

NextSeq 550Dx – kutatási mód

készülék referencia-kézikönyve



A jelen dokumentum és annak tartalma az Illumina, Inc. és annak leányvállalatai („Illumina”) tulajdonát képezi, és kizárólag a jelen dokumentumban ismertetett termék(ek) szerződés szerű működtetéséhez használható. Egyéb célokra nem használható. A dokumentum és annak tartalma az Illumina előzetes írásos engedélye nélkül ettől eltérő célokra nem használható és forgalmazható, továbbá semmilyen formában nem kommunikálható, hozható nyilvánosságra vagy reprodukálható. Az Illumina a jelen dokumentummal nem biztosít licencet a termék vásárlójának a harmadik felek szabadalmi, védjegyjogi, szerzői jogi, szokásjogi vagy egyéb oltalom alatt álló jogosultságaihoz.

A jelen dokumentumban szereplő utasításokat a kvalifikált és megfelelően képzett személyzetnek szigorúan be kell tartania az itt ismertetett termék(ek) megfelelő és biztonságos használata érdekében. A termék(ek) használata előtt a felhasználó köteles átolvasni és értelmezni a jelen dokumentumban leírtakat.

AZ ITT SZEREPLŐ INFORMÁCIÓK ELOLVASÁSÁNAK VAGY AZ UTASÍTÁSOK BETARTÁSÁNAK ELMULASZTÁSA ESETÉN A TERMÉK(EK) MEGSÉRÜLHETNEK, ILLETVE SZEMÉLYI SÉRÜLÉS KÖVETKEZHET BE, IDEÉRTVE A FELHASZNÁLÓKAT ÉS MÁSOKAT IS, ILLETVE EGYÉB ANYAGI KÁROK KÖVETKEZHETNEK BE. EZENFELÜL ILYEN ESETEKBEN A TERMÉK(EK)RE VONATKOZÓ GARANCIA ÉRVÉNYÉT VESZTI.

AZ ILLUMINA SEMMIFÉLE FELELŐSSÉGET NEM VÁLLAL AZ ITT BEMUTATOTT TERMÉK(EK) HELYTELEN HASZNÁLATÁBÓL FAKADÓ KÁROKÉRT (AZ ALKATRÉSZEKET ÉS A SZOFTVERT IS IDEÉRTVE).

© 2018 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva.

Minden védjegy az Illumina, Inc. tulajdonát képezi. A védjegyekkel kapcsolatos információkat lásd a www.illumina.com/company/legal.html oldalon.

Módosítási előzmények

Dokumentum	Dátum	Módosítások leírása
1000000041922 sz. dokumentum v01	2018. március	A rendszerbeállítások testreszabása című rész kiegészítése az Illumina proaktív monitorozási szolgáltatásról szóló további információkkal
1000000041922 sz. dokumentum v00	2017. november	Első kiadás.

Tartalomjegyzék

1. fejezet: Áttekintés	1
Néhány szó a jelen útmutatóról	1
Bevezetés	1
További információforrások	2
A készülék részei	3
Szekvenálási fogyóeszközök – áttekintés	6
2. fejezet: Első lépések	10
A készülék elindítása	10
A rendszerbeállítások testreszabása	11
A felhasználó által beszerzett fogyóeszközök és berendezések	12
3. fejezet: Szekvenálás	14
Bevezetés	14
Szekvenálási munkafolyamat	15
A reagenskazetta előkészítése	15
Az áramlási cella előkészítése	16
A könyvtárak előkészítése a szekvenáláshoz	16
Szekvenálási futtatás beállítása	17
A futtatás állapotának nyomon követése	24
Automatikus futtatás utáni mosás	25
4. fejezet: Leolvasás	27
Bevezetés	27
Leolvasási munkafolyamat	28
A DMAP mappa letöltése	28
A BeadChip behelyezése az adapterbe	29
Leolvasás beállítása	30
A leolvasás állapotának nyomon követése	32
5. fejezet: Karbantartás	34
Bevezetés	34
Manuális mosás elvégzése	34
A levegőszűrő cseréje	37
Szoftverfrissítések	38
Újraindítási és leállítási lehetőségek	40
A. függelék: Hibaelhárítás	41
Bevezetés	41
Hibaelhárítási fájlok	41
Az automatikus ellenőrzési hibák elhárítása	42
A használt reagensok tárolója megtelt	44
Rehibridizálási munkafolyamat	44

A BeadChip és a leolvasás hibái	46
Egyéni receptek és receptmappák	48
RAID-hibaüzenet	48
A rendszerbeállítások konfigurálása	48
B. függelék: Valós idejű elemzés	52
A valós idejű elemzés áttekintése	52
A valós idejű elemzés munkafolyamata	53
C. függelék: Kimeneti fájlok és mappák	57
Szekvenálási kimeneti fájlok	57
A szekvenálási kimeneti mappa szerkezete	60
Leolvasási kimeneti fájlok	61
A leolvasási kimeneti mappa szerkezete	61
Tárgymutató	62
Műszaki támogatás	66

1. fejezet: Áttekintés

Néhány szó a jelen útmutatóról	1
Bevezetés	1
További információforrások	2
A készülék részei	3
Szekvenálási fogyóeszközök – áttekintés	6

Néhány szó a jelen útmutatóról

Ez a referencia-útmutató a NextSeq 550Dx készülék kutatási (RUO) módban való használatára vonatkozó utasításokat tartalmazza.

Bevezetés

Az Illumina® NextSeq™ 550Dx készülék egyetlen megoldás, amely észrevétlen átmenetet nyújt a nagy teljesítményű szekvenálás és a DNS-chip-leolvasás között.

Szekvenálási funkciók

- ▶ **Nagy teljesítményű szekvenálás** – A NextSeq™ 550 készülék lehetővé teszi exomok, teljes genomok és transzkriptomok szekvenálását, és támogatja a TruSeq™ és Nextera™ könyvtárakat.
- ▶ **Áramlási cella típusok** – Nagy teljesítményű és közepes teljesítményű kialakítású áramlási cellák kaphatók. Minden áramlási cella kompatibilis, előre töltött reagenskazettát tartalmazó készletben kapható.
- ▶ **Valós idejű elemzés (RTA)** – A készüléken futó integrált elemzési szoftver végzi az adatok elemzését, amely képelemzésből és a bázisazonosításból áll. A NextSeq 550Dx készülék az RTA szoftver implementációját, a RTA v2-t használja, amely fontos felépítési és funkcionális különbségeket tartalmaz. További információkért lásd: *Valós idejű elemzés, 52. oldal*.
- ▶ **BaseSpace®-integráció** – A szekvenálási munkafolyamat integrálva van az Illumina rendszer BaseSpace genomikai számítási környezetébe, amelyben az adatok elemzése, a tárolás és a közös munka történik. A BaseSpace rendszerrel való működésre beállított készülékek esetén a könyvtáradatok és a futtatási paraméterek meghatározása a BaseSpace Prep (BaseSpace előkészítése) lapon történik. A BaseSpace rendszerrel beállított futtatások megjelennek a készülék felületén a futtatás beállítása során. A futtatás előrehaladtával rendszer a kimenő adatokat tartalmazó fájlokat valós időben közvetíti a BaseSpace vagy a BaseSpace Onsite felé elemzés céljából.

Chipleolvasási funkciók

- ▶ **A vezérlőszoftverbe integrált DNS-chip-leolvasás** – A NextSeq 550Dx készüléken ugyanazzal a vezérlőszoftverrel lehetséges DNS-chip-leolvasás és nagy teljesítményű szekvenálás.
- ▶ **Bővített képleolvasási funkció** – A NextSeq 550Dx készülék képalkotási rendszere a szoftver és az emelvény olyan módosításait tartalmazza, amelyek lehetővé teszik nagyobb felület leképezését, ezzel lehetővé téve a BeadChip leolvasását.
- ▶ **BeadChip-típusok** – Kompatibilis BeadChip-típusok: CytoSNP-12, CytoSNP-850K és Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip-adapter** – Az újrahasználható BeadChip-adapter lehetővé teszi a BeadChip egyszerű behelyezését a készülékbe.
- ▶ **Adatelemzés** – A DNS-chip adatainak elemzése a BlueFuse® Multi szoftverrel történik.

További információforrások

A következő dokumentumok letölthetők az Illumina weboldaláról.

