמוד 31**.
- ◀ **עדכוני תוכנה** – כאשר זמינה גרסה מעודכנת של המערכת, באפשרותך להתקין את העדכון אוטומטית על-ידי חיבור ל-BaseSpace, או ידנית, לאחר הורדת תוכנית ההתקנה מאתר האינטרנט של Illumina. ראה **עדכוני תוכנה בעמוד 35**.
- ◀ **החלפת מסנן אוויר** – החלפה סדירה של מסנן האוויר מבטיחה זרימת אוויר תקינה דרך המכשיר.

תחזוקה מונעת

Illumina ממליצה לקבוע לוח זמנים לטיפול תחזוקה מונעת בכל שנה. אם אין לך חוזה המכסה טיפולים, פנה למנהל תיקי הלקוחות באזורך או לתמיכה הטכנית של Illumina כדי לתאם שירות תחזוקה מונעת בתשלום.

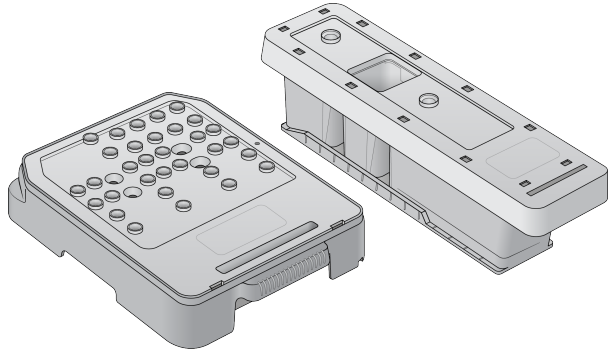
ביצוע שטיפה ידנית

ייזום שטיפות ידניות מתבצע במסך Home (בית). אפשרויות השטיפה הן Quick Wash (שטיפה מהירה) ו-Manual Post-Run Wash (שטיפה ידנית לאחר הפעלה).

תיאור	סוגי שטיפות
שוטפת את המערכת באמצעות תמיסת שטיפה המסופקת על-ידי המשתמש והמורכבת ממים בדרגת מעבדה ו-Tween 20 (מחסנית בופר לשטיפה). <ul style="list-style-type: none">• נדרשת מדי 14 ימים שבהם המכשיר לא פעיל וכשמחסנית מגיב ומחסנית בופר נמצאות בו.• נדרשת מדי 7 ימים שבהם המכשיר במצב יבש (מחסנית המגיב ומחסנית הבופר הוסרו).• נדרשת לאחר כיבוי.	שטיפה מהירה משך הזמן: 20 דקות
שוטפת את המערכת באמצעות תמיסת שטיפה המסופקת על-ידי המשתמש והמורכבת ממים בדרגת מעבדה ו-Tween 20 (מחסנית בופר לשטיפה) וסודיום היפוכלורית 0.12% (מחסנית מגיב לשטיפה). נדרשת במקרה שהשטיפה האוטומטית לאחר הפעלה לא בוצעה.	שטיפה ידנית לאחר הפעלה משך הזמן: 90 דקות

לביצוע שטיפה ידנית נדרשים מחסנית המגיב לשטיפה ומחסנית הבופר לשטיפה שסופקו עם המכשיר ותא זרימה משומש. בתא זרימה משומש ניתן להשתמש עד 20 פעמים לצורך שטיפות של המכשיר.

איור 25 מחסנית מגיב לשטיפה ומחסנית בופר לשטיפה



הכנה לשטיפה ידנית לאחר הפעלה

בחר להכין לשטיפה ידנית לאחר הפעלה כפי שמתואר להלן או להכין לשטיפה מהירה (הסעיף הבא). אם בכוונתך לבצע שטיפה ידנית לאחר הפעלה, דלג על סעיף השטיפה המהירה והמשך לסעיף טען את תא הזרימה המשומש ומחסניות השטיפה בעמוד 33.

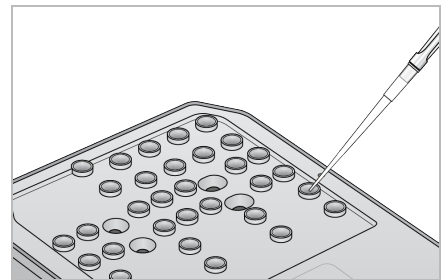
חומרים מתכלים המסופקים על-ידי המשתמש	נפח ותיאור
NaOCl	1 מ"ל, מדולל ל-0.12% נטען במחסנית המגיב לשטיפה (מיקום 28)
100% Tween 20 מים בדרגת מעבדה	משמש ליצירת 125 מ"ל של תמיסת 0.05% לשטיפה נטען במחסנית הבופר לשטיפה (המכל המרכזי)

הערה

השתמש תמיד בדילול טרי של NaOCl שהוכן במהלך 24 השעות האחרונות. אם אתה יוצר נפח של יותר מ-1 מ"ל, אחסן את הדילול שנשאר בטמפרטורה של 2°C עד 8°C לצורך שימוש במהלך 24 השעות הקרובות. אם לא, השלך את דילול ה-NaOCl שנותר.

- 1 שלב את הנפחים הבאים במבחנת מיקרוצנטריפוגה כדי לקבל 1 מ"ל של 0.12% NaOCl:
 - ◀ 5% NaOCl (24 מיקרו-ליטר)
 - ◀ מים בדרגת מעבדה (976 מיקרו-ליטר)
- 2 הפוך את המבחנה לצורך ערבוב.
- 3 הוסף 1 מ"ל של 0.12% NaOCl למחסנית המגיב לשטיפה. המכל המתאים הוא שווה-ערך למיקום מס' 28 במחסנית שמולאה מראש.

איור 26 טעינת NaOCl



- 4 שלב את הנפחים הבאים כדי שתתקבל תמיסת שטיפה 0.05% Tween 20:
 - ◀ 100% Tween 20 (62 מיקרו-ליטר)

◀ מים בדרגת מעבדה (125 מ"ל)

- 5 הוסף תמיסת שטיפה בנפח 125 מ"ל למכל המרכזי של מחסנית הבופר לשטיפה.
6 בחר Perform Wash (בצע שטיפה) ולאחר מכן בחר Manual Post-Run Wash (שטיפה ידנית לאחר הפעלה).

הכנה לשטיפה מהירה

באפשרותך להכין לשטיפה מהירה כמתואר להלן, בתור חלופה לאפשרות ההכנה לשטיפה ידנית לאחר הפעלה בעמוד 32.

חומרים מתכלים המסופקים על-ידי המשתמש	נפח ותיאור
100% Tween 20 מים בדרגת מעבדה	משמש ליצירת 40 מ"ל של תמיסת 0.05% Tween 20 לשטיפה נטען במחסנית הבופר לשטיפה (המכל המרכזי)

- 1 שלב את הנפחים הבאים כדי שתתקבל תמיסת שטיפה 0.05% Tween 20:
 ◀ 100% Tween 20 (20 מיקרו-ליטר)
 ◀ מים בדרגת מעבדה (40 מ"ל)
- 2 הוסף תמיסת שטיפה בנפח 40 מ"ל למכל המרכזי של מחסנית הבופר לשטיפה.
 3 בחר Perform Wash (בצע שטיפה) ולאחר מכן בחר Quick Wash (שטיפה מהירה).

טען את תא הזרימה המשומש ומחסניות השטיפה

- 1 אם אין תא זרימה משומש, טען תא זרימה משומש. בחר Load (טעינה) ואז בחר Next (הבא).
 2 הסר את מכל המגיבים שנוצלו והשלך את המכלים בהתאם לסטנדרטים החלים.

אזהרה



סדרה זו של מגיבים כוללת חומרים כימיים שעשויים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בצידוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנים האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים. למידע נוסף על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות שבכתובת support.illumina.com/sds.html.

- 3 הסט את מכל המגיבים שנוצלו הריק לתוך מכל הבופר עד שייעצר.
 4 הסר את מחסנית הבופר המשומשת מהפעלה הקודמת, אם מותקנת.
 5 טען את מחסנית הבופר לשטיפה המכילה את תמיסת השטיפה.
 6 הסר את מחסנית המגיב המשומשת מהפעלה הקודמת, אם מותקנת.
 7 טען את מחסנית המגיב לשטיפה.
 8 בחר Next (הבא). הבדיקה שלפני השטיפה מתחילה אוטומטית.

הפעלת השטיפה

- 1 בחר Start (הפעל).
 2 בתום השטיפה, בחר Home (בית).

לאחר השטיפה

לאחר השטיפה התקני היניקה נשארים במיקום התחתון כדי למנוע כניסת אוויר למערכת. השאר את המחסניות במקומן עד הפעלה הבאה.

החלפת מסנן אוויר

מסנן האוויר מבטיח זרימת אוויר דרך המכשיר. תוכנת ההפעלה של NextSeq 550Dx במצב האבחון של המכשיר מציגה הודעה להחליף את מסנן האוויר מדי 90 יום. כשתונחה לעשות זאת, בחר **Remind in 1 day** (הזכר לי עוד יום 1) או בצע את ההליך הבא ובחר **Filter Changed** (המסנן הוחלף). הספירה לאחור של 90 הימים מתאפסת אחרי שבוחרים באפשרות **Filter Changed** (המסנן הוחלף).

- 1 הסר את מסנן האוויר מהאריזה וכתוב על מסגרת המסנן את התאריך שבו התקנת אותו.
- 2 בגב המכשיר, לחץ על החלק העליון של מגש המסנן כדי לשחרר את המגש.
- 3 אחוז בחלק העליון של מגש המסנן ומשוך אותו מעלה כדי להרים את המגש כולו כך שייצא מהמכשיר.
- 4 הסר את מסנן האוויר הישן והשלך אותו.
- 5 הכנס את מסנן האוויר החדש למגש.

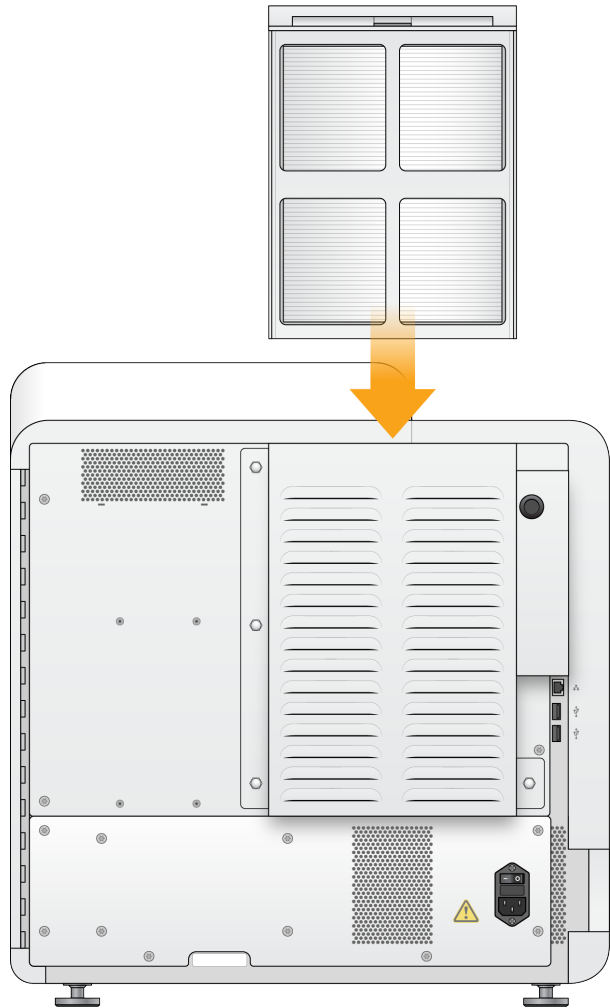
הערה



מסנן האוויר אינו פועל כהלכה כשהוא מותקן הפוך. הקפד להכניס את מסנן האוויר למגש כך שתוכל לראות את החץ הירוק המצביע מעלה ולא תוכל לראות את תווית האזהרה. החץ אמור להצביע לכיוון הידית של מגש המסנן.