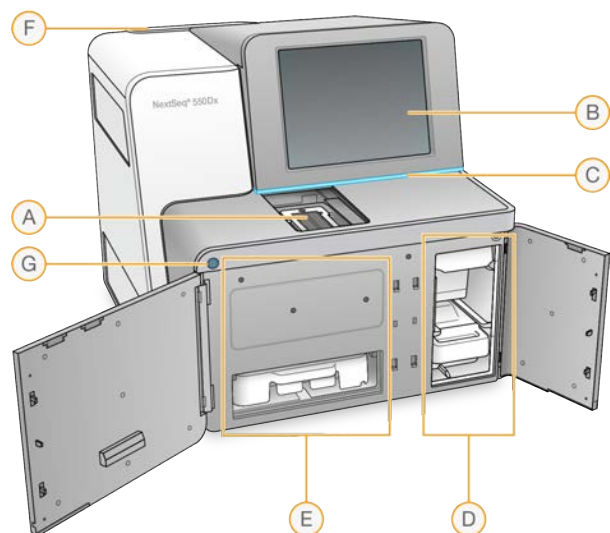
Információforrás	Leírás
<i>NextSeq 550Dx referencia-útmutató (dokumentumszám: 1000000009513)</i>	A készülék diagnosztikai módban történő működtetési utasításait és hibaelhárítási eljárásait tartalmazza.
<i>NextSeq 550Dx készülék helyszíni előkészítési útmutató (dokumentumszám: 1000000009869)</i>	Specifikációkkal szolgál a laboratóriumi hely, az elektromos követelmények, valamint a környezeti szempontok tekintetében.
<i>A NextSeq 550Dx készülék biztonsági és megfelelési útmutatója (dokumentumszám: 1000000009868)</i>	Információval szolgál a készülék biztonságos üzemeltetésére, a megfeleléségi nyilatkozatokra és a műszer címkéire vonatkozóan.
<i>RFID-olvasó megfeleléségi útmutatója (1000000030332 sz. dokumentum)</i>	Információkat tartalmaz a készülékben található RFID-olvasóról, a megfeleléségi tanúsítványokról és a biztonsági megfontolásokról.
<i>Denaturáló- és hígítókönyvtárak a NextSeq rendszerhez (dokumentumszám: 15048776)</i>	Az előkészített könyvtárak szekvenálási futtatáshoz való denaturálására és hígítására vonatkozó utasításokat és az opcionális PhiX-kontroll előkészítését ismerteti. Ez a lépés a legtöbb könyvtártípusra érvényes.
<i>A NextSeq egyéni primerek útmutatója (dokumentumszám: 15057456)</i>	Az Illumina szekvenálási primerek helyett alkalmazott egyéni primerek használatával kapcsolatos információkat tartalmazza.
<i>BaseSpace súgó (help.basespace.illumina.com)</i>	A BaseSpace® és a rendelkezésre álló elemzési lehetőségek használatával kapcsolatos információkat tartalmazza.

A dokumentációk eléréséhez, szoftverek letöltéséhez, online képzésekhez és a gyakran ismételt kérdések megtekintéséhez látogasson el a [NextSeq 550Dx készülék támogatási oldalára](#).

A készülék részei

A NextSeq 550Dx készülék egy érintőképernyős monitort, egy állapotjelző sávot és 4 rekeszt tartalmaz.

1. ábra: A készülék részei



- A **Képkalkotási rekesz** – Az áramlási cellát tartja szekvenálás során vagy a BeadChip-adaptert leolvasás során.
- B **Érintőképernyős monitor** – A készülék konfigurálását és beállítását teszi lehetővé a vezérlőszoftver kezelőfelületén.
- C **Állapotjelző sáv** – A rendszer állapotát jelzi: feldolgozás folyamatban (kék), figyelmet igényel (narancssárga), illetve szekvenálásra készen áll (zöld).
- D **Pufferrekesz** – Ez tartalmazza a pufferkazettát és a használt reagensek tárolóját.
- E **Reagensrekesz** – Ez tartalmazza a reagenskazettát.
- F **Levegőszűrő rekesze** – Ez tartalmazza a levegőszűrőt. A szűrőhöz a készülék hátulja felől lehet hozzáférni.
- G **Bekapcsológomb** – A készülék és a számítógép be- és kikapcsolására szolgál.

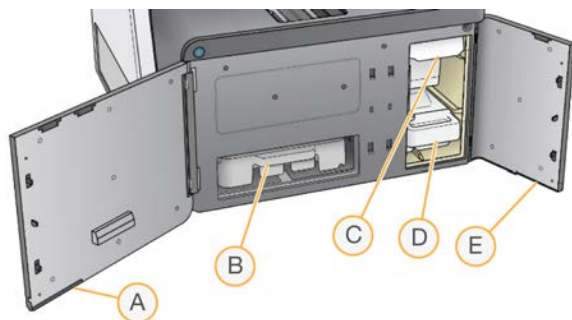
Képkalkotási rekesz

A képkalkotási rekesz egy emelvényt tartalmaz, amelyen három illesztőtüske található az áramlási cella elhelyezésére szekvenálás céljára, illetve a BeadChip-adapter elhelyezésére leolvasás céljára. Az áramlási cella vagy a BeadChip-adapter behelyezése után a képkalkotási rekesz ajtaja automatikusan bezáródik, és a készülék a helyükre mozgatja az alkatrészeket.

A reagens- és a pufferrekesz

A NextSeq 550Dx készüléken végzett szekvenálási futtatás előkészítéséhez hozzá kell férni a reagensrekeszhez és a pufferrekeszhez a futtatáshoz való fogyóeszközök betöltése és a használt reagens tárolójának kiürítése céljából.

2. ábra: A reagens- és a pufferrekesz



- A **Reagensrekesz ajtaja** – A reagensrekeszt zárja le az ajtó jobb alsó részén található retesz segítségével. A reagensrekesz tartalmazza a reagenskazettát.
- B **Reagenskazetta** – A reagenskazetta előre megtöltött, egyszer használatos fogyóeszköz.
- C **Pufferkazetta** – A pufferkazetta előre megtöltött, egyszer használatos fogyóeszköz.
- D **Elhasznált reagens tárolója** – Minden futtatás után ki kell üríteni az összegyűjtött használt reagenset.
- E **Pufferrekesz ajtaja** – A pufferrekeszt zárja le az ajtó bal alsó sarkában található retesz segítségével.

A levegőszűrő rekesze

A műszer hátulján található a levegőszűrő rekesze, amely a levegőszűrőt tartja. A levegőszűrőt 90 naponként cserélni kell. A szűrő cseréjével kapcsolatos információkért tekintse meg [A levegőszűrő cseréje](#), 37. oldal.






NextSeq 550Dx szoftver

A készülék szoftvere beépített alkalmazásokat tartalmaz, amelyek szekvenálási futtatásokra és DNS-chipek leolvasására szolgálnak.

- ▶ **NextSeq Control Software (NCS) vezérlőszoftver** – A vezérlőszoftver végigvezeti a felhasználót a szekvenálási futtatás vagy a DNS-chip-leolvasás beállítási lépésein.
- ▶ **Valós idejű elemzési (RTA) szoftver** – A szekvenálási futtatások esetén az RTA képelemzést és bázisazonosítást végez a futtatás közben. A NextSeq 550Dx készülék az RTA v2-t használja, amely a korábbi verziókhoz képest fontos felépítési és funkcionális különbségeket tartalmaz. További információkért lásd: [Valós idejű elemzés](#), 52. oldal.

Állapotjelző ikonok

A kezelőfelület jobb felső sarkában található állapotjelző ikon jelzi az állapot változásait a futtatás beállítása vagy végrehajtása során.

Állapotjelző ikon	Állapot neve	Leírás
	Állapot OK	A rendszer normálisan működik.
	Feldolgozás	A rendszer feldolgozást végez.
	Figyelmeztetés	Figyelmeztetés történt. A figyelmeztetések hatására a futtatás nem áll le; és nem kell nyugtázni a továbblépéshez.
	Hiba	Hiba történt. A hibák beavatkozást igényelnek; megoldásukig a futtatást nem lehet folytatni.
	Szerviz szükséges	Figyelmet igénylő értesítés történt. A további információkat lásd az üzenetben.

Ha az állapot változása történik, az ikon villogással figyelmezteti a felhasználót. Az állapot leírásához válassza az ikont. Válassza az **Acknowledge** (Nyugtázás) lehetőséget az üzenet nyugtázásához és a **Close** (Bezárás) lehetőséget a párbeszédpanel bezárásához.

MEGJEGYZÉS

Az üzenet nyugtázása visszaállítja az ikont, és az üzenet szürkén jelenik meg. A felhasználó továbbra is megtekintheti az üzenetet az ikon választásával, de az üzenet eltűnik az NCS újraindítása után.

Bekapcsológomb

A NextSeq 550Dx készülék elején található bekapcsológomb a készülék és a számítógép bekapcsolására szolgál. A bekapcsológomb a készülék bekapcsolási állapotától függően az alábbi funkciókat végzi. Alapértelmezésként a NextSeq 550Dx készülék diagnosztikai módban indul.

A készülék leállításával kapcsolatos információkért tekintse meg *A készülék leállítása*, 40. oldal.

Bekapcsolási állapot	Funkció
A készülék ki van kapcsolva.	Röviden nyomja meg a gombot a készülék bekapcsolásához.
A készülék be van kapcsolva.	Röviden nyomja meg a gombot a készülék kikapcsolásához. A képernyőn megjelenik egy párbeszédpanel a készülék normális leállításának megerősítésére.
A készülék be van kapcsolva.	A készülék és a készülék számítógépe hardveres újraindításához tartsa lenyomva a bekapcsológombot 10 másodpercig. Csak akkor használja ezt a módszert a készülék kikapcsolására, ha készülék nem válaszol.

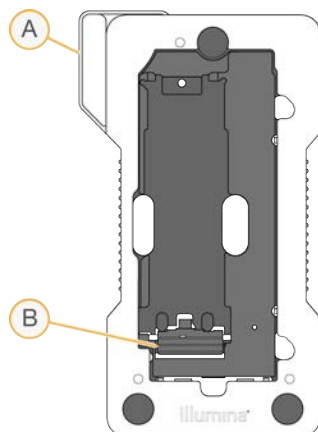
MEGJEGYZÉS

A készülék szekvenálási futtatás közben történő kikapcsolása azonnal leállítja a futtatást. A futtatás leállítása végleges hatályú. A futtatáshoz használt fogyóeszközök nem használhatók újra, és a szekvenálási adatok nem tárolódnak.