- 6 הסט את מגש המסנן לתוך המכשיר. דחף את חלקו העליון של מגש המסנן עד שייכנס למקומו תוך השמעת נקישה.

איור 27 הכנסת מסנן האוויר



עדכוני תוכנה

עדכוני התוכנה ארוזים בחבילת תוכנה הנקראת System Suite (חבילת מערכת), אשר כוללת את התוכנות הבאות:

◀ (NCS) NextSeq Control Software

◀ מתכוני NextSeq

◀ RTA2

◀ (NSS) NextSeq Service Software

◀ (SAV) Sequencing Analysis Viewer

◀ BaseSpace Broker

באפשרותך להתקין עדכוני תוכנה אוטומטית באמצעות חיבור לאינטרנט או ידנית באמצעות רשת או מיקום USB.

◀ **עדכונים אוטומטיים** – עבור מכשירים המחוברים לרשת עם גישה לאינטרנט, מופיע סמל התראה **!** על הלחצן Manage Instrument (ניהול מכשיר) במסך הבית, כשיש עדכון זמין.

◀ **עדכונים ידניים** – הורד את תוכנית ההתקנה של System Suite **מדף התמיכה של המכשיר NextSeq 550Dx** באתר האינטרנט של Illumina.

עדכון תוכנה אוטומטי

- 1 בחר Manage Instrument (ניהול מכשיר).
 - 2 בחר Software Update (עדכון תוכנה).
 - 3 בחר Install the update already downloaded from BaseSpace (התקן את העדכון שכבר הורד מ-BaseSpace).
 - 4 בחר Update (עדכון) כדי להתחיל בעדכון. נפתחת תיבת דו-שיח לאישור הפקודה.
 - 5 פעל בהתאם להנחיות באשף ההתקנה:
 - a אשר את הסכם הרישוי.
 - b עיין בהערות המוצר.
 - c עיין ברשימת התוכנות הכלולות בעדכון.
- כשהעדכון יושלם תוכנת הבקרה תופעל מחדש באופן אוטומטי.

הערה



אם כלול עדכון קושחה, תידרש הפעלה מחדש אוטומטית של המערכת אחרי שהקושחה תעודכן.

עדכון תוכנה ידני

- 1 הורד את תוכנית ההתקנה של System Suite מאתר האינטרנט של Illumina ושמור אותה במיקום ברשת. לחלופין, העתק את קובץ ההתקנה של התוכנה לכונן USB נייד.
 - 2 בחר Manage Instrument (ניהול מכשיר).
 - 3 בחר Software Update (עדכון תוכנה).
 - 4 בחר Manually install the update from the following location (התקן ועדכן ידנית מהמיקום הבא).
 - 5 בחר Browse (עיון) כדי לנווט למיקום של קובץ התקנת התוכנה ולאחר מכן בחר Update (עדכון).
 - 6 פעל בהתאם להנחיות באשף ההתקנה:
 - a אשר את הסכם הרישוי.
 - b עיין בהערות המוצר.
 - c עיין ברשימת התוכנות הכלולות בעדכון.
- כשהעדכון יושלם תוכנת הבקרה תופעל מחדש באופן אוטומטי.

הערה



אם כלול עדכון קושחה, תידרש הפעלה מחדש אוטומטית של המערכת אחרי שהקושחה תעודכן.

אפשרויות אתחול וכיבוי

- גש לתכונות הבאות על-ידי בחירה בלחצן Shut Down Options (אפשרויות כיבוי):
- Restart (הפעלה מחדש) – המכשיר ייפתח במצב Dx (אבחון).
 - Shutdown (כיבוי) – המכשיר ייפתח במצב Dx (אבחון).
 - Exit to Windows (יציאה ל-Windows) – בתלות בהרשאות, תוכל לסגור את NCS ולהציג את Windows.

הפעלה מחדש במצב אבחון

השתמש בפקודה Restart (הפעלה מחדש) כדי לכבות בבטחה את המכשיר ולאתחל מחדש כך שייכנס למצב אבחון. מצב אבחון הוא מצב אתחול שמוגדר כברירת מחדל.

- 1 בחר Manage Instrument (ניהול מכשיר).
- 2 בחר Shutdown Options (אפשרויות כיבוי).
- 3 בחר Restart (הפעלה מחדש).

כיבוי המכשיר

- 1 בחר Manage Instrument (ניהול מכשיר).
 - 2 בחר Shutdown Options (אפשרויות כיבוי).
 - 3 בחר Shut Down (כיבוי).
- הפקודה Shut down (כיבוי) מכבה בבטחה את התוכנה ואת אספקת החשמל למכשיר. המתן לפחות 60 שניות לפני שתפעיל שוב את המכשיר.



הערה

כברירת מחדל, כאשר מדליקים את המכשיר האתחול מבצע כניסה למצב אבחון.

זהירות



אל תשנה את מיקום המכשיר. הזזת המכשיר ממקום למקום בצורה בלתי הולמת עלולה להשפיע על התיאום האופטי ולפגוע בשלמות הנתונים. אם עליך לשנות את מיקום המכשיר, פנה לנציג Illumina באזורך.

יציאה ל-Windows

הפקודה Exit to Windows (יציאה ל-Windows) מספקת גישה למערכת ההפעלה של המכשיר ולכל תיקייה במחשב המכשיר. הפקודה מכבה את התוכנה בבטחה ויוצאת אל Windows,

- 1 בחר Manage Instrument (ניהול מכשיר).
- 2 בחר Shutdown Options (אפשרויות כיבוי).
- 3 בחר Exit to Windows (יציאה ל-Windows).

נספח A פתרון בעיות

39	מבוא
39	קובצי פתרון בעיות
40	פתרון שגיאות בדיקה אוטומטית
41	מכל המגיבים שנוצלו מלא
42	זרימת עבודה של הצלבה חוזרת
44	BeadChip ושגיאות סריקה
45	התאמה אישית של מתכונים ותיקיות מתכונים
45	הודעת שגיאה של RAID
45	קביעת תצורה של הגדרות המערכת

מבוא

אם יש לך שאלות טכניות, בקרה בדפי התמיכה של המכשיר NextSeq 550Dx באתר האינטרנט של Illumina. דרך דפי התמיכה ניתן לגשת לתיעוד, להורדות ולשאלות נפוצות. התחבר לחשבון Myllumina שלך כדי לגשת לעלוני התמיכה.

במקרה של בעיות באיכות ההפעלה או בביצועים פנה לתמיכה הטכנית של Illumina. ראה **סיוע טכני בעמוד 63**. כדי לפשט את פתרון הבעיה, שקול לשתף עם התמיכה הטכנית של Illumina קישור לסיכום ההפעלה ב-BaseSpace.

קובצי פתרון בעיות

נציג התמיכה הטכנית של Illumina עשוי לבקש עותקים של קבצים ספציפיים להפעלה או ספציפיים לסריקה כדי לפתור בעיות. בדרך-כלל, לצורך פתרון בעיות משתמשים בקבצים הבאים.

קובצי פתרון בעיות להפעלות ריצוף

קובץ מפתח	תיקייה	תיאור
קובץ פרטי הפעלה (RunInfo.xml)	תיקיית בסיס	מכילה את המידע הבא: <ul style="list-style-type: none"> שם ההפעלה מספר המחזורים בהפעלה מספר המחזורים בכל קריאה האם הקריאה היא בעלת אינדקס מספר הענפים והאריחים בתא הזרימה
קובץ פרמטרי הפעלה (RunParameters.xml)	תיקיית בסיס	מכילה מידע על פרמטרי הפעלה ורכיבי הפעלה. המידע כולל את ה-RFID, המספר הסיידורי, מספר החלק ותאריך התפוגה.
קובץ תצורה של RTA (RTAConfiguration.xml)	תיקיית בסיס	כוללת את הגדרות התצורה של RTA עבור ההפעלה. הקובץ RTAConfiguration.xml נוצר בתחילת ההפעלה.
קובצי InterOp (*.bin)	InterOp	קובצי דיווח בינאריים נמצאים בשימוש ב-Sequencing Analysis Viewer. קובצי ה-InterOp מתעדכנים במהלך ההפעלה.
קובצי יומן	יומנים	קובצי יומן מתארים כל אחד מהשלבים שמבצע המכשיר בכל מחזור ומפרטים את גרסאות התוכנה והקושחה שבהן נעשה שימוש בהפעלה. הקובץ ששמו [InstrumentName]_CurrentHardware.csv מפרט את המספרים הסיידוריים של רכיבי המכשיר.
קובצי יומן רישום שגיאות (*ErrorLog*.txt)	יומני RTA	יומן שגיאות RTA. קובצי יומן שגיאות מתעדכנים בכל פעם שמתרחשת שגיאה.
קובצי יומן גלובליים (*GlobalLog*.tsv)	יומני RTA	מתעדים את כל אירועי ה-RTA. קובצי היומן הגלובליים מתעדכנים במהלך ההפעלה.

שגיאות RTA

כדי לפתור שגיאות RTA, תחילה עיין ביומן השגיאות של RTA אשר מאוחסן בתיקייה RTALogs. קובץ זה לא קיים כאשר הפעלות הצליחו. כלול את יומן רישום השגיאה כשאתה מדווח על הבעיות לתמיכה הטכנית של Illumina.

קובצי פתרון בעיות עבור סריקות מערך

קובץ מפתח	תיקייה	תיאור
קובץ פרמטרי סריקה (ScanParameters.xml)	תיקיית בסיס	מכיל מידע על פרמטרי הסריקה. המידע כולל את תאריך הסריקה, ברקוד של BeadChip, מיקום קובץ אשכול ומיקום קובץ מניפסט.
קובצי יומן	יומנים	קובצי היומן מתארים כל אחד מהשלבים שבוצעו במכשיר במהלך הסריקה.
קובצי מדדים	[Barcode]	המדדים מסופקים כמדדי דגימה ומדדי מקטע. [barcode]_sample_metrics.csv – עבור כל דגימה וערוץ (אדום וירוק), מפרט Percent Off Min ו- FWHM Stddev, Avg FWHM Avg, P95, P50, P05, Percent Outliers, Image Registration Score. [barcode]_section_metrics.csv – עבור כל מקטע ואריח, מפרט Laser Z-position, Through Green Avg Pixel, Red Avg Pixel Intensity, Green FWHM, Red FWHM, Focus Z-position, Green Registration Score ו- Red Registration Score, Intensity.
קובצי סריקה חוזרת	[Barcode]	[barcode]_rescan.flowcell – מפרט את מיקומי האריחים המותאמים לסריקה חוזרת, אשר כוללים חפיפה מוגברת בין אריחים.

פתרון שגיאות בדיקה אוטומטית

אם מתעוררות שגיאות במהלך הבדיקה האוטומטית, בצע את הפעולות המומלצות הבאות לפתרון השגיאה. הבדיקות האוטומטיות עבור ריצוף וסריקות מערך שונות אלו מאלו.

בדיקות להפעלות ריצוף

אם בדיקה לפני הפעלה נכשלת, ה-RFID של מחסנית המגיב אינה ננעלת ומתאפשר שימוש בה בהפעלה הבאה. עם זאת, ה-RFID ננעל אם יש חור ברדידי האלומיניום.

פעולה מומלצת	בדיקות מערכת
ודא שדלתות התא נסגרות.	הדלתות נסגרות
חיישני החומרים המתכלים אינם מבצעים רישום. ודא שכל אחד מהחומרים המתכלים נטען כראוי. במסכי הגדרת ההפעלה, בחר Back (הקודם) כדי לחזור לשלב הטעינה ואז חזור על הגדרת ההפעלה.	החומרים המתכלים טעונים
חסרים רכיבים קריטיים של התוכנה. בצע עדכון תוכנה ידני כדי לשחזר את כל רכיבי התוכנה.	התוכנה הנדרשת
בכונן הקשיח של המכשיר אין מספיק שטח דיסק לצורך ביצוע הפעלה. ייתכן שנתונים מהפעלה קודמת לא הועברו. נקה את נתוני ההפעלה מהכונן הקשיח של המכשיר.	שטח הדיסק של המכשיר
החיבור לרשת הופסק. בדוק את מצב הרשת ואת החיבור הפיזי לרשת.	חיבור רשת
חשבון ה-BaseSpace מלא או ששרת הרשת מלא.	שטח דיסק ברשת
פעולה מומלצת	טמפרטורה
פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.	טמפרטורה
פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.	חיישני טמפרטורה
פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.	מאווררים

מערכת הדמיה	פעולה מומלצת
גבולות הדמיה	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
צעדים והצבה על Z	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
קצב שגיאות ביט	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
Flow Cell Registration (רישום תא זרימה)	<ul style="list-style-type: none"> ייתכן שתא הזרימה אינו מוצב במקומו כהלכה. במסכי הגדרת ההפעלה, בחר Back (הקודם) כדי לחזור לשלב של תא הזרימה. דלת תא ההדמיה נפתחת. בטל את הטעינה של תא הזרימה ואז טען אותו מחדש כדי לוודא שהוא מוצב במקומו כהלכה.
אספקת מגיב	פעולה מומלצת
תגובת שסתום	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
משאבה	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
מנגנון בופר	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
ריקון מגיבים שנוצלו	רוקן את מכל המגיבים שנוצלו וטען מחדש את המכל הריק.

בדיקות לסריקות מערך

בדיקות מערכת	פעולה מומלצת
הדלתות נסגרות	ודא שדלתות התא נסגרות.
החומרים המתכלים טעונים	חיישני החומרים המתכלים אינם מבצעים רישום. ודא שכל אחד מהחומרים המתכלים נטען כראוי. במסכי הגדרת ההפעלה, בחר Back (הקודם) כדי לחזור לשלב הטעינה ואז חזור על הגדרת ההפעלה.
התוכנה הנדרשת	חסרים רכיבים קריטיים של התוכנה. בצע עדכון תוכנה ידני כדי לשחרר את כל רכיבי התוכנה.
אמת את קובצי הקלט	ודא שהנתיב לקובץ האשכול ולקובץ המניפסט נכון ושהקבצים ישנם.
שטח הדיסק של המכשיר	בכונן הקשיח של המכשיר אין מספיק שטח דיסק לצורך ביצוע הפעלה. ייתכן שנתונים מהפעלה קודמת לא הועברו. נקה את נתוני ההפעלה מהכונן הקשיח של המכשיר.
חיבור רשת	החיבור לרשת הופסק. בדוק את מצב הרשת ואת החיבור הפיזי לרשת.
שטח דיסק ברשת	חשבון ה-BaseSpace מלא או ששרת הרשת מלא.

מערכת הדמיה	פעולה מומלצת
גבולות הדמיה	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
צעדים והצבה על Z	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
קצב שגיאות ביט	פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.
מרכז אוטומטי	פרוק את מתאם ה-BeadChip. ודא שה-BeadChip מיוצב בתוך המתאם ולאחר מכן טען את המתאם.

מכל המגיבים שנוצלו מלא

התחל הפעלה תמיד כאשר מכל האגירה של המגיבים שנוצלו ריק.

אם תתחיל הפעלה מבלי לרוקן את מכל האגירה של המגיבים שנוצלו, חיישני המערכת יגרמו לתוכנה להשהות את ההפעלה כשהמכל יהיה מלא. חיישני המערכת לא יכולים להשהות הפעלה במהלך יצירת אשכולות, סינתזה חוזרת עם קצה משויך, או השטיפה האוטומטית לאחר הפעלה.

כאשר ההפעלה מושהית, נפתחת תיבת דו-שיח עם אפשרויות להגבהת התקני הניקה וריקון המכל המלא.

ריקון מכל האגירה של המגיבים שנוצלו

- 1 בחר **Raise Sippers** (הגבה התקני יניקה).
- 2 הסר את מכל המגיבים שנוצלו והשלך את תכולתו באופן המתאים.
- 3 החזר את המכל הריק לתא הבופר.
- 4 בחר **Continue** (המשך). הפעלה תחודש אוטומטית.

זרימת עבודה של הצלבה חוזרת

אם המדדים שנוצרו במהלך המחזורים הספורים הראשונים מציגים עוצמות נמוכות מ-2500, ייתכן שיהיה צורך בהפעלת הצלבה חוזרת. מספר ספריות שרמת הגיוון בהן נמוכה עשויות להציג עוצמות הנמוכות מ-1000; ערך זה הוא צפוי ולא ניתן לפתור אותו באמצעות הצלבה חוזרת.



הערה

הפקודה **End Run** (סיום הפעלה) היא סופית. לא ניתן לחדש את ההפעלה. לא יתאפשר שימוש חוזר בחומרים המתכלים שהיו בשימוש בהפעלה ונתוני הריצוף מההפעלה לא יישמרו.

כשאתה מסיים הפעלה, התוכנה מבצעת את הפעולות הבאות לפני סיום ההפעלה:

- ◀ העברת תא הזרימה למצב בטוח.
 - ◀ שחרור נעילת ה-RFID של תא הזרימה להפעלה מאוחרת יותר.
 - ◀ הקצאת תאריך תפוגה של הצלבה חוזרת לתא הזרימה.
 - ◀ כתיבת יומני ההפעלה למחזורים שהושלמו. עיכוב הוא מצב רגיל.
 - ◀ עקיפת השטיפה האוטומטית שלאחר הפעלה.
- כשאתה מתחיל הפעלת הצלבה חוזרת, התוכנה מבצעת את הפעולות הבאות לשם ביצוע ההפעלה:
- ◀ יצירת תיקיית הפעלה המבוססת על שם הפעלה ייחודי.
 - ◀ בדיקה שתאריך ההצלבה החוזרת של תא הזרימה לא חלף.
 - ◀ תיחול המגיבים. עיכוב הוא מצב רגיל.
 - ◀ דילוג על שלב יצירת האשכולות.
 - ◀ הסרת תחל 'קריאה 1' הקודם.
 - ◀ הצלבה של תחל 'קריאה 1' חדש.
 - ◀ המשך ב'קריאה 1' ובשאר ההפעלה על-פי פרמטרי הפעלה שצוינו.

נקודות לסיום הפעלה עבור הצלבה חוזרת

ניתן לבצע הצלבה חוזרת מאוחר יותר רק אם מסיימים את ההפעלה בנקודות הבאות:

- ◀ **אחרי מחזור 5** – העוצמות מופיעות אחרי רישום תבנית, אשר מצריכה את 5 המחזורים הראשונים של הריצוף. אמנם סיום הפעלה אחרי מחזור 1 הוא בטוח, אולם מומלץ לסיים אחרי מחזור 5. אל תסיים הפעלה במהלך יצירת אשכול.
- ◀ **קריאה 1 או קריאת אינדקס 1** – סיים את ההפעלה לפני שתתחיל סינתזה חוזרת עם קצה משויך. אחרי שהחלה סינתזה חוזרת עם קצה משויך, לא ניתן לשמור את תא הזרימה להצלבה חוזרת בשלב מאוחר יותר.

חומרים מתכלים נדרשים

הפעלת הצלבה חוזרת מצריכה מחסנית מגיב NextSeq 550Dx חדשה ומחסנית בופר, ללא קשר למועד שבו הופסקה ההפעלה.

סוף ההפעלה הנוכחית

- 1 בחר End Run (סיום הפעלה). כשתונחה לאשר את הפקודה, בחר Yes (כן).
- 2 כשתונחה לשמור את תא הזרימה, בחר Yes (כן). שים לב לתאריך התפוגה להצלבה חוזרת.
- 3 הסר את תא הזרימה שנשמר והשאר בטמפרטורה של 2°C עד 8°C עד שתהיה מוכן להגדיר את הפעלת ההצלבה החוזרת.

הערה



תוכל לאחסן את תא הזרימה לפרק זמן של עד 7 ימים בטמפרטורה של 2°C עד 8°C, במארז הפלסטיק בעל מבנה הצדפה, ללא סופח הלחות. להשגת תוצאות מיטביות, בצע לתא הזרימה שנשמר הצלבה חוזרת בתוך 3 ימים.

ביצוע שטיפה ידנית

- 1 במסך הבית, בחר Perform Wash (בצע שטיפה).
- 2 במסך Wash Selection (בחירת שטיפה), בחר Manual Post-Run Wash (שטיפה ידנית לאחר הפעלה). ראה **ביצוע שטיפה ידנית בעמוד 31**.

הערה



אם לא הסרת את מחסנית המגיב ומחסנית הבופר מההפעלה שהופסקה, באפשרותך להשתמש בהן לצורך השטיפה הידנית. לחלופין, בצע את השטיפה הידנית באמצעות מחסנית השטיפה של המגיב ומחסנית השטיפה של הבופר.

הגדרת הפעלה חדשה בכרטיסייה BaseSpace Prep (הכנת BaseSpace)

- 1 אם הגדרת התצורה של המכשיר היא BaseSpace או BaseSpace Onsite, הגדר הפעלה חדשה בכרטיסייה Prep (הכנה) עם אותם פרמטרים של ההפעלה המקורית.

עצה



לחץ על הכרטיסייה Pools (מאגרים), בחר את מזהה המאגר המתאים כדי לשמור את הגדרות ההפעלה הקודמת ולאחר מכן הקצה שם ייחודי להפעלה החדשה.