Újrahasználható BeadChip-adapter – áttekintés

Az újrahasználható BeadChip-adapter tartja a BeadChipet a leolvasás során. A BeadChipet az adapter mélyedésébe kell rögzíteni a rögzítőkapoccsal. Ezután a BeadChip-adaptert a képkotási rekeszben található emelvényre kell helyezni.

3. ábra: Újrahasználható BeadChip-adapter



- A BeadChip-adapter
- B Rögzítőkapocs

Szekvenálási fogyóeszközök – áttekintés

A NextSeq 550Dx készüléken kutatási módban végzett szekvenálási futtatáshoz egyszer használatos NextSeq 500/550 Kit vagy NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit készlet szükséges. Minden készlet egy áramlási cellát és a szekvenálási futtatáshoz szükséges reagenseket tartalmazza.

Az áramlási cella, a reagenskazetta és a pufferkazetta rádiófrekvenciás azonosítót (RFID) tartalmaz a fogyóeszközök pontos követése és kompatibilitása érdekében.



MEGJEGYZÉS



A szekvenálásra szolgáló fogyóeszközöket tartsa a dobozukban, amíg készen nem áll a használatukra.

Ha a NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit készletet kutatási futtatásra használja, minden használt összetevőnek ugyanabból a készletteléből kell származnia. A NextSeq 500/550 Kit készlet nem használható diagnosztikai módban végzett futtatásra.

A készletek kompatibilitását jelző feliratok

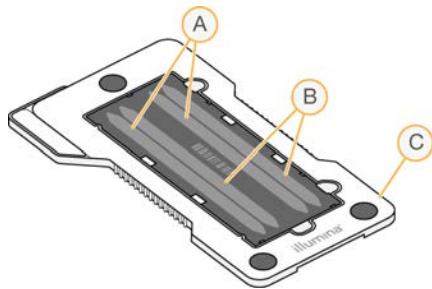
A készletek összetevői színekkel jelzésekkel vannak ellátva, amelyek az áramlási cellák és a reagenskazetták közötti kompatibilitást jelzik. Mindig egymással kompatibilis reagenskazettát és áramlási cellát használjon. A pufferkazetta minden összetevővel használható.

Minden áramlási cella és reagenskazetta a **High** (Magas) vagy a **Mid** (Közepes) felirattal van ellátva. A futtatáshoz való összetevők előkészítésekor mindig ellenőrizze a feliratot.

Készlet típusa	Címkén található jelzés
High Output (Nagy teljesítményű) készlet összetevői	
Mid Output (Közepes teljesítményű) készlet összetevői	

Áramlási cella – áttekintés

4. ábra: Áramlási cella kazettája



- A A sorpár: 1. és 3. sor
- B B sorpár: 2. és 4. sor
- C Áramlási cella kazettájának kerete

Az áramlási cella üvegből készült; ezen történik a klaszterek képződése és a szekvenálási reakció. Az áramlási cella az áramlási cella kazettájában található.

Az áramlási cella 4 sort tartalmaz, amelyekről páronként készülnek felvételek.

- ▶ Az 1. és a 3. sorról (A sorpár) egyszerre készül felvétel.
- ▶ A 2. és a 4. sorról (B sorpár) az A sorpár befejezése után készül felvétel.

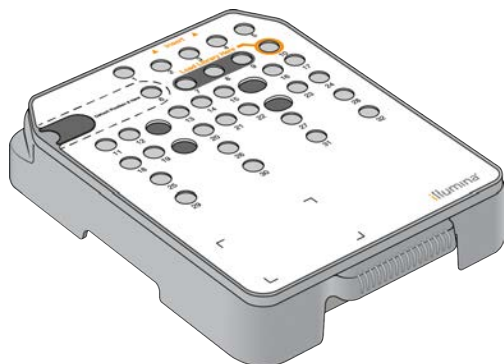
Az áramlási cella 4 sorpárt tartalmaz, azonban csak egyetlen könyvtárat vagy egyetlen könyvtárkeveréket lehet rajta szekvenálni. A könyvtárak egy tartályból kerülnek betöltésre a reagenskazettába, majd a készülék automatikusan átviszi ezeket az áramlási cellába, mind a 4 sorra.

Mindegyik sorban csempének nevezett kis képfelvételi területenként történik a képkalkotás. További információkért tekintse meg [Az áramlási cella csempéi](#), 57. oldal.

Reagenskazetta – áttekintés

A reagenskazetta egyszer használatos, RFID-azonosítóval ellátott fogyóeszköz, amely klaszterképzési és szekvenálási reagensekkel előre megtöltött, fóliával lezárt tárolókat tartalmaz.

5. ábra: A reagenskazetta



A reagenskazetta tartalmaz egy, az előkészített könyvtárak betöltésére kijelölt tárolót. A futtatás megkezdése után a készülék automatikusan átviszi a könyvtárakat a tárolóból az áramlási cellába.

Több tartály az automatikus futtatás utáni mosásra van fenntartva. A készülék a mosóoldatot a pufferkazettából a fenntartott tárolókba, majd a rendszeren át szivattyúzza, végül pedig a használt reagensek tárolójába.

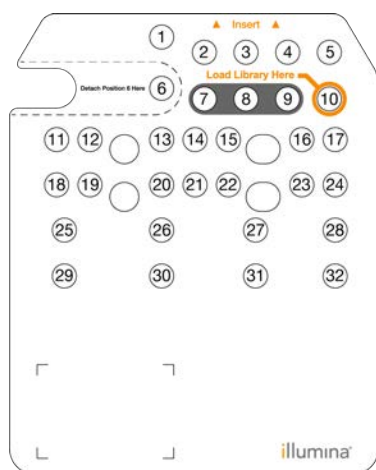


FIGYELMEZTETÉS

Ezek a reagensek potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaznak. Belélegzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa. További környezetvédelmi, egészségügyi és biztonsági információkért tekintse meg a következő címen elérhető biztonsági adatlapot: support.illumina.com/sds.html.

Fenntartott tárolók

6. ábra: Számozott tárolók



Pozíció	Leírás
7, 8 és 9	Az opcionális egyéni primerek számára fenntartva
10	A könyvtárak betöltése

Az egyéni primerekkel kapcsolatos információért lásd a *NextSeq egyéni primerek útmutatóját* (dokumentumszám: 15057456).

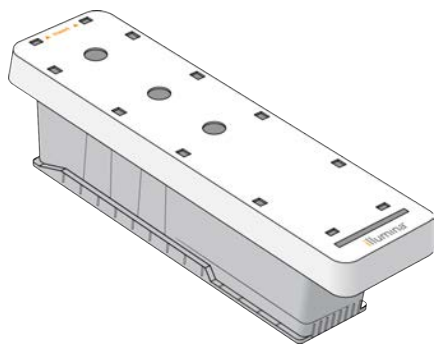
A 6-os pozíciójú eltávolítható tároló

Az előre töltött reagenskazetta 6-os pozíciójában denaturáló reagens található, amely formamidot tartalmaz. A fel nem használt reagens szekvenálás utáni biztonságos ártalmatlanításának megkönnyítése érdekében a 6-os pozíciójú tároló kivehető. További információkért tekintse meg *A 6-os pozíciójú használt tároló eltávolítása*, 21. oldal.

Pufferkazetta – áttekintés

A pufferkazetta egyszer használatos fogyóeszköz, amely három, pufferekkel és mosóoldattal előre megtöltött tárolót tartalmaz. A pufferkazetta tartalma egy áramlási cella szekvenálására elegendő.

7. ábra: A pufferkazetta



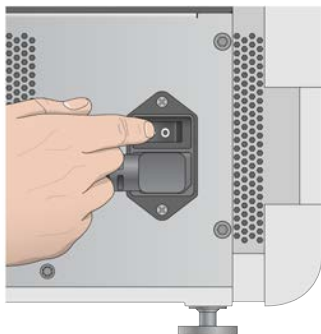
2. fejezet: Első lépések

A készülék elindítása	10
A rendszerbeállítások testreszabása	11
A felhasználó által beszerzett fogyóeszközök és berendezések	12

A készülék elindítása

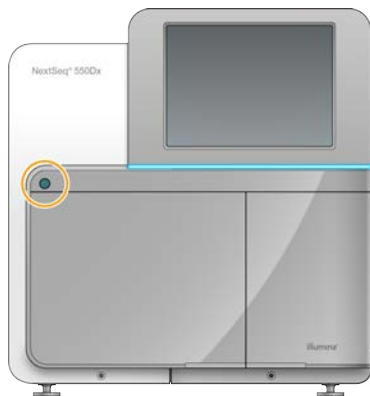
Kapcsolja a tápkapcsolót az I (bekapcsolt) helyzetbe.

8. ábra: Tápkapcsoló a készülék hátulján



- 1 Nyomja meg a reagensrekesz fölötti bekapcsológombot. A bekapcsológomb megnyomása bekapcsolja a készüléket, és elindítja a készülék integrált számítógépét és szoftverét. Alapértelmezésként a készülék diagnosztikai módban indul.

9. ábra: Bekapcsoló gomb a készülék elején



- 2 Várja meg, amíg az operációs rendszer betöltődik.
Elindul a NextSeq 550Dx Operating Software (NOS) kezelőszoftver, és automatikusan inicializálja a rendszert. Az inicializálási lépés befejeződése után megnyílik a Home (Kezdő) képernyő.
- 3 Írja be a Local Run Manager felhasználónevét és jelszavát.
A Local Run Manager-jelszóval kapcsolatos információkat lásd: *NextSeq 550Dx referencia-útmutató (dokumentumszám: 1000000009513)*.
- 4 Válassza a **Login** (Bejelentkezés) lehetőséget.
Megnyílik a Home (Kezdő) képernyő a Sequence (Szekvenálás), a Local Run Manager, a Manage Instrument (Készülék kezelése) és a Perform Wash (Mosás elvégzése) ikonokkal.