הגדרת הפעלה במכשיר

- 1 הכן מחסנית מגיב חדשה.
- 2 אם תא הזרימה שנשמר אוסון, הנח לו להגיע לטמפרטורת החדר (15–30 דקות).
- 3 נקה וטען את תא הזרימה שנשמר.
- 4 הסר את מכל האגירה של המגיבים שנוצלו, השלך את תכולתו באופן המתאים ולאחר מכן טען מחדש את המכל הריק.
- 5 טען את מחסנית הבופר ומחסנית המגיב החדשות.
- 6 במסך Run Setup (הגדרות הפעלה), בחר מבין האפשרויות הבאות:
 - ◀ BaseSpace or BaseSpace Onsite (BaseSpace או BaseSpace Onsite) – בחר את ההפעלה ואשר את פרמטרי ההפעלה.
 - ◀ Standalone (עצמאית) – הזן את שם ההפעלה וציין את פרמטרי השם של ההפעלה המקורית.
- 7 בחר Next (הבא) כדי להתקדם לבדיקת שלפני ההפעלה ולהתחיל את ההפעלה.

BeadChip ושגיאות סריקה

לתוכנה אין אפשרות לקרוא את הברקוד של ה-BeadChip

כאשר מופיעה תיבת הדו-שיח של שגיאת הברקוד, בחר מבין האפשרויות הבאות:

- ◀ בחר Rescan (סריקה חוזרת). התוכנה תנסה לקרוא את הברקוד פעם נוספת.
- ◀ בחר שדה טקסט והזן את הברקוד המספרים, כמתואר בתמונה. בתלות ב-BeadChip שלך, מספרי הברקוד כוללים עד 12 ספרות. בחר Save (שמור). תמונת הברקוד מאוחסנת בתיקיית הפלט.
- ◀ בחר Cancel (ביטול). דלת תא ההדמיה נפתחת כדי לפרוק את מתאם ה-BeadChip.

כשל בסריקת BeadChip

תמונות נרשמות לאחר סריקתן. ההרשמה מזהה חרוזי על-ידי קישור בין מיקומים בתמונה הסרוקה לבין מידע שמסופק במפת החרוזים, או תיקיית ה-DMAP.

המקטעים עם הכשל ברישום מסומנים באדום בתמונת ה-BeadChip.

איור 28 BeadChip מציג מקטעים שנכשלו



אחרי שהסריקה הושלמה ונתוני הסריקה נכתבו בתיקיית הפלט, הלחצן Rescan (סריקה חוזרת) הופך לפעיל.

לאחר בחירת Rescan (סריקה חוזרת) התוכנה מבצעת את הפעולות הבאות:

- ◀ סריקה חוזרת של דגימות שמכילות מקטעים שנכשלו באמצעות חפיפת אריח-לאריח מוגברת.
- ◀ יצירת קובצי פלט בתיקיית הפלט המקורית.
- ◀ החלפת קובצי הפלט הקודמים עבור המקטעים שנכשלו.
- ◀ העלאת מונה הסריקות ביחידה אחת עבור כל סריקה חוזרת, אולם פעולה זו מתבצעת ברקע. התוכנה לא משנה את שמה של תיקיית הפלט.

סריקה חוזרת או התחלת סריקה חדשה

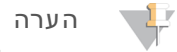
- 1 בחר Rescan (סריקה חוזרת) כדי לסרוק דגימות שמכילות מקטעים שנכשלו.
- 2 אם הסריקה ממשיכה להיכשל, עצור את הסריקה.
- 3 הסר את ה-BeadChip והמתאם ובדוק את ה-BeadChip לאיתור אבק או לכלוך. השתמש באוויר דחוס או בשיטת ניקוי אבק אחרת כדי לנקות את הכלוך.
- 4 טען מחדש את ה-BeadChip והתחל סריקה חדשה. אחרי שמתחילה סריקה חדשה התוכנה מבצעת את הפעולות הבאות:
 - ◀ סריקת ה-BeadChip כולו.
 - ◀ יצירת קובצי פלט בתיקיית פלט חדשה.

◀ העלאת מונה הסריקות ביחידה אחת, בהתאם לספירת הסריקות של הסריקה החוזרת האחרונה.

החלפת קובצי מניפסט וקובצי אשכול

1 עבור אל דף התמיכה של Illumina (support.illumina.com) הרלוונטי ל-BeadChip שבו אתה משתמש ולחץ על הכרטיסייה Downloads (הורדות).

2 הורד את הקבצים שיחלפו או יעודכנו והעתק את הקבצים אל המיקום המועדף עליך ברשת.



הקפד לבחור קובצי מניפסט ואשכול שתואמים למערכת של מכשיר NextSeq 550Dx. שמותיהם של הקבצים התואמים כוללים את הצירוף NS550.

3 רק אם המיקום הוחלף, עדכן את המיקום במסך BeadChip Scan Configuration (תצורת סריקת BeadChip), באופן הבא:

a במסך הבית של NCS בחר **Manage Instrument** (ניהול מכשיר).

b בחר **System Configuration** (תצורת מערכת).

c בחר **BeadChip Scan Configuration** (תצורת סריקת BeadChip).

4 בחר **Browse** (עיון) ונווט אל המיקום של הקבצים החלופיים או המעודכנים.

התאמה אישית של מתכונים ותיקיות מתכונים

אל תשנה את המתכונים המקוריים. תמיד צור עותק של המתכון המקורי, בשם חדש. אם חל שינוי במתכון מקורי, מעדכן התוכנה לא יוכל יותר לזהות את המתכון לצורך עדכונים מאוחרים יותר ולא יותקנו גרסאות חדשות.

אחסן את המתכונים המותאמים אישית בתיקיית המתכונים המתאימה. תיקיות המתכונים מאורגנות באופן הבא.

Custom (התאמה אישית)

High (גבוהה) – מתכונים בהתאמה אישית אשר נמצאים בשימוש עם ערכה בעלת תפוקה גבוהה.

Mid (בינונית) – מתכונים בהתאמה אישית אשר נמצאים בשימוש עם ערכה בעלת תפוקה בינונית.

High (גבוהה) – מתכונים מקוריים אשר נמצאים בשימוש עם ערכה בעלת תפוקה גבוהה.

Mid (בינונית) – מתכונים מקוריים אשר נמצאים בשימוש עם ערכה בעלת תפוקה בינונית.

Wash (שטיפה) – מכילה את מתכון השטיפה הידנית.

הודעת שגיאה של RAID

המחשב של NextSeq 550Dx מצויד בארבעה כוננים קשיחים, שניים למצב אבחון ושניים למצב מחקר. כאשר מתחילים כשלים בכונן קשיח, המערכת יוצרת הודעת שגיאה של RAID ומציעה שתפנה לתמיכה הטכנית של Illumina. בדרך-כלל נדרשת החלפת כונן קשיח.

באפשרותך להתקדם בשלבי הגדרת ההפעלה ובפעולה הרגילה. מטרת ההודעה היא לתאם טיפול מראש כדי להימנע מהפרעות בפעילות הרגילה של המכשיר. כדי להמשיך, בחר **Close** (סגירה).

קביעת תצורה של הגדרות המערכת

קביעת התצורה של המערכת מתבצעת במהלך ההתקנה. עם זאת, אם נדרש שינוי או אם יש לחזור על הגדרת התצורה של המערכת, השתמש באפשרות קביעת התצורה של המערכת. רק לחשבון מנהל מערכת של Windows יש הרשאה לגשת לאפשרויות הגדרת התצורה של המערכת.

◀ **Network Configuration** (תצורת רשת) – מספקת אפשרויות עבור הגדרות כתובת IP, כתובת שרת שמות תחומים (DNS), שם המחשב ושם התחום.

- ◀ Analysis Configuration (תצורת ניתוח) – מספקת אפשרויות לשיטות ניתוח, לרבות BaseSpace, BaseSpace Onsite, מצב עצמאי וניטור הפעלות ב-BaseSpace וכן הגדרות עבור פרטי ההתחברות שנקבעו כברירת מחדל עבור BaseSpace ודיווח על תקינות המכשיר.
- ◀ BeadChip Scan Configuration (תצורת סריקת BeadChip) – מספקת אפשרויות לציון ברירות המחדל של מיקום תיקיית ה-DMAP, מיקום תיקיית הפלט, תבנית הקובץ של תמונות שנשמרו וסוג קובץ הפלט.

הגדרת תצורת רשת

- 1 במסך Manage Instrument (ניהול מכשיר), בחר System Configuration (תצורת מערכת).
- 2 בחר Network Configuration (תצורת רשת).
- 3 בחר Obtain an IP address automatically (השג כתובת IP באופן אוטומטי) כדי לקבל את כתובת ה-IP באמצעות שרת DHCP.



הערה
Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) הוא פרוטוקול רשת סטנדרטי שנמצא בשימוש ברשתות IP לצורך הפצה דינמית של פרמטרי תצורת רשת.

- ◀ לחלופין, בחר Use the following IP address (השתמש בכתובת ה-IP הבאה) כדי לחבר את המכשיר לשרת אחר בצורה ידנית, באופן הבא. פנה למנהל הרשת שלך כדי לקבל את הכתובות הספציפיות למתקן שלך.
- ◀ הזן כתובת IP. כתובת ה-IP היא סדרה של 4 מספרים המופרדים זה מזה בנקודה, למשל 168.62.20.37.
- ◀ הזן את מסכת רשת-המשנה, שהיא תת-חטיבה של רשת ה-IP.
- ◀ הזן את שער ברירת המחדל, שהוא הנתב ברשת שמתחבר לאינטרנט.

- 4 בחר Obtain a DNS server address automatically (השג כתובת שרת DNS באופן אוטומטי) כדי לחבר את המכשיר לשרת שמות התחומים המשויך לכתובת ה-IP.
- ◀ לחלופין, בחר Use the following DNS server addresses (השתמש בכתובות שרתי DNS הבאות) כדי לחבר את המכשיר לשרת שמות התחומים בצורה ידנית, באופן הבא.
- ◀ הזן את כתובת ה-DNS המועדף. כתובת ה-DNS היא שם השרת שבו משתמשים כדי לתרגם את שמות התחומים לכתובות IP.
- ◀ הזן את כתובת ה-DNS החלופי. ה-DNS החלופי משמש כאשר לא ניתן להשתמש ב-DNS המועדף לתרגום שם תחום מסוים לכתובת IP.

- 5 בחר Save (שמור) כדי להתקדם למסך Computer (מחשב).



הערה
שם המחשב של המכשיר מוקצה למחשב של המכשיר בעת הייצור. כל שינוי בשם המחשב יכול להשפיע על הקישוריות ומצריך מנהל רשת.

- 6 חבר את המחשב של המכשיר לתחום או לקבוצת עבודה באופן הבא.
 - ◀ עבור מכשירים מחוברים לאינטרנט – בחר Member of Domain (חבר בתחום) ולאחר מכן הזן את שם התחום שמשויך לחיבור לאינטרנט במתקן שלך. שינויי תחום מצריכים שם משתמש וסיסמה של מנהל מערכת.
 - ◀ עבור מכשירים שאינם מחוברים לאינטרנט – בחר Member of Work Group (חבר בקבוצת רשת) ואז הזן שם של קבוצת עבודה. שם קבוצת העבודה ייחודי למתקן שלך.
- 7 בחר Save (שמור).