- 5 A készülék biztonságos leállításához és kutatási módban való újraindításához használja az NOS-ben a Reboot to RUO (Újraindítás kutatási módban) parancsot.
 - ▶ Válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése) lehetőséget.
 - ▶ Válassza a **Reboot / Shut Down** (Újraindítás/leállítás) lehetőséget.
 - ▶ Válassza a **Reboot to RUO** (Újraindítás RUO módban) lehetőséget.
- 6 Várja meg, amíg az operációs rendszer betöltődik.
Elindul az NCS, és automatikusan inicializálja a rendszert. Az inicializálási lépés befejeződése után megnyílik a Home (Kezdő) képernyő.
- 7 Ha a rendszer úgy van beállítva, hogy kérje a bejelentkezési adatokat, jelentkezzen be a Windowsba az intézményi felhasználónevével és jelszavával.



MEGJEGYZÉS

Ha nem biztos abban, hogy a készülék milyen módban van, lásd *A készülék üzemmódjának kijelzése*.

A készülék üzemmódjának kijelzése

A következő táblázat tartalmazza az NCS vagy NOS képernyőjén a készülék üzemmódját jelző elemeket. A kutatási módból a diagnosztikai módba való váltásról szóló további információkat lásd: *Újraindítási és leállítási lehetőségek*, 40. oldal.

Mód	Kezdőképernyő felirata	Színes sáv	Állapotjelző ikon iránya
Diagnosztikai mód	Welcome to NextSeqDx (Üdvözljük a NextSeqDx rendszeren)	Kék	Vízszintes
Kutatási mód	Welcome to NextSeq (Üdvözljük a NextSeq rendszeren)	Narancsszínű	Függőleges

A rendszerbeállítások testreszabása

A vezérlőszoftver testreszabható beállításokat kínál a következőkhöz.

- ▶ Bemeneti preferenciák
- ▶ Hangbeállítások
- ▶ A készülék neve
- ▶ Futtatásbeállítási preferenciák
- ▶ Fel nem használt reagensek kiürítése

A készülék avatarjának és becenevének beállítása

- 1 A Manage Instrument (Készülék kezelése) képernyőn válassza ki a **System Customization** (Rendszer testreszabása) lehetőséget.
- 2 A készülék avatar képének kijelöléséhez válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és keresse meg a képet.
- 3 Adjon meg a készüléknek egy nevet a Nick Name (Becenév) mezőben.
- 4 A beállítások mentéséhez és a képernyő bezárásához válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.
A kép és a név minden képernyő bal felső sarkában megjelenik.

A képernyő-billentyűzet és a hangjelzések beállítása

- 1 A Manage Instrument (Készülék kezelése) képernyőn válassza ki a **System Customization** (Rendszer testreszabása) lehetőséget.
- 2 A képernyő-billentyűzet aktiválásához jelölje be a **Use on-screen keyboard** (Képernyő-billentyűzet használata) jelölőnégyzetet.
- 3 Az alábbi események esetén hangjelzés lejátszásához jelölje be a **Play audio** (Hang lejátszása) jelölőnégyzetet.
 - ▶ A készülék inicializálása
 - ▶ Futtatás indítása
 - ▶ Bizonyos hibák fellépése
 - ▶ Ha felhasználói beavatkozás szükséges
 - ▶ Futtatás befejeződése
- 4 A beállítások mentéséhez és a képernyő bezárásához válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.

A futtatásbeállítási lehetőségek beállítása

- 1 A Manage Instrument (Készülék kezelése) képernyőn válassza ki a **System Customization** (Rendszer testreszabása) lehetőséget.
- 2 Az összes fogyóeszköz egyetlen képernyőn történő betöltésének engedélyezéséhez jelölje be a **Use Advanced Load Consumables** (Fogyóeszközök haladó betöltése) jelölőnégyzetet.
- 3 A sikeres automatikus ellenőrzés után a szekvenálás vagy leolvasás automatikus elindításához jelölje be a **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Futtatás előtti ellenőrzés megerősítésének kihagyása) jelölőnégyzetet.
- 4 A beállítások mentéséhez és a képernyő bezárásához válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.

Az automatikus kiürítési lehetőség beállítása

- 1 A Manage Instrument (Készülék kezelése) képernyőn válassza ki a **System Customization** (Rendszer testreszabása) lehetőséget.
- 2 A reagenskazettában található fel nem használt reagenseknek a használt reagensek tárolójába való automatikus ürítéséhez jelölje be a **Purge Consumables at End of Run** (Fogyóeszközök kiürítése a futtatás végén) jelölőnégyzetet.



MEGJEGYZÉS

A fogyóeszközök kiürítése automatikusan meghosszabbítja a munkafolyamat teljes időtartamát.

- 3 A beállítások mentéséhez és a képernyő bezárásához válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.

A felhasználó által beszerzett fogyóeszközök és berendezések

A fogyóeszközök előkészítéséhez, a szekvenáláshoz és a készülék karbantartásához az alábbiakban felsorolt fogyóeszközök és berendezések szükségesek.

A szekvenálási futtatáshoz használt, a felhasználó által beszerzett fogyóeszközök

Fogyóeszköz	Beszállító	Cél
1 N NaOH (nátrium-hidroxid)	Általános laboratóriumi beszállító	Könyvtár denaturálása, 0,2 N koncentrációra hígítva
200 mM Tris-HCl, pH 7	Általános laboratóriumi beszállító	Könyvtár denaturálása
70%-os izopropil-alkoholos törülközők vagy 70%-os etanol	VWR, cikkszám: 95041-714 (vagy ezzel egyenértékű) Általános laboratóriumi beszállító	Az áramlási cella tisztítása és egyéb általános feladatok
Szószesmentes laboratóriumi törülköző	VWR, cikkszám: 21905-026 (vagy ezzel egyenértékű)	Az áramlási cella tisztítása és egyéb általános feladatok

A készülék karbantartásához használt, a felhasználó által beszerzett fogyóeszközök

Fogyóeszköz	Beszállító	Cél
NaOCl, 5% (nátrium-hipoklorit)	Sigma-Aldrich, cikkszám: 239305 (vagy egyenértékű, laboratóriumi minőségű)	A készülék mosása a manuális futtatás utáni mosással; 0,12%-ra hígítva
Tween 20	Sigma-Aldrich, cikkszám: P7949	A készülék mosása a manuális mosási lehetőségek használatával; 0,05%-ra hígítva
Laboratóriumi minőségű víz	Általános laboratóriumi beszállító	A készülék mosása (manuális mosás)
Levegőszűrő	llumina, cikkszám: 20022240	A készülék által hűtés céljából beszívott levegő tisztítása

A laboratóriumi minőségű vízzel kapcsolatos útmutatás

A készülékkel kapcsolatos eljárásokhoz mindig laboratóriumi minőségű vizet vagy ionmentes vizet használjon. Soha ne használjon csapvizet. Csak a következő típusú vagy azzal egyenértékű minőségű vizet használjon:

- ▶ Ionmentes víz
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 Megaohm (M Ω) ellenállású víz
- ▶ Milli-Q víz
- ▶ Super-Q víz
- ▶ Molekuláris biológiai minőségű víz

A felhasználó által beszerzett berendezések

Elem	Forrás
Fagyasztó, -25 °C és -15 °C között, fagymentes	Általános laboratóriumi beszállító
Hűtőszekrény, 2 °C és 8 °C között	Általános laboratóriumi beszállító

3. fejezet: Szekvenálás

Bevezetés	14
Szekvenálási munkafolyamat	15
A reagenskazetta előkészítése	15
Az áramlási cella előkészítése	16
A könyvtárak előkészítése a szekvenáláshoz	16
Szekvenálási futtatás beállítása	17
A futtatás állapotának nyomon követése	24
Automatikus futtatás utáni mosás	25

Bevezetés

A NextSeq 550Dx készüléken a szekvenálási futtatáshoz készítsen elő egy reagenspatront és egy áramlási cellát, majd kövesse a szoftver utasításait a futtatás beállításához és elindításához. A klaszterek létrehozása és a szekvenálás a készüléken történik. A futtatás után automatikusan elkezdődik a készülék mosása a készülékbe már behelyezett összetevők használatával.

Klasztergenerálás

A klasztergenerálás során különálló DNS-molekulák kötődnek az áramlási cella felületéhez, majd amplifikálódnak, klasztereket létrehozva.

Szekvenálás

A klaszterek képi rögzítése kétcsatornás szekvenálási kémiai módszerrel és az egyes fluoreszcensen jelölt nukleotidokra jellemző szűrőkombinációkkal történik. Az áramlási cellán található csempék képi rögzítése egymás után történik. A rendszer minden szekvenálási ciklusnál megismétli ezt az eljárást. A képek elemzése után a szoftver bázisazonosítást, szűrést és a minőségi pontszám megállapítását végzi.

A futtatási folyamatot és a statisztikai adatokat követheti a vezérlőszoftver felületén, a BaseSpace Run (Futtatás) lapján vagy a hálózathoz csatlakoztatott számítógépen a Sequencing Analysis Viewer (SAV) szoftverrel. Lásd a *Sequencing Analysis Viewer*, 25. oldal.

Elemzés

A futtatás előrehaladtával a vezérlőszoftver automatikusan átmásolja a bázisazonosító fájlokat (*.BCL) a BaseSpace-re vagy megadott kimeneti helyre másodlagos elemzés céljára.

Az alkalmazástól függően több elemzési módszer áll rendelkezésre. További tájékoztatásért lásd a *BaseSpace-súgót* (*help.basespace.illumina.com*).

A szekvenálási futtatás időtartama

A szekvenálási futtatás időtartama az elvégzett ciklusok számától függ. A maximális hosszúság 150 ciklust tartalmazó páros végű futtatás (2 x 150) plusz 2 indexleolvasáshoz legfeljebb 8 ciklus esetén valósul meg.

Ciklusok száma egy leolvasásban

Szekvenálási futtatás esetén az egy leolvasás során elvégzett ciklusok száma 1-gyel több, mint az elemzett ciklusok száma. Például egy páros végű, 150 ciklusos futtatás során 151 ciklus (2 x 151) történik, ami összesen 302 ciklus. A futtatás végén 2 x 150 ciklus elemzése történik. A plusz egy ciklus a fázishatással és az előfázishatással kapcsolatos számításokhoz szükséges.

Szekvenálási munkafolyamat



Az Illumina BaseSpace vagy BaseSpace Onsite segítségével végzett konfigurációhoz: A futtatás beállítása a BaseSpace Prep (BaseSpace előkészítése) lapon történik. Lásd a *BaseSpace-súgót* (help.basespace.illumina.com).



Készítsen elő egy új reagenskazettát: olvassa fel, és megtekintéssel ellenőrizze.
Készítsen elő egy új áramlási cellát: melegítse szobahőmérsékletre, csomagolja ki, és megtekintéssel ellenőrizze.



Denaturálja és hígítsa a könyvtárakat. (Ez nem minden könyvtártípusra érvényes.) *Könyvtárak denaturálása és hígítása a NextSeq rendszerhez (dokumentumszám: 15048776)*



Töltse be a hígított könyvtárat a reagenskazettába a 10. tartályba.



A szoftver kezelőfelületén válassza a **Sequence** (Szekvenálás) lehetőséget a futtatás beállítási lépéseinek elkezdéséhez.



Helyezze be az áramlási cellát.



Ürítse ki a használt reagensek tárolóját, és helyezze vissza.
Helyezze be a pufferkazettát és a reagenskazettát.



Tekintse át a futtatási paramétereket és az automatikus ellenőrzés eredményeit. Válassza a **Start** (Indítás) lehetőséget.



A futtatást követheti a vezérlőszoftver felületén, a BaseSpace Run (Futtatás) lapján vagy a hálózathoz csatlakoztatott számítógépen a Sequencing Analysis Viewer szoftverrel.



A szekvenálás befejeződése után automatikusan elkezdődik a készülék mosása.

A reagenskazetta előkészítése

A sikeres szekvenálás érdekében ügyeljen a reagenskazettával kapcsolatos utasítások gondos követésére.

- 1 Vegye ki a reagenskazettát a -25 °C és -15 °C közötti tárolóból.
- 2 A reagensek felolvasztásához válassza az alábbi módszerek valamelyikét. Ne merítse folyadékba a kazettát. A kazetta felolvasztása után szárítsa meg, mielőtt a következő lépéssel folytatná.

Hőmérséklet	Felolvasztási idő	Stabilitási limit
15 és 30 °C közötti vízfürdő	60 perc	Legfeljebb 6 óra
2 °C és 8 °C között	7 óra	Legfeljebb 5 nap



MEGJEGYZÉS

Ha egy vízfürdőben több mint egy kazetta olvad fel, hosszabb olvadási idő szükséges.

- 3 Fordítsa át 5-ször a kazettát, hogy a reagensek összekeveredjenek.
- 4 Tekintse meg a kazetta alját, hogy a reagensek felolvadtak-e, és nem tartalmaznak-e csapadékot. Ellenőrizze a 29-es, 30-as, 31-es és 32-es pozíciókban lévő reagensek felolvadását, mert ezek a legnagyobbak, és ezek olvadnak fel a leglassabban.
- 5 Óvatosan üsse a kazettát az asztalhoz, hogy kevesebb légbuborék legyen benne. A legjobb eredmények biztosításához folytassa közvetlenül a minta betöltésével és a futtatás beállításával.



FIGYELMEZTETÉS

Ezek a reagensek potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaznak. Belégzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa. További környezetvédelmi, egészségügyi és biztonsági információkért tekintse meg a következő címen elérhető biztonsági adatlapot: support.illumina.com/sds.html.

Az áramlási cella előkészítése

- 1 Vegyen ki egy új áramlási cellát tartalmazó csomagot a 2–8 °C-os tárolóból.
- 2 Tegye félre az áramlási cellát tartalmazó felbontatlan csomagot 30 percig szobahőmérsékleten.



MEGJEGYZÉS

Sértetlen fóliacsomagolásban az áramlási cella szobahőmérsékleten tárolható 12 óráig. Kerülje el az áramlási cella ismételt lehűtését és felmelegítését.

A könyvtárak előkészítése a szekvenáláshoz

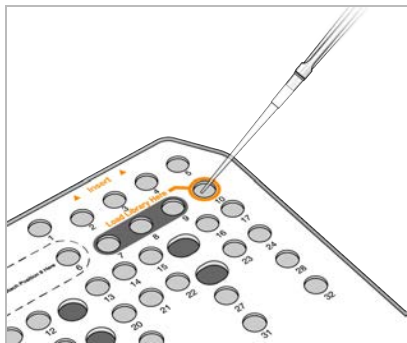
Könyvtárak denaturálása és hígítása

Denaturálja a könyvtárakat, és hígítsa 1,3 ml betöltési térfogatra és 1,8 pM betöltési koncentrációra. A gyakorlatban a betöltési koncentráció változó lehet a könyvtárak előkészítésétől és a mennyiségi meghatározási módszerektől függően. Az utasításokat lásd: *A NextSeq System könyvtárak denaturálási és hígítási útmutatója (dokumentumszám: 15048776)*.

A könyvtárak betöltése a reagenskazettába

- 1 Szőszmentes ruhával tisztítsa meg a 10-es számú, **Load Library Here** (Ide töltse be a könyvtárat) feliratú tároló zárófóliáját.
- 2 Szúrja át a zárófóliát egy tiszta 1 ml-es pipettaheggyel.
- 3 Töltsön 1,3 ml előkészített 1,8 pM könyvtárat a 10-es számú, **Load Library Here** (Ide töltse be a könyvtárat) feliratú tárolóba. A könyvtár adagolása közben ügyeljen arra, hogy ne érintse meg a zárófóliát.

10. ábra: A könyvtárak betöltése



Szekvenálási futtatás beállítása

- 1 A Home (Kezdő) képernyőn válassza az **Experiment** (Kísérlet), majd a **Sequence** (Szekvenálás) lehetőséget.
A Sequence (Szekvenálás) parancs hatására kinyílik a képkötési rekesz ajtaja, a készülék kiadja az előző futtatáshoz használt fogyóeszközöket, és megnyílik egy sor futtatásbeállítási képernyő. Ilyenkor normális egy kis késlekedés.

Ha a készülék a BaseSpace segítségével való működésre van beállítva, a rendszer felkéri a BaseSpace-be való bejelentkezésre. Ha a készülék különálló módra van beállítva, a következő lépés az áramlási cella behelyezése.

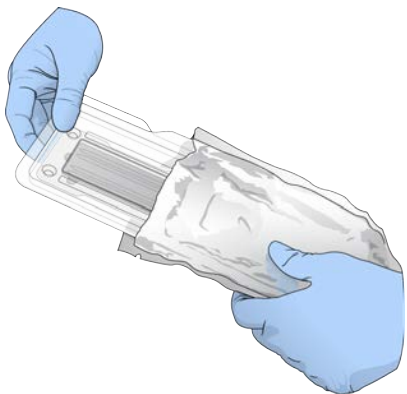
Bejelentkezés a BaseSpace szoftverbe

- 1 Adja meg BaseSpace felhasználónevét és jelszavát.
- 2 Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

Az áramlási cella behelyezése

- 1 Távolítsa el az előző futtatáshoz használt áramlási cellát.
- 2 Vegye ki az áramlási cellát a fóliacsomagolásból.

11. ábra: Eltávolítás a fóliacsomagolásból



- 3 Nyissa fel az átlátszó műanyag kagylótok csomagolást, és vegye ki belőle az áramlási cellát.

12. ábra: Eltávolítás a kagylótokból



- 4 Szőszmentes alkoholos törölkendővel tisztítsa meg az áramlási cella üvegfelületét. Törölje szárazra az üveget szőszmentes laboratóriumi törölkendővel.

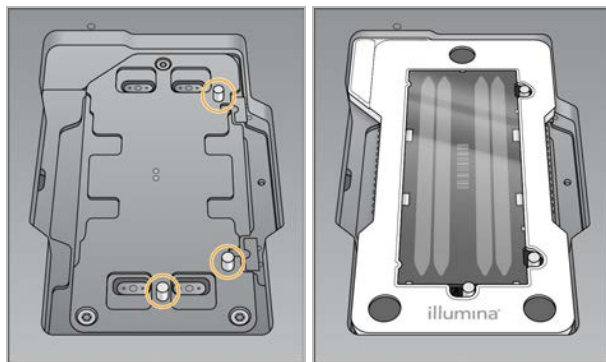


MEGJEGYZÉS

Ellenőrizze, hogy az áramlási cella üvegfelülete tiszta-e. Ha szükséges, ismételje meg a tisztítást.