הגדרת תצורת ניתוח


- 1 במסך Manage Instrument (ניהול מכשיר), בחר System Configuration (תצורת מערכת).
- 2 בחר Analysis Configuration (תצורת ניתוח).
- 3 בחר מבין האפשרויות הבאות כדי לצייין מיקום שאליו יועברו הנתונים להמשך ניתוח.

- ◀ בחר BaseSpace כדי לשלוח נתוני ריצוף אל Illumina BaseSpace. [אופציונלי] סמן את תיבת הסימון Output Folder (תיקיית פלט), בחר Browse (עיון) ונווט את מיקום רשת משני לשמירת קובצי BCL בנוסף ל-BaseSpace.
- ◀ בחר BaseSpace Onsite. בשדה Server Name (שם השרת), הזן את הנתוב המלא לשרת BaseSpace Onsite שלך. [אופציונלי] סמן את תיבת הסימון Output Folder (תיקיית פלט), בחר Browse (עיון) ונווט את מיקום רשת משני לשמירת קובצי BCL בנוסף לשרת BaseSpace Onsite.
- ◀ בחר Standalone instrument (מכשיר עצמאי) כדי לשמור נתונים במיקום ברשת בלבד. בחר Browse (עיון) ונווט למיקום מועדף ברשת. תוכנת הבקרה יוצרת את שם תיקיית הפלט באופן אוטומטי.
- ◀ [אופציונלי] בחר Use Run Monitoring (השתמש בניטור הפעלה) כדי לנטר את ההפעלה באמצעות כלי המחשה חזותית ב-BaseSpace. יש צורך בשם משתמש ל-BaseSpace ובחיבור לאינטרנט.
- 4 אם בחרת באפשרות BaseSpace or BaseSpace Onsite (BaseSpace או BaseSpace Onsite), הגדר את הפרמטרים של BaseSpace באופן הבא.
 - ◀ הזן שם משתמש וסיסמה ל-BaseSpace כדי לרשום את המכשיר ב-BaseSpace.
 - ◀ בחר Use default login and bypass the BaseSpace login screen (השתמש בפרטי ההתחברות שנקבעו כברירת מחדל ועקוף את מסך ההתחברות ל-BaseSpace) כדי להגדיר את שם המשתמש והסיסמה שנרשמו כפרטי ההתחברות שישמשו כברירת מחדל. הגדרה זו עוקפת את המסך BaseSpace במהלך הגדרת ההפעלה.
- 5 בחר (שלח נתוני ביצועים של המכשיר אל Illumina) Send instrument health information to Illumina (שלח מידע על תקינות המכשיר אל Illumina) כדי לאפשר את שירות הניטור Illumina Proactive. שם ההגדרה בממשק התוכנה עשוי להיות שונה מהשם המופיע במדריך זה, בתלות בגרסת ה-NCS שבה נעשה שימוש. כאשר הגדרה זו מופעלת, נתוני הביצועים של המכשיר נשלחים אל Illumina. נתונים אלה עוזרים ל-Illumina לפתור בעיות ביתר קלות ולזהות כשלים פוטנציאליים, באופן שיאפשר תחזוקה מונעת ומקסום זמן ההפעלה התקינה של המכשיר. לקבלת מידע נוסף על יתרונות שירות זה, ראה *Illumina Proactive Technical Note* (מסמך מס' 1000000052503). שירות זה:
 - ◀ לא שולח נתוני ריצוף
 - ◀ מחייב שהמכשיר יהיה מחובר לרשת עם גישה לאינטרנט
 - ◀ על המכשיר להיות מחובר אל BaseSpace

הערה 

אפשרות זו אינה זמינה עבור BaseSpace Onsite
- ◀ יהיה דולק כברירת מחדל. כדי לבטל את ההצטרפות לשירות זה, הפוך את ההגדרה Send instrument health information to Illumina (שלח מידע על תקינות המכשיר אל Illumina) ללא זמינה.
- 6 בחר Save (שמור).

תצורת סריקת BeadChip

- 1 במסך Manage Instrument (ניהול מכשיר), בחר System Configuration (תצורת מערכת).
- 2 בחר BeadChip Scan Configuration (תצורת סריקת BeadChip).
- 3 כדי לציין מיקום תיקיית DMAP שימש כברירת מחדל, בחר Browse (עיון) ונווט אל מיקום התיקייה המועדף ברשת של המתקן שלך.
 - הערה 

לפני כל סריקה, הורד והעתק את התוכן של DMAP למיקום זה. התוכן של DMAP נדרש עבור כל BeadChip והוא ייחודי לכל ברקוד של BeadChip.

- 4 כדי לציין מיקום פלט שישמש כברירת מחדל, בחר **Browse** (עיון) ונווט אל המיקום המועדף ברשת של המתקן שלך.
- 5 בחר תבנית קובץ תמונה עבור התמונות הנשמרות. סוג התמונה שמוגדר כברירת מחדל הוא **JPG**.
- 6 בחר תבנית קובץ פלט לסריקת נתונים. סוג קובץ הפלט שנקבע כברירת מחדל הוא **GTC only** (GTC בלבד).
- 7 בחר **Save** (שמור).
- 8 במסך **Scan Map** (מפת סריקה), ציין את הנתיב המלא לקובץ המניפסט ולקובץ האשכול עבור כל סוג **BeadChip**. בחר **Browse** (עיון) עבור כל סוג קובץ ונווט למיקום בתיקייה שבו כלולים קבצים אלה.
- 9 **[אופציונלי]** בחר **Hide Obsolete BeadChips** (הסתר שבבי BeadChip ישנים) כדי להסיר מהתצוגה שבבי **BeadChip** ישנים.
- 10 בחר **Save** (שמור).

נספח B ניתוח בזמן אמת

49.....	סקירה של ניתוח בזמן אמת
50.....	זרימת עבודה של ניתוח בזמן אמת

סקירה של ניתוח בזמן אמת

המכשיר NextSeq 550Dx משתמש בתוכנה להטמעת ניתוח בזמן אמת (RTA) המכונה RTA2. RTA2 פועלת במחשב של המכשיר ומחלצת עוצמות מתוך תמונות, מבצעת קישור בין בסיסים ומקצה ציון איכות לקישור בין בסיסים. RTA2 ותוכנת הבקרה מנהלים ביניהם תקשורת באמצעות ממשק HTTP אינטרנטי וקובצי זיכרון משותפים. אם RTA2 מופסק, העיבוד לא מתחדש ונתוני ההפעלה לא נשמרים.



הערה
ביצועי הפילוג לא מחושבים. לפיכך, הכרטיסייה Index (אינדקס) ב- Sequencing Analysis Viewer (SAV) אינה מאוכלסת.

קלט של RTA2

RTA2 מצריך את הקלט הבא לצורך עיבוד:

- ◀ תמונות אריחים הכלולות בזיכרון המערכת המקומי.
 - ◀ RunInfo.xml, אשר מופק אוטומטית בתחילת ההפעלה ומספק את שם ההפעלה, מספר המחזורים, אם לקריאה מסוימת יש אינדקס ומספר האריחים בתא הזרימה.
 - ◀ RTA.exe.config, שהוא קובץ תצורת תוכנה בתבנית XML.
- RTA2 מקבל מתוכנת הבקרה פקודות על המיקום של RunInfo.xml ומידע עם צוינה תיקיית פלט אופציונלית.

קובצי פלט של RTA v2

התמונות לכל אחד מהערוצים מועברות בזיכרון כאריחים. אריחים הם אזורי הדמיה קטנים בתא הזרימה אשר מוגדרים כשדה הראייה של המצלמה. מתמונות אלו, התוכנה יוצרת פלט בתור סדרה של קובצי קישור בין בסיסים וקובצי סינון בעלי ציון איכות מסוים. כל שאר הקבצים תומכים בקובצי פלט.

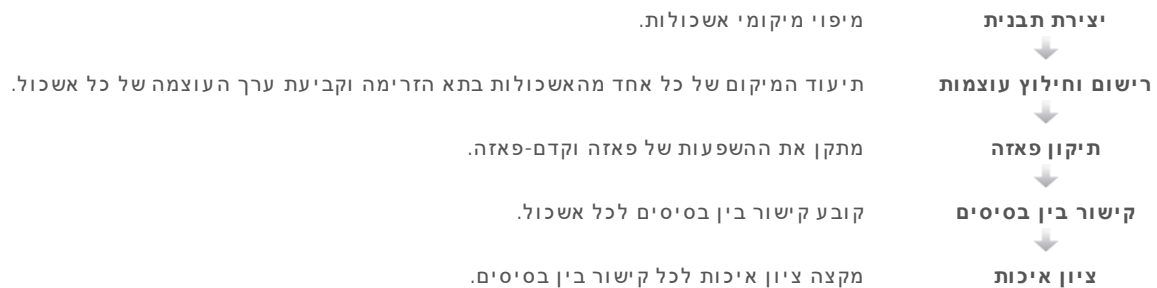
סוג קובץ	תיאור
קובצי קישור בין בסיסים	כל אחד מהאריחים המנותחים נכלל בקובץ קישור בין בסיסים מקובץ (*.bcl.bgzf) לכל מסלול ולכל מחזור. קובץ הקישור בין בסיסים המקובץ כולל את הקישור בין בסיסים ואת ציון האיכות המשוך לכל אשכול באותו מסלול.
קובצי סינון	כל אחד מהאריחים מייצר פרטי מסנן אשר מקובצים לקובץ מסנן אחד (*.filter). עבור כל מסלול. קובץ המסנן מציין אם אשכול מסוים עובר דרך מסננים.
קובצי מיקום של אשכולות	קובצי מיקום של אשכולות (*.locs) מכילים את קואורדינטות ה-X וה-Y עבור כל אשכול באריח. קובץ מיקום של אשכול מופק עבור כל אחד מהמסלולים במהלך יצירת תבנית.
קובצי אינדקס של קישור בין בסיסים	קובץ אינדקס קישור בין בסיסים (*.bci) מופק עבור כל אחד מהמסלולים כדי לשמור על פרטי האריח המקורי. קובץ האינדקס מכיל צמד ערכים לכל אריח, שהם מספר האריח ומספר האשכולות של אותו אריח.

קובצי הפלט משמשים לניתוח בהמשך התהליך ב-BaseSpace. לחלופין, השתמש בתוכנת ההמרה bcl2fastq להמרת FASTQ ופתרונות ניתוח של צד שלישי. קובצי NextSeq 550Dx מצריכים את bcl2fastq v2.0 או גרסה חדשה יותר. לקבלת הגרסה החדשה ביותר של bcl2fastq בקר [בדף ההורדות של NextSeq 550Dx](#) באתר האינטרנט של Illumina. RTA v2 מספק מדדים בזמן אמת על איכות ההפעלה, שמאוחסנים כקובצי InterOp. קובצי InterOp הם פלט בינארי המכיל מדדי אריח, מחזור ומדדים ברמת קריאה ונדרשים להצגת מדדים בזמן אמת באמצעות Sequencing Analysis Viewer (SAV). לקבלת הגרסה החדשה ביותר של SAV בקר [בדף ההורדות של SAV](#) באתר האינטרנט של Illumina.