- 5 Illessze az áramlási cellát az illesztőtüskékre, és helyezze az emelvényre.

13. ábra: Az áramlási cella behelyezése



- 6 Válassza a **Load** (Betöltés) lehetőséget.
Az ajtó automatikusan bezáródik, az áramlási cella azonosítója megjelenik a képernyőn, és a rendszer ellenőrzi az érzékelőket.



MEGJEGYZÉS

Az áramlási cella ajtajának záródása közben ne hagyja a kezét az ajtó útjában, mert becsípődhet.

- 7 Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A használt reagensek tárolójának kiürítése

- 1 Nyissa ki a pufferrekesz ajtaját a bal alsó sarka alatt található retesz segítségével.
- 2 Vegye ki a használt reagensek tárolóját, és ártalmatlanítsa a tartalmát a hatályos szabályoknak megfelelően.

14. ábra: A használt reagensek tárolójának eltávolítása



MEGJEGYZÉS

Miközben kihúzza a tárolót, a másik kezével alulról támassza meg.

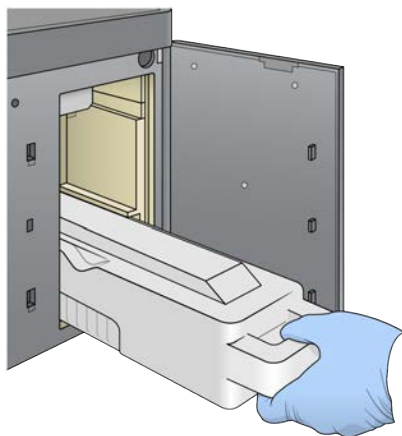


FIGYELMEZTETÉS

Ezek a reagensek potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaznak. Belégzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően **ártalmatlanítsa**. További környezetvédelmi, egészségügyi és biztonsági információkért tekintse meg a következő címen elérhető biztonsági adatlapot: support.illumina.com/sds.html.

- 3 Csúsztassa a használt reagensek tárolóját üres állapotban a pufferrekeszbe ütközésig. Kattanó hang jelzi, ha a tároló a helyére került.

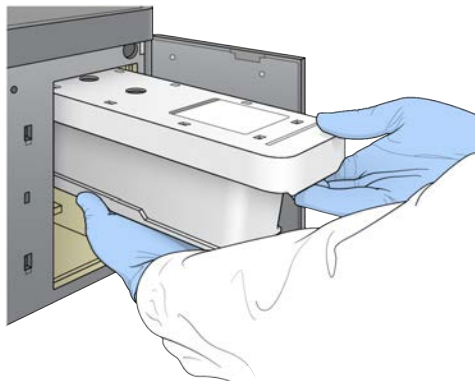
15. ábra: A használt reagensek tárolójának behelyezése üres állapotban



A pufferkazetta behelyezése

- 1 Vegye ki a használt pufferkazettát a felső rekeszből.
A pufferkazetta megemeléséhez és kihúzásához némi erőt kell kifejteni.
- 2 Csúsztassa az új pufferkazettát ütközésig a pufferrekeszbe.
Kattanó hang jelzi, hogy a kazetta a helyén van, a pufferkazetta azonosítója megjelenik a képernyőn, és a rendszer ellenőrzi az érzékelőt.

16. ábra: A pufferkazetta behelyezése



- 3 Zárja be a pufferrekesz ajtaját, és válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A reagenskazetta behelyezése

- 1 Nyissa ki a reagensrekesz ajtaját a jobb alsó sarka alatt található retesz segítségével.
- 2 Vegye ki a használt reagenskazettát a reagensrekeszből. Ártalmatlanítsa a fel nem használt összetevőket a hatályos előírásoknak megfelelően.



FIGYELMEZTETÉS

Ezek a reagensok potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaznak. Belégzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa. További környezetvédelmi, egészségügyi és biztonsági információkért tekintse meg a következő címen elérhető biztonsági adatlapot: support.illumina.com/sds.html.

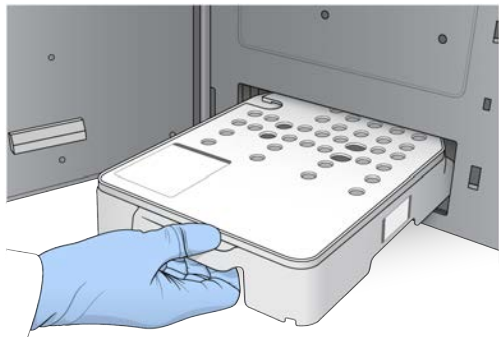


MEGJEGYZÉS

A fel nem használt reagens biztonságos ártalmatlanításának megkönnyítése érdekében a 6-os pozíciójú tároló kivethető. További információkért tekintse meg *A 6-os pozíciójú használt tároló eltávolítása*, 21. oldal.

- 3 Csúsztassa a reagenskazettát a reagensrekeszbe ütközésig, majd zárja be a reagensrekesz ajtaját.

17. ábra: A reagenskazetta behelyezése

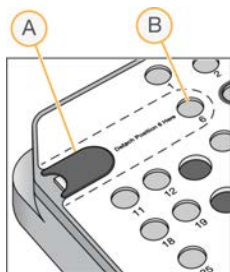


- 4 Válassza a **Load** (Betöltés) lehetőséget.
A szoftver automatikusan a helyére viszi a kazettát (ez körülbelül 30 másodpercig tart), a reagenskazetta azonosítója megjelenik a képernyőn, és a rendszer ellenőrzi az érzékelőket.
- 5 Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A 6-os pozíciójú használt tároló eltávolítása

- 1 A **használt** reagenskazettának a készülékből való eltávolítása után vegye le a 6-os pozíciójú tároló melletti nyílásról a gumi védőfedélet.

18. ábra: Az eltávolítható 6-os pozíciójú tároló



- A Gumi védőfedél
- B 6-os pozíció

- 2 Nyomja lefelé az átlátszó műanyaglemezt, és tolja balra, hogy kitolja a tárolót.
- 3 Ártalmatlanítsa a tárolót a hatályos előírásoknak megfelelően.

Futtatási paraméterek megadása

A Run Setup (Futtatás beállítása) képernyőn megjelenő lépések különböznek a rendszer konfigurációjától függően:

- ▶ **BaseSpace vagy BaseSpace Onsite** – A Run Setup (Futtatás beállítása) képernyőn a BaseSpace Prep (BaseSpace előkészítés) lapon beállított futtatások jelennek meg. Ha a kívánt futtatás nem jelenik meg a Run Setup (Futtatás beállítása) képernyőn, ellenőrizze, hogy ki van-e jelölve szekvenálásra a BaseSpace-ben.
- ▶ **Különálló** – A Run Setup (Futtatás beállítása) képernyőn a futtatási paraméterek megadására szolgáló mezők találhatóak.

Rendelkezésre álló futtatás kiválasztása (BaseSpace-konfiguráció)

- Válasszon ki egy futtatást a rendelkezésre álló futtatások listájából.
A felfelé és a lefelé mutató nyílal görgesse a listát, vagy írjon be egy futtatásnevet a Search (Keresés) mezőbe.
- Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.
- Erősítse meg a futtatási paramétereket.
 - ▶ **Run Name** (Futtatás neve) – A BaseSpace-ben a futtatáshoz rendelt név.
 - ▶ **Library ID** (Könyvtár azonosítója) – A BaseSpace-ben az összekevert könyvtárakhoz rendelt név.
 - ▶ **Recipe** (Recept) – A recept neve, vagy **NextSeq High**, vagy **NextSeq Mid**, a futtatáshoz használt reagenskazettától függően.
 - ▶ **Read Type** (Beolvasás típusa) – Single Read (Egy beolvasás) vagy a Paired End (Párosított vég).
 - ▶ **Read Length** (Beolvasás hossza) – Ciklusok száma egy leolvasásban.
 - ▶ **[Opcionális]** Custom Primers (Egyéni primerek), ha vannak.
- [Opcionális]** Válassza az **Edit** (Szerkesztés) gombot a futtatási paraméterek megváltoztatásához. Ha végzett, válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.
 - ▶ **Run parameters** (Futtatási paraméterek) – A beolvasások számának vagy a beolvasásonkénti ciklusok számának megváltoztatása.
 - ▶ **Custom primers** (Egyéni primerek) – Az egyéni primerek beállításainak módosítása. További információ: *NextSeq egyéni primerek útmutatója (dokumentumszám: 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Fogyóeszközök kiürítése ehhez a futtatáshoz) – Az aktuális futtatás után a fogyóeszközök automatikus kiürítéséhez válassza ki ezt a beállítást.
- Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A futtatási paraméterek megadása (Különálló konfiguráció)

- Adja meg a futtatás kívánt nevét.
- [Opcionális]** Adja meg a könyvtár kívánt azonosítóját.
- Válasszon leolvasási típust: **Single Read** (Egy leolvasás) vagy **Paired End** (Párosított vég).
- Írja be a szekvenálási futtatás egyes leolvasásaiban végrehajtandó ciklusok számát.
 - ▶ **Read 1** (1. leolvasás) – Adja meg a ciklusok számát, legfeljebb 151-et.
 - ▶ **Index 1** (1. index) – Adja meg az 1. index (i7) primeréhez szükséges ciklusok számát.
 - ▶ **Index 2** (2. index) – Adja meg a 2. index (i5) primeréhez szükséges ciklusok számát.
 - ▶ **Read 2** (2. leolvasás) – Adja meg a ciklusok számát, legfeljebb 151-et. Ez az érték jellemzően ugyanannyi, mint az 1. leolvasás ciklusainak száma.