טיפול בשגיאות

- RTA2 יוצר קובצי יומן וכותב אותם בתיקייה RTALogs. השגיאות נרשמות בקובץ שגיאות בתבנית הקובץ *.tsv.
 היומן הבא וקובצי השגיאות מועברים אל יעד הפלט הסופי בסוף העיבוד:
- ◀ *.tsv GlobalLog* מסכם אירועים חשובים בהפעלה.
 - ◀ *.tsv Error* מפרט שגיאות שאירעו במהלך הפעלה.
 - ◀ *.tsv WarningLog* מפרט אזהרות שאירעו במהלך הפעלה.

זרימת עבודה של ניתוח בזמן אמת



יצירת תבנית

השלב הראשון בזרימת העבודה של RTA הוא יצירת תבנית, אשר מגדירה את המיקום של כל אחד מהאשכולות באריח באמצעות קואורדינטות X ו-Y.
 יצירת התבנית מצריכה נתוני תמונה מ-5 המחזורים הראשונים של הפעלה. אחרי שנוצרה תמונה של מחזור התבנית האחרון של אריח, התבנית נוצרת.



הערה
 כדי לזהות אשכול במהלך יצירת תבנית חייב להיות לפחות בסיס אחד שאינו G ב-5 המחזורים הראשונים. עבור כל רצפי האינדקס, RTA v2 מצריכה לפחות בסיס 1 שאינו G ב-2 המחזורים הראשונים.
 התבנית משמשת כנקודת ייחוס עבור השלב הבא של הרישום וחילוץ העוצמות. מיקומי האשכולות עבור תא הזרימה כולו נכתבים בקובצי מיקום האשכולות (*.locs), קובץ 1 לכל מסלול.

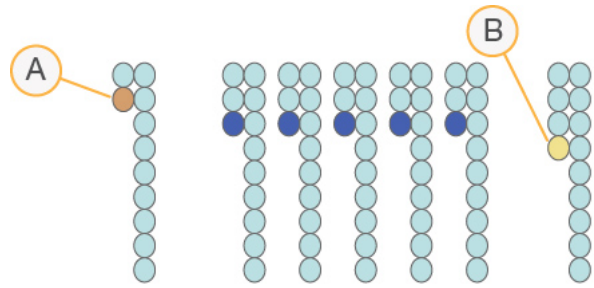
רישום וחילוץ עוצמות

- הרישום וחילוץ העוצמות מתחילים לאחר יצירת התבנית.
- ◀ הרישום מיישר את ההדמיות שנוצרו בכל מחזור עוקב של הדמיה ביחס לתבנית.
 - ◀ חילוץ העוצמות קובע ערך עוצמה לכל אשכול בתבנית עבור הדמיה נתונה.
- אם הרישום של הדמיות כלשהן במחזור נכשל, לא נוצרות קריאות לבסיסים עבור אותו אריח במחזור זה. השתמש בתוכנה Sequencing Analysis Viewer (SAV) כדי לבדוק תמונות ממוזערות ולזהות תמונות שרישומן נכשל.

תיקון פאזה

- במהלך תגובת הריצוף, כל גדיל DNA באשכול מתארך בבסיס אחד לכל מחזור. פאזה וקדם-פאזה מתרחשות כאשר גדיל יוצא מחוץ לפאזה של מחזור האיגוד הנוכחי.
- ◀ פאזה מתרחשת כאשר הבסיס מעוכב.
 - ◀ קדם-פאזה מתרחשת כאשר הבסיס מקדים.

איור 29 פאזה וקדם-פאזה



A קריאה עם בסיס שיוצר פאזה
B קריאה עם בסיס שיוצר קדם-פאזה

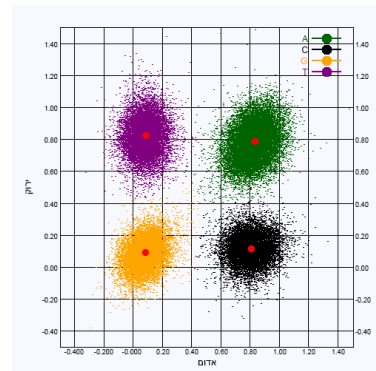
RTA2 מתקן את השפעות הפאזה והקדם-פאזה, ובכך ממקסם את איכות הנתונים בכל מחזור לאורך ההפעלה.

קישור בין בסיסים

קישור בין בסיסים קובע בסיס (A, C, G או T) לכל אשכול או אריח נתון במחזור ספציפי. המכשיר NextSeq 550Dx משתמש בריצוף עם 2 ערוצים, אשר מצריך רק 2 תמונות לצורך קידוד הנתונים עבור 4 בסיסי DNA – אחד מהערוץ האדום ואחד מהערוץ הירוק.

העוצמות אשר מחולצות מתמונה אחת ומשוות לתמונה אחרת יוצרות ארבע אוכלוסיות מובחנות, שכל אחת מהן תואמת לנוקלאוטיד. תהליך הקישור בין בסיסים קובע לאיזו אוכלוסייה שייך כל אשכול.

איור 30 המחשה חזותית של עוצמות אשכולות



טבלה 1 קישורים בין בסיסים בריצוף עם 2 ערוצים

בסיס	ערוץ אדום	ערוץ ירוק	תוצאה
A	1 (מופעל)	1 (מופעל)	אשכולות שמציגים את העוצמה בערוצים האדום והירוק.
C	1 (מופעל)	0 (כבוי)	אשכולות שמציגים את העוצמה בערוץ האדום בלבד.
G	0 (כבוי)	0 (כבוי)	אשכולות שאינם מציגים עוצמה במיקום אשכול ידוע.
T	0 (כבוי)	1 (מופעל)	אשכולות שמציגים את העוצמה בערוץ הירוק בלבד.

מסנן העברת אשכולות

במהלך ההפעלה, RTA2 מסנן נתונים גולמיים כדי להסיר קריאות שאינן עומדות בסף של איכות הנתונים. אשכולות חופפים ואשכולות באיכות נמוכה מוסרים.

עבור ניתוח דו-ערוצי, RTA2 משתמש במערכת מבוססת-אוכלוסיה כדי לקבוע את מידת הטוהר של קישור לבסיס. אשכולות עוברים את המסנן (PF) כאשר מידת הטוהר של קישור לבסיס אחד לכל היותר, ב-25 המחזורים הראשונים, היא > 0.63 . באשכולות שאינם עוברים את המסנן אין קישור לבסיס.

שיקולי יצירת אינדקס

התהליך לקישור בין בסיסים של קריאות אינדקס שונה מקישור בין בסיסים במהלך קריאות אחרות. קריאות האינדקס חייבות להתחיל עם לפחות בסיס 1 שאינו G באחת משני המחזורים הראשונים. אם קריאת אינדקס מתחילה משני קישורים בין בסיסים של G, לא תופק עוצמת אות כלשהי. חייב להימצא אות באחד משני המחזורים הראשונים כדי להבטיח ביצועי פילוג.

כדי להגביר את חסינות הפילוג, בחר רצפי אינדקס שמספקים אות לפחות בערוץ 1, ועדיף בשניהם, עבור כל מחזור. הקפדה על הנחיה זו תמנע שילובי אינדקס שיובילו לבסיסי G בלבד בכל מחזור.

◀ ערוץ אדום – A או C

◀ ערוץ ירוק – A או T

תהליך קישור בין בסיסים זה מבטיח דיוק כאשר מנתחים דגימות בריבוב שדרים נמוך.

ציון איכות

ציון איכות, או ציון Q, הוא תחזית של ההסתברות לקישור לא נכון בין בסיסים. ציון Q גבוה יותר פירושו קישור בין בסיסים באיכות גבוהה יותר, עם הסתברות גבוהה יותר לכך שיהיה תקין.

ציון ה-Q הוא דרך קומפקטית להעביר מסר על הסתברויות קטנות לשגיאות. ציוני האיכות מיוצגים כ-Q(X), כאשר X הוא הציון. הטבלה הבאה מציגה את הקשר בין ציון האיכות וההסתברות לשגיאה.

ציון Q	Q(X)	הסתברות לשגיאה
Q40	0.0001	(1 מתוך 10,000)
Q30	0.001	(1 מתוך 1,000)
Q20	0.01	(1 מתוך 100)
Q10	0.1	(1 מתוך 10)

הערה



ציון האיכות מבוסס על גרסה מתוקנת של אלגוריתם Phred.

ציון האיכות מחשב סדרה של גורמי חיזוי עבור כל קישור בין בסיסים, ולאחר מכן משתמש בערכי החיזוי כדי לחפש את ציון ה-Q בטבלת איכות. טבלאות האיכות נוצרות כדי לספק חיזויי איכות בדיוק אופטימלי עבור הפעלות הנוצרות באמצעות תצורה ספציפית של פלטפורמת ריצוף וגרסת כימיה.

אחרי שנקבע ציון ה-Q, התוצאות נרשמות בקובצי ה-base call (*). (bcl.bgzf.*).

נספח C קבצים ותיקיות פלט

53..... קובצי פלט של ריצוף

55..... מבנה תיקיית פלט של ריצוף

56..... קובצי פלט של סריקה

57..... מבנה תיקיית פלט של סריקה

קובצי פלט של ריצוף

סוג קובץ	תיאור, מיקום ושם הקובץ
קובצי קישור בין בסיסים	כל אריח מנותח נכלל בקובץ קישור בין בסיסים שנצבר בקובץ אחד עבור מסלול וכל מחזור. הקובץ הצובר מכיל את הקישור בין בסיסים ואת ציון האיכות המקודד עבור כל אשכול באותו מסלול. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] - הקבצים מאוחסנים בתיקייה אחת עבור כל מסלול. [Cycle].bcl.bgzf, כאשר [Cycle] מייצג את מספר המחזור ב-4 ספרות. קובצי קישור בין בסיסים דחוסים בשיטת דחיסה כגוש gzip.
קובץ אינדקס של קישור בין בסיסים	עבור כל מסלול, קובץ אינדקס בינארי מפרט את המידע על האריח המקורי בצמד ערכים עבור כל אריח, שהם מספר האריח ומספר האשכולות עבור האריח. קובצי האינדקס של הקישור בין בסיסים נוצרים בפעם הראשונה שנוצר קובץ קישור בין בסיסים עבור מסלול זה. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] - הקבצים מאוחסנים בתיקייה אחת עבור כל מסלול. s_[Lane].bci
קובצי מיקום של אשכולות	עבור כל אריח, קואורדינטות ה-X וה-Y של כל אשכול מקובצות בקובץ מיקום אשכול 1 לכל אחד מהמסלולים. קובצי מיקום אשכולות נוצרים בעקבות יצירת תבנית. Data\Intensities\L00[X] - הקבצים מאוחסנים בתיקייה אחת עבור כל מסלול. s_[lane].locs
קובצי סינון	קובץ המסנן מציין אם אשכול מסוים עבר דרך מסננים. פרטי המסנן מקובצים בקובץ מסנן 1 עבור כל מסלול וקריאה. קובצי הסינון נוצרים במחזור 26 באמצעות 25 מחזורי נתונים. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] - הקבצים מאוחסנים בתיקייה אחת עבור כל מסלול. s_[lane].filter
קובצי InterOp	קובצי דיווח בינאריים נמצאים בשימוש ב-InterOp Sequencing Analysis Viewer (SAV). קובצי ה-InterOp מתעדכנים במהלך ההפעלה. תיקיית InterOp
קובץ קביעת תצורה של RTA	קובץ קביעת התצורה של RTA, שנוצר בתחילת ההפעלה, מפרט את ההגדרות של ההפעלה. [Root folder], RTAConfiguration.xml
קובץ פרטי הפעלה	מפרט את שם ההפעלה, מספר המחזורים בכל קריאה, אם לקריאה יש אינדקס ומה מספר הענפים והאריחים בתא הזרימה. קובץ פרטי ההפעלה נוצר בתחילת ההפעלה. [Root folder], RunInfo.xml

אריחי תא הזרימה

אריחים הם אזורי הדמיה קטנים בתא הזרימה אשר מוגדרים כשדה הראייה של המצלמה. מספר האריחים הכולל תלוי במספר המסלולים, הענפים והמשטחים שהדמיה שלהם מבוצעת על תא הזרימה ובאופן שבו המצלמות פועלות יחדיו כדי לאסוף את ההדמיות. לתאי זרימה בלי תפוקה גבוהה יש 864 בסך הכל.

טבלה 2 אריחי תא הזרימה

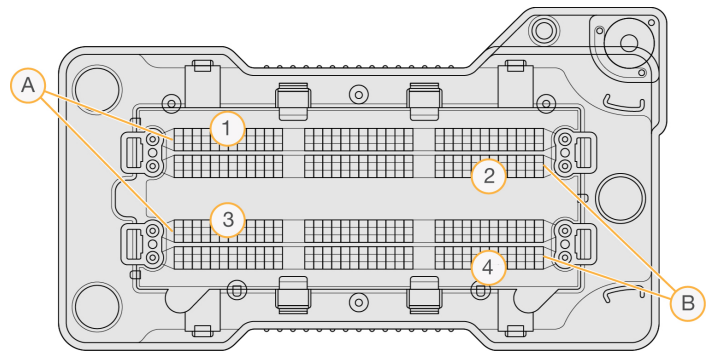
רכיב תא הזרימה	תפוקה גבוהה	תיאור
מסלולים	4	מסלול הוא ערוץ פיזי עם יציאות קלט ופלט ייעודיות.
משטחים	2	הדמיית תא הזרימה מבוצעת בשני משטחים, העליון והתחתון. מתבצעת הדמיה של המשטח העליון של אריח 1, אחר כך מתבצעת הדמיה של המשטח התחתון של אותו אריח ורק לאחר מכן עוברים לאריח הבא.

רכיב תא הזרימה	תפוקה גבוהה	תיאור
ענפים בכל מסלול	3	ענף הוא עמודה של אריחים במסלול.
מקטעי מצלמה	3	המכשיר משתמש ב-6 מצלמות כדי לבצע הדמיה של תא הזרימה ב-3 מקטעים עבור כל מסלול.
אריחים בענף לכל מקטע מצלמה	12	אריח הוא האזור בתא הזרימה שהמצלמה רואה כתמונה 1.
סה"כ אריחים שמבוצעת להם הדמיה	864	המספר הכולל של אריחים שווה למכפלת המסלולים × המשטחים × הענפים × מקטעי המצלמה × אריחים לכל ענף לכל מקטע.

מספור מסלולים

למסלולים 1 ו-3, המכונים צמד מסלולים A, מתבצעת הדמיה בו-זמנית. למסלולים 2 ו-4, המכונים צמד מסלולים B, מתבצעת הדמיה כאשר ההדמיה של צמד מסלולים A מסתיימת.

איור 31 מספור מסלולים

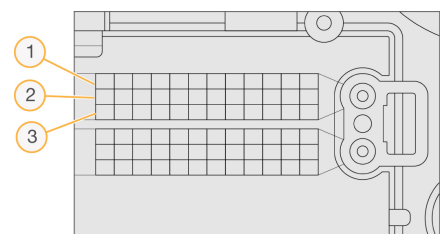


A צמד מסלולים A – מסלולים 1 ו-3
B צמד מסלולים B – מסלולים 2 ו-4

מספור ענפים

ההדמיה של כל אחד מהמסלולים מבוצעת ב-3 ענפים. הענפים ממוספרים מ-1 עד 3 לתאי זרימה בעלי תפוקה גבוהה.

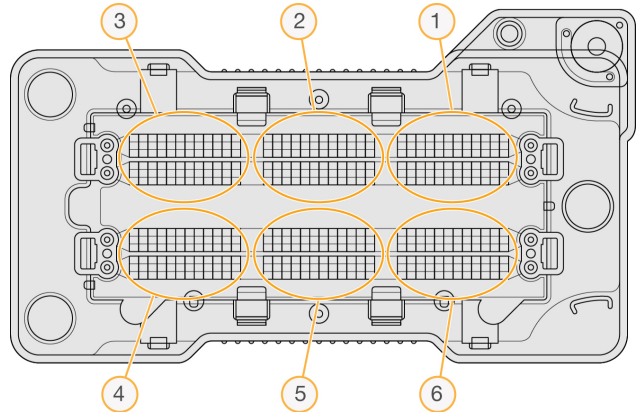
איור 32 מספור ענפים



מספור מצלמה

המכשיר NextSeq 550Dx משתמש ב-6 מצלמות להדמיית תא הזרימה. המצלמות ממוספרות מ-1 עד 6. מצלמות 1 עד 3 יוצרות הדמיה של מסלול 1. מצלמות 4 עד 6 יוצרות הדמיה של מסלול 3. אחרי שמבוצעת הדמיה של מסלולים 1 ו-3, מודול ההדמיה נע על ציר ה-X כדי ליצור הדמיה של מסלולים 2 ו-4.

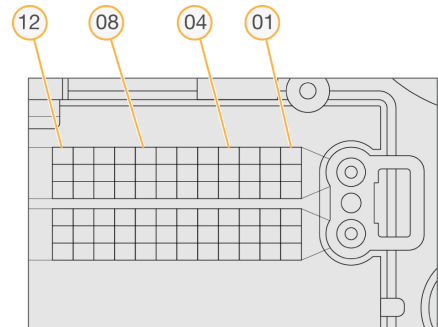
איור 33 מספור מצלמה ומספור מקטע (מוצגת זרימה בעל תפוקה גבוהה)



מספור אריחים

בכל ענף של מקטע המצלמה יש 12 אריחים. האריחים ממוספים מ-01 עד 12, ללא תלות במספר הענף או במקטע המצלמה ומיוצגים ב-2 ספרות.

איור 34 מספור אריחים



מספר האריח השלם כולל 5 ספרות כדי לייצג את המיקום, באופן הבא:

- ◀ Surface (משטח) – 1 מייצג את המשטח העליון; 2 מייצג את המשטח התחתון
- ◀ Swath (ענף) – 1, 2, או 3
- ◀ Camera (מצלמה) – 1, 2, 3, 4, 5, או 6
- ◀ Tile (אריח) – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11, או 12

דוגמה: אריח מספר 12508 מציין משטח עליון, ענף 2, מצלמה 5 ואריח 8.

מספר האריח השלם, המורכב מ-5 ספרות, נמצא בשימוש בשם הקובץ של תמונות ממוזערות וקובצי פאזה ניסיונית. לקבלת מידע נוסף, ראה **קובצי פלט של ריצוף בעמוד 53**.

מבנה תיקיית פלט של ריצוף

תוכנת הבקרה יוצרת את שם תיקיית הפלט באופן אוטומטי.

Data 📁

Intensities 📁

BaseCalls 📁


















L001 📁 – קובצי קישור בין בסיסים עבור מסלול 1, מקובצים בקובץ 1 לכל מחזור.

- L002 – קובצי קישור בין בסיסים עבור מסלול 2, מקובצים בקובץ 1 לכל מחזור.
- L003 – קובצי קישור בין בסיסים עבור מסלול 3, מקובצים בקובץ 1 לכל מחזור.
- L004 – קובצי קישור בין בסיסים עבור מסלול 4, מקובצים בקובץ 1 לכל מחזור.
- L001 – קובץ locs*. מקובץ עבור מסלול 1.
- L002 – קובץ locs*. מקובץ עבור מסלול 2.
- L003 – קובץ locs*. מקובץ עבור מסלול 3.
- L004 – קובץ locs*. מקובץ עבור מסלול 4.
- Images
- Focus
- L001 – הדמיות מיקוד למסלול 1.
- L002 – הדמיות מיקוד למסלול 2.
- L003 – הדמיות מיקוד למסלול 3.
- L004 – הדמיות מיקוד למסלול 4.
- InterOp – קבצים בינאריים בשימוש Sequencing Analysis Viewer (SAV).
- Logs – קובצי יומן המתארים שלבים תפעוליים.
- Recipe – קובץ מתכון ספציפי להפעלה ששמו נקבע לפי מזהה מחסנית המגיב.
- RTALogs – קובצי יומן המתארים שלבי ניתוח.
- RTAConfiguration.txt
- RunInfo.xml
- RunNotes.xml
- RunParameters.xml

קובצי פלט של סריקה

סוג קובץ	תיאור, מיקום ושם הקובץ
קובצי GTC	קובץ קביעת גנוטיפ. קובץ GTC נוצר עבור כל דגימה שנסרקה ב-BeadChip. שם הקובץ כולל את הברקוד והדגימה שנסרקה. [barcode]_[sample].gtc
קובצי תמונה	<p>השמות של קובצי תמונה ניתנים בהתאם לאזור שנסרק ב-BeadChip. השם כולל את הברקוד, הדגימה והמקטע ב-BeadChip, הענף וערוץ ההדמיה (אדום או ירוק).</p> <p>[barcode]_[sample]_[section]_[swath]_[camera]_[tile]_[channel].jpg</p> <ul style="list-style-type: none"> • Barcode – שם הקובץ מתחיל בברקוד של ה-BeadChip. • Sample – אזור ב-BeadChip, אשר ממוספר כשורה (ROX), מלמעלה למטה ועמודה (COX) משמאל לימין. • Section – שורה ממוספרת בתוך הדגימה. • Swath – התמונה של שבבי ה-BeadChip מורכבת מאוסף של אריחים חופפים. לפיכך, רק ענף 1 משמש לצורך הדמיית המקטע. • Camera – המצלמה שבה נעשה שימוש לאיסוף התמונה. • Tile – אזור הדמיה אשר מוגדר כשדה הראייה של המצלמה. • Channel – ערוץ יכול להיות אדום או ירוק.