A vezérlőszoftver megerősíti az Ön által megadott adatokat a következő kritériumok alapján:

 - ▶ A ciklusok teljes száma nem haladja meg a megengedett maximális ciklusszámot.
 - ▶ Az 1. leolvasás ciklusszáma több mint 5 ciklus, mert ezek a sablonlétrehozáshoz szükségesek.
 - ▶ Az indexleolvasási ciklusok száma nem több, mint az 1. leolvasás és a 2. leolvasás ciklusainak száma.
- [Opcionális]** Ha egyéni primereket használ, jelölje be a használt primerek jelölőnégyzetét. További információ: *a NextSeq egyéni primerek útmutatója (dokumentumszám: 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** (1. leolvasás) – az 1. leolvasáshoz használt egyéni primer
 - ▶ **Index 1** (1. index) – az 1. indexhez használt egyéni primer
 - ▶ **Index 2** (2. index) – a 2. indexhez használt egyéni primer
 - ▶ **Read 2** (2. leolvasás) – az 1. leolvasáshoz használt egyéni primer

- 6 **[Opcionális]** Válassza az **Advanced Settings**  (Haladó beállítások) gombot a futtatási paraméterek megváltoztatásához.
- ▶ A Recipe (Recept) legördülő listából válasszon egy receptet. Csak a kompatibilis receptek vannak felsorolva.
 - ▶ **Output folder location** (Kimeneti mappa helye) – A kimeneti mappa helyének megváltoztatása az aktuális futtatáshoz. Válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon egy hálózati helyre.
 - ▶ **Included file** (Belefoglalandó fájl) – A kimeneti mappába mentendő fájlok kiválasztása, amelyek hasznosak lehetnek, ha további elemzés szükséges. Ilyenek például a jegyzékfájlok és a mintalisták.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Fogyóeszközök kiürítése ehhez a futtatáshoz) – Az aktuális futtatás után a fogyóeszközök automatikus kiürítéséhez válassza ki ezt a beállítást.
 - ▶ **Use run monitoring for this run** (Futtatás monitorozása ehhez a futtatáshoz) – A beállítás megváltoztatásával a futtatás monitorozása a BaseSpace-ben történik.
- 7 Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A futtatás előtti ellenőrzés áttekintése

A szoftver a futtatás előtt elvégzi a rendszer automatikus ellenőrzését. Az ellenőrzés során a következő jelzések jelennek meg a képernyőn.

- ▶ **Szürke pipa** – Az ellenőrzés még nem történt meg.
- ▶ **Folyamatban**  **ikon** – Az ellenőrzés folyamatban van.
- ▶ **Zöld pipa** – Az ellenőrzés sikerült.
- ▶ **Piros X** – Az ellenőrzés sikertelen. Az ellenőrzés sikertelen részeinek mindegyikénél a folytatás előtt beavatkozás szükséges. Lásd: *Az automatikus ellenőrzési hibák elhárítása, 42. oldal.*

A folyamatban lévő automatikus ellenőrzés megszakításához válassza a **Cancel** (Mégse) gombot. Az ellenőrzés újraindításához válassza a **Retry** (Újra) gombot. Az ellenőrzés folytatódik az első befejezetlen vagy sikertelen ellenőrzéssel.

Az egy kategórián belüli egyedi ellenőrzések eredményének megtekintéséhez válassza a **Category** (Kategória) lapot.

A futtatás indítása

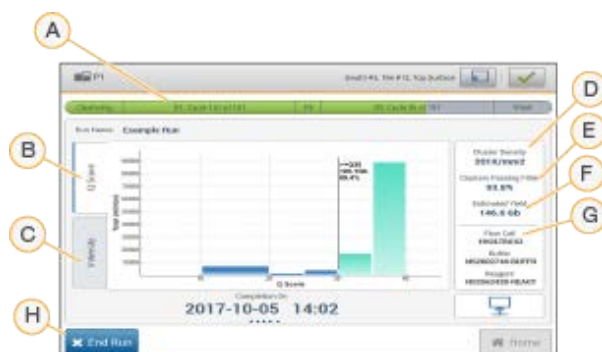
Ha az automatikus futtatás előtti ellenőrzés befejeződött, válassza a **Start** (Indítás) lehetőséget. Elkezdődik a szekvenálási futtatás.

A rendszer olyan beállításához, hogy a sikeres ellenőrzés után automatikusan elkezdje a futtatást, lásd: *A futtatásbeállítási lehetőségek beállítása, 12. oldal.*

A futtatás állapotának nyomon követése

- 1 Kísérje figyelemmel a futtatás állapotát, az intenzitásokat és a minőségi pontszámokat a képernyőn.

19. ábra: A szekvenálási futtatás állapota és mérőszámai



- A **Futtatás állapota** – Mutatja az aktuális lépést és a befejezett ciklusok számát az egyes leolvasásoknál. Az állapotjelző sáv haladása nem arányos az egyes lépések futtatási sebességével. A futtatás befejeződésének becsült dátuma és ideje a képernyő alján látható.
- B **Q-Score** (Q-pontszám) – A minőségi pontszámok (Q-pontszámok) eloszlását mutatja. Lásd a *A minőség osztályozása*, 56. oldal.
- C **Intensity** (Intenzitás) – Minden csempe 90. percentilisenk megfelelő klaszterintenzitásának az értékét mutatja. A grafikon színei az egyes bázisoknak felelnek meg: a piros az A-t, a zöld a C-t, a kék a G-t és a fekete a T-t jelenti.
- D **Cluster Density (K/mm²)** [Klasztersűrűség (K/mm²)] – A futtatásnál detektált klaszterek száma
- E **Clusters Passing Filter (%)** [Szűrő feltételeinek megfelelő klaszterek (%)] – A szűrő feltételeinek megfelelő klaszterek százalékos aránya Lásd *A szűrő feltételeinek megfelelő klaszterek*, 55. oldal.
- F **Estimated Yield (Gb)** [Becsült hozam (Gb)] – A futtatás során kimutatott bázisok előrejelzett száma
- G **Lot Information** (Tételadatok) – A szekvenálási fogyóeszközök tételszámai. Az áramlási cella esetén a gyártási szám.
- H **End Run** (Futtatás befejezése) – A folyamatban lévő futtatás leállítására A fogyóeszközök nem használhatók újra.



MEGJEGYZÉS













Ha a Home (Kezdőképernyő) lehetőséget választja, utána nem lehet visszatérni a futtatás mérőszámainak megjelenítéséhez. A futtatás mérőszámai azonban megjeleníthetők a BaseSpace segítségével vagy egy különálló számítógépen a Sequencing Analysis Viewer (SAV) szoftverrel.

A futtatási mérőszámok ciklusai

A futtatási mérőszámok a futtatás során különböző időpontokban jelennek meg.

- ▶ A klasztergenerálási lépések során nem jelennek meg mérőszámok.
- ▶ Az első 5 ciklus a sablonlétrehozásra van lefoglalva.
- ▶ A 25. ciklus után megjelennek a futtatás mérőszámai, többek között a klasztersűrűség, a szűrő feltételeinek megfelelő klaszterek száma, a hozam és a minőségi pontszámok.

Adatátvitel

Állapot	ILLUMINA BaseSpace	BaseSpace Onsite	Különálló készülék
Csatlakoztatva			
Csatlakoztatva, adatátvitel folyamatban			
Nincs csatlakoztatva			
Disabled (Letiltva)			

A kiválasztott elemzési konfigurációtól függően a futtatás közben a képernyőn megjelenik egy ikon, amely az adatátvitel állapotát jelzi.

Ha az adatátvitel megszakad a futtatás közben, az adatok ideiglenesen a készülék számítógépén tárolódnak. A kapcsolat helyreállítása után az adatátvitel automatikusan folytatódik. Ha a kapcsolat nem áll helyre a futtatás befejeződéséig, a következő futtatás elkezdése előtt manuálisan kell eltávolítani az adatokat a készülék számítógépéről.

Run Copy Service

A NextSeq 550Dx System Software Suite tartalmaz egy Run Copy Service szolgáltatást. Az RTA v2 a szolgáltatástól kéri a fájlok másolását a forráshelyről a célhelyre, és a szolgáltatás feldolgozza a másolási kéréseket a beérkezés sorrendjében. Ha kivétel történik, a fájl másolása újraütemezésre kerül a másolási várólistában található fájlok száma alapján.

Sequencing Analysis Viewer

A Sequencing Analysis Viewer szoftver mutatja a futtatás során mért szekvenálási mérőszámokat. Az RTA által készített és az InterOp-fájlokba írt adatok grafikonok és táblázatok formájában jelennek meg. A mérőszámok frissítésre kerülnek a futtatás előrehaladtával. A frissített adatok megtekintéséhez a futtatás során bármikor válassza a **Refresh** (Frissítés) lehetőséget. További információ: *Sequencing Analysis Viewer felhasználói útmutató (dokumentumszám: 15020619)*.

A Sequencing Analysis Viewer a készülék számítógépére telepített szoftver részét képezi. A Sequencing Analysis Viewer telepíthető egy másik, a hálózathoz csatlakoztatott számítógépre is, amelyen a futtatások távoli monitorozása történik.