מבנה תיקיית פלט של סריקה

- [Date]_[Instrument Name]_[Scan#]_[Barcode] 
- [Barcode] 
- Config 
- Effective.cfg  – מתעד את הגדרות התצורה שבהן נעשה שימוש במהלך הסריקה.
- Focus  – מכיל את קובצי התמונה שבהם נעשה שימוש למיקוד הסריקה.
- Logs  – מכיל את קובצי היומן שמפרטים כל אחד מהשלבים שבוצעו במהלך הסריקה.
- PreScanDiagnosticFiles 
- [Date_Time] של סריקת ברקוד 
- ProcessedBarcode.jpg  – תמונת ברקוד של BeadChip.
-  אבחון סריקה (קובצי יומן)
- PreScanChecks.csv  – מתעד את תוצאות הבדיקה האוטומטית.
- קובצי GTC – קובצי קביעת גנוטיפ (קובץ 1 לכל דגימה). 
- קובצי IDAT – [אופציונלי] קובצי נתוני עוצמה (2 קבצים לכל דגימה; 1 לכל ערוץ). 
- קובצי תמונה – סריקת תמונות לכל דגימה, מקטע, ענף, מצלמה, אריח וערוץ. 
- [Barcode]_sample_metrics.csv 
- [Barcode]_section_metrics.csv 
- ScanParameters.xml 

B

- 46, 1 BaseSpace
- 16 התחברות
- 23 סמלי העברה
- BeadChip
- 28 טעינה
- 27 כיוון ברקוד
- 44 כשל ברישום
- לא ניתן לקרוא את הברקוד 44
- 27, 5 מתאם
- 1 ניתוח
- 1 סוגים

D

- 25 Decode File Client
- 27 גישה באמצעות BeadChip
- גישה באמצעות חשבון 26

L

- 53 locs

R

- RTA2
- טיפול בשגיאות 50
- 23 run copy service
- 53, 39 RunInfo.xml

W

- Windows
- יצאה 37

א

- אורך קריאה 14-13
- אלגוריתם Phred 52
- אפשרות טעינה מתקדמת 11
- אתחול מחדש
- מכשיר 36
- אתחול מחדש למצב מחקר 10

ב

- בדיקה לפני הפעלה 29, 22

ה

- הגדרות מערכת 10
- הגדרות תצורה 45
- הגדרת הפעלה, אפשרות מתקדמת 11
- הדמיה, ריצוף דו-ערוצי 51
- הדרכה מקוונת 1
- הודעת שגיאה של RAID 45
- הנחיות בנוגע למים בדרגת-מעבדה 12
- הסתברות לשגיאה 52
- העברת נתונים
- 23 run copy service
- 23 universal copy service
- 23 סמלי פעילות
- 30 סריקת נתונים
- 36 הפעלה מחדש
- הצלבה חוזרת של תחל 42
- הצלבה חוזרת, קריאה 1 42
- השלכת חומרים מתכלים 11
- התראות מצב 4

ז

- זרימת עבודה
- 28 BeadChip
- אפשרות טעינה מתקדמת 11
- בדיקה לפני הפעלה 29, 22
- הכנת תא זרימה 15
- התחברות אל BaseSpace 16
- מגיבים שנוצלו 17
- מדדי הפעלה 22
- מחסנית בופר 19
- מחסנית מגיב 19
- מצב BaseSpace 20
- מצב עצמאי 21
- משך הפעלה 14-13
- סודיום היפוכלורית 32
- סקירה כללית 26, 14
- ריצוף 50
- שיקולי יצירת אינדקס 52
- תא זרימה 16
- זרימת עבודה של ריצוף 50

ח

- חומרים מתכים
- חומרים מתכלים לשיטה 31

הפעלה 9
 הפעלה מחדש 36
 כיבוי 36-37
 כינוי 10
 לחצן הפעלה 4
 מחווני מצב 10
 מסנן אוויר 3, 34
 מסנן טוהר 51
 מסנן מעבר (PF) 51
 מסנן מעבר אשכולות 51
 מספור אריחים 55
 מספור מסלולים 54
 מספור מצלמה 54
 מספור ענפים 54
 מעקב RFID 5
 מצב RUO 10
 מקלדת 10
 משך הפעלה 13-14
 מתאם
 טעינת BeadChip 28
 כיוון BeadChip 27
 סקירה כללית 5
 מתג הפעלה 9

נ

ניהול המכשיר
 כיבוי 37
 ניהול מכשיר
 כיבוי 37
 ניתוח
 קובצי פלט 53
 ניתוח, ראשוני
 טוהר אות 51

ו

סודיום היפוכלוריד, שטיפה 32
 סיוע טכני 63
 סמלים
 מצב 4
 שגיאות ואזהרות 4

ע

עוצמות 51
 עזרה
 תיעוד 1
 עזרה, טכנית 63

חומרים מתכלים 5
 הפעלות ריצוף 11
 חומרים מתכלים לשטיפה 32
 מחסנית בופר 8
 מחסנית מגיב 7
 מים בדרגת-מעבדה 12
 תא זרימה 6
 תחזוקת מכשיר 11
 חומרים מתכלים המסופקים על-ידי המשתמש 11

ז

יצירת אשכולות 13, 23
 יצירת תבנית 50

ח

כיבוי המכשיר 37

ט

לחצן הפעלה 4, 9

י

מבצע עדכון תוכנה 35
 מגיבים
 בערכות 5
 סילוק מתאים 19
 מגיבים שנוצלו
 מכל מלא 41
 סילוק 17, 33
 מדדי הפעלה 22
 מדדים
 מחזורי בהירות 23
 מחזורי צפיפות אשכול 23
 קישור בין בסיסים 51
 מחזורים בקריאה 13
 מחסנית בופר 8, 19
 מחסנית מגיב
 מכל 28, 32
 סקירה כללית 7
 מיקום אשכול
 יצירת תבנית 50
 קבצים 53
 מיקום תיקייה 21
 מכשיר
 אוטאר 10
 אתחול 36
 הגדרות תצורה 45

פ

- פאזה ניסיונית 50
- פאזה, קדם-פאזה 50
- פורמאמיד, מיקום 6 20
- פרמטרי הפעלה
- מצב BaseSpace 20
- מצב עצמאי 21
- עריכת פרמטרים 20
- פתרון בעיות

אפשרויות יצירת קשר 39

בדיקה לפני הפעלה 40

החלפת קובצי מניפסט ואשכול 45

כשל ברישום סריקה 44

לא ניתן לקרוא את הברקוד של BeadChip 44

מדדי איכות נמוכה 42

מכל אגירת מגיבים שנוצלו 41

קבצים ספציפיים להפעלה 39

קבצים ספציפיים לסריקה 40

צ

ציוני Q 52

צמדי מסלולים 54

ק

קובצי GTC 56

קובצי InterOp, 39, 53

קובצי יומן

50 GlobalLog

50 LaneNLog

קובצי מסנן 53

קובצי פלט 53

קובצי פלט של סריקה

56 IDAT, GTC

קובצי פלט, סריקה

56 IDAT, GTC

קובצי מניפסט 45

קובצי פלט, ריצוף 53

קובצי קישור בין בסיסים 53

קובצי קלט, סריקה

קובצי אשכול 25, 45

קובצי מניפסט 25

תיקיית DMAP 25

תיקיית DMAP, הורד 26

קישור בין בסיסים 51

שיקולי יצירת אינדקס 52

ר

ריצוף

חומרים מתכלים המסופקים על-ידי

המשתמש 11

מבוא 13

רכיבים

שורת מצב 2

תא הדמיה 2-3

תא מגיב 2

ש

שגיאות בבדיקה לפני הפעלה 40

שגיאות ואזהרות 4

בקובצי פלט 50

שובת מצב 2

שטיפה

באופן אוטומטי 24

חומרים מתכלים המסופקים על-ידי

המשתמש 31

רכיבי שטיפה 31

שטיפה ידנית 31

שטיפה לאחר הפעלה 24

שטיפת מכשיר 31

שיקולי יצירת אינדקס 52

שירות הניטור Illumina Proactive 46

שם משתמש במערכת וסיסמה 9

שם משתמש וסיסמה 9

שמע 10

ת

תא הדמיה 2-3

תא זרימה

אריזה 15

אריחים 53

הדמיה 54

הצלבה חוזרת 42

מספור אריחים 55

מספור מסלולים 54

מספר ענף 54

ניקוי 15

סוגים 1

סקירה כללית 6

פיני יישור 16

צמדי מסלולים 6

תא מגיב 2

תאימות

מעקב RFID 5, 7

תא זרימה, מחסנית מגיב 5
תוכנה
אתחול 9
במכשיר 3
הגדרות תצורה 45
משך הפעלה 13-14
ניתוח תמונה, קישור בין בסיסים 3
עדכון אוטומטי 36
עדכון ידני 36
תוכנית ניתוח בזמן אמת
פאזה 50
תוכנת BlueFuse Multi 1
תוכנת בקרה 3
תוכנת ניתוח בזמן אמת 1, 3
זרימת עבודה 50
תוצאות 53
תחזוקה מונעת 31
תחזוקה, מונעת 31
תחזוקת המכשיר
חומרים מתכלים 11
תיעוד 1, 63
תיקיית DMAP
25 Decode File Client
הורדה 26
תמיכה בלקוחות 63
תצורה 46
תצורה עצמאית 21
תצורת BaseSpace 20

סיוע טכני

לקבלת סיוע טכני פנה לתמיכה הטכנית של Illumina.

www.illumina.com
techsupport@illumina.com

אתר אינטרנט:
 דואר אלקטרוני:

מספרי טלפון של התמיכה הטכנית של Illumina

אזור	מספר שיחת חינם	אזורי
אמריקה הצפונית	+1.800.809.4566	
אוסטריה	+43 800006249	+43 19286540
אוסטרליה	+1.800.775.688	
איטליה	+39 800985513	+39 236003759
אירלנד	+353 1800936608	+353 016950506
בלגיה	+32 80077160	+32 34002973
בריטניה	+44 8000126019	+44 2073057197
גרמניה	+49 8001014940	+49 8938035677
דנמרק	+45 80820183	+45 89871156
הולנד	+31 8000222493	+31 207132960
הונג קונג	800.960.230	
טיוואן	00.806.651.752	
יפן	0800.111.5011	
נורבגיה	+47 800 16836	+47 21939693
ניו זילנד	0800.451.650	
סין	400.066.5835	
סינגפור	+1.800.579.2745	
ספרד	+34 911899417	+34 800300143
פינלנד	+358 800918363	+358 974790110
צרפת	+33 805102193	+33 170770446
שבדיה	+46 850619671	+46 200883979
שווייץ	+41 565800000	+41 800200442
ארצות אחרות	+44.1799.534000	

גיליונות בטיחות (SDS) – זמינים באתר האינטרנט של Illumina בכתובת support.illumina.com/sds.html.
תיעוד מוצר – זמין להורדה בפורמט PDF מאתר האינטרנט של Illumina. עבור אל support.illumina.com, בחר מוצר, ולאחר מכן בחר באפשרות Documentation & Literature (תיעוד וספרות).



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (מחוץ לאמריקה הצפונית)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com