Automatikus futtatás utáni mosás

A szekvenálási futtatás befejezése után a szoftver automatikus futtatás utáni mosást végez a pufferkazettában található mosóoldat és a reagenskazettában található NaOCl használatával. Ha a futtatáshoz be van állítva a fogyóeszközök kiürítése lehetőség, az automatikus futtatás utáni mosás előtt megtörténik a kiürítés.

Az automatikus futtatás utáni mosás körülbelül 90 percet vesz igénybe. A mosás befejeződése után a Home (Kezdőképernyő) gomb aktívvá válik. A szekvenálási eredmények láthatók maradnak a képernyőn a mosás közben.

A mosás után

A mosás után a szívócsövek a leengedett helyzetben maradnak, hogy ne kerüljön levegő a rendszerbe. Hagyja a kazettákat a készülékben a következő futtatásig.

4. fejezet: Leolvasás

Bevezetés	27
Leolvasási munkafolyamat	28
A DMAP mappa letöltése	28
A BeadChip behelyezése az adapterbe	29
Leolvasás beállítása	30
A leolvasás állapotának nyomon követése	32

Bevezetés

A NextSeq 550Dx készülékkel végzett leolvasáshoz a következő futtatási összetevőkre van szükség:

- ▶ Hibridizált és festett BeadChip
- ▶ Az újrahasználatos BeadChip-adapter
- ▶ A használt BeadChiphez való Decode Map (DMAP) fájlok
- ▶ A használt BeadChip típusához való jegyzékfájl
- ▶ A használt BeadChip típusához való klaszterfájl

A leolvasás során elkészülnek a kimeneti fájlok, amelyeket a rendszer azután sorba állítja a megadott kimeneti mappába való átvitelre.

Az elemzés a BlueFuse Multi szoftverrel történik, amelyhez genotípus-azonosítási (GTC) formátumú leolvasási adatok szükségesek. A NextSeq 550Dx készülék alapértelmezés szerint normalizált adatokat és az ezekhez tartozó genotípus-azonosításokat hoz létre GTC formátumú fájlként. Opcionálisan beállítható a készülék ezen kívül intenzitási adat (IDAT) fájlok létrehozására. További információkért lásd: *BeadChip leolvasási konfiguráció*, 51. oldal.

Decode File Client

A DMAP mappa tartalmazza a BeadChipen található gyöngyök elhelyezkedését és az egyes gyöngyökhöz tartozó jel mennyiségi értékét. Minden BeadChip vonalkódhoz egyedi DMAP mappa tartozik.

A Decode File Client segédprogram lehetővé teszi a DMAP mappák letöltését közvetlenül az Illumina kiszolgálójáról szabványos HTTP protokoll segítségével.

A Decode File Client letölthető az Illumina honlapján a [Decode File Client támogatási oldaláról](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Telepítse a Decode File Client segédprogramot a DMAP mappa hálózati helyéhez hozzáféréssel rendelkező számítógépre.

További információkért tekintse meg *A DMAP mappa letöltése*, 28. oldal.

Jegyzékfájlok és klaszterfájlok

Minden BeadChip esetén a szoftvernek szüksége van a jegyzékfájlhoz és klaszterfájlhoz való hozzáférésre. Minden jegyzékfájl és klaszterfájl egyedi módon egy bizonyos BeadChip-típushoz tartozik. Ügyeljen arra, hogy olyan klaszterfájlt használjon, amelynek a nevében szerepel az „NS550” karaktorsor. Ezek a fájlok kompatibilisek a NextSeq 550Dx rendszerrel.

- ▶ **Jegyzékfájl** – A jegyzékfájlok a BeadChip SNP- vagy szondatartalmát írják le. A jegyzékfájlok *.bpm formátumúak.
- ▶ **Klaszterfájlok** – A klaszterfájlok az Illumina genotipizálási chip klasztereinek pozícióit írják le, és a genotípus-azonosítás céljából végzett adatelemzéshez használatosak. A klaszterfájlok *.egt formátumúak.

A fájlok helye a BeadChip Scan Configuration (BeadChip leolvasási konfiguráció) képernyőn adható meg. Az NCS Home (Kezdő) képernyőjén válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése), **System Configuration** (Rendszerkonfiguráció), majd a **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip leolvasási konfiguráció) lehetőséget.

A NextSeq 550Dx készülék telepítésekor az Illumina képviselője letölti ezeket a fájlokat, és megadja az elérési útvonalat a vezérlőszoftverben. Nem szükséges ezeket a fájlokat megváltoztatni, csak adatvesztés vagy új verzió rendelkezésre állása esetén. További információk: [Jegyzékfájlok és klaszterfájlok cseréje, 47. oldal.](#)

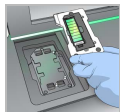
Leolvasási munkafolyamat

DMAP

Töltse le a DMAP-adatokat, és mentse a DMAP mappa megadott helyére.



Helyezze a BeadChipet az adapterbe.



Helyezze a BeadChip-adaptert a készülékbe.



Adja meg a leolvasási paramétereket: a DMAP mappa helyét és a kimeneti mappa helyét.



Tekintse át az automatikus ellenőrzés eredményeit. Válassza a **Start** (Indítás) lehetőséget.



Kövesse a futtatást a vezérlőszoftver felületén.

A DMAP mappa letöltése

A DMAP mappa elérhető a Decode File Client segítségével fiókonként vagy BeadChipenként (ez az alapértelmezett nézet).

A DMAP mappa megtekintése fiókonként

- 1 A Decode File Client fő lapján válasszon egy letöltési lehetőséget:
 - ▶ AutoPilot (Robotpilóta)
 - ▶ All BeadChips not yet downloaded (Minden eddig le nem töltött BeadChip)
 - ▶ All BeadChips (Minden BeadChip)
 - ▶ BeadChips by Purchase Order (BeadChipek megrendelés alapján)
 - ▶ BeadChips by barcode (BeadChipek vonalkód alapján)
- 2 Írja be a szükséges adatokat.
- 3 Adja meg a letöltendő DMAP mappa leendő helyét.
- 4 Győződjön meg arról, hogy van elegendő szabad hely a letöltés célhelyén.

- 5 Kezdje el a letöltést. A letöltés állapota megtekinthető a Download Status and Log (Letöltés állapota és napló) lapon.
- 6 Mentse a DMAP mappát a megadott helyre.

A DMAP mappa megtekintése BeadChipenként

- 1 A BeadChip azonosításához adjon meg kettőt a következő adatok közül:
 - ▶ BeadChip vonalkódja
 - ▶ BeadChip dobozának azonosítója
 - ▶ Fizetési számla száma
 - ▶ Megrendelés száma
- 2 Adja meg a letöltendő DMAP mappa leendő helyét.
- 3 Győződjön meg arról, hogy van elegendő szabad hely a letöltés célhelyén.
- 4 Kezdje el a letöltést. A letöltés állapota megtekinthető a Download Status and Log (Letöltés állapota és napló) lapon.
- 5 Mentse a DMAP mappát a megadott helyre.

A BeadChip behelyezése az adapterbe

- 1 Nyomja le az adapter rögzítőkapcsát. A kapocs kissé hátrafelé fordulva kinyílik.
- 2 A BeadChipet a széleinél fogva fordítsa a vonalkóddal a rögzítőkapocs felé, és helyezze az adapter mélyedésébe.

20. ábra: A BeadChip behelyezése az adapterbe



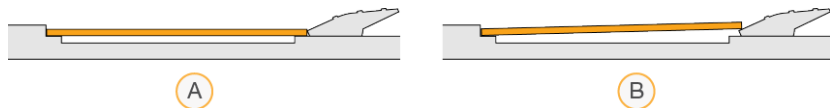
- 3 A BeadChip két oldalán található nyílások segítségével győződjön meg arról, hogy a BeadChip be van illesztve az adapter mélyedésébe.

21. ábra: A BeadChip beillesztése és rögzítése



- 4 A BeadChip rögzítéséhez óvatosan engedje fel a rögzítőkapcsot.
- 5 Tekintse meg a BeadChipet oldalról, hogy a BeadChip az adapter síkjában helyezkedik-e el. Szükség esetén helyezze át a BeadChipet.

22. ábra: A BeadChip elhelyezésének ellenőrzése



- A Helyes pozíció – A kapocs felengedése után a BeadChip az adapter síkjában helyezkedik el.
 B Helytelen pozíció – A kapocs felengedése után a BeadChip nem az adapter síkjában helyezkedik el.

Leolvasás beállítása

- 1 A Home (Kezdő) képernyőn válassza az **Experiment** (Kísérlet), majd a **Scan** (Leolvasás) lehetőséget. A Scan (Leolvasás) parancs hatására kinyílik a képkalkotási rekesz ajtaja, a készülék kiadja az előző futtatáshoz használt fogyóeszközöket (ha vannak), és megnyílik egy sor leolvasásbeállítási képernyő. Ilyenkor normális egy kis késlekedés.

A szekvenálási fogyóeszközök eltávolítása

Ha egy leolvasás beállításakor használt szekvenálási fogyóeszközök vannak a készülékben, a szoftver felszólítja a reagenskazetta és a pufferkazetta eltávolítására a következő lépés előtt.

- 1 Ha a szoftver felszólítja, távolítsa el az előző szekvenálási futtatáshoz használt szekvenálási fogyóeszközöket.
 - a Vegye ki a reagenskazettát a reagensrekeszből. Ártalmatlanítsa a fel nem használt összetevőket a hatályos előírásoknak megfelelően.
 - b Vegye ki a pufferkazettát a pufferrekeszből.



FIGYELMEZTETÉS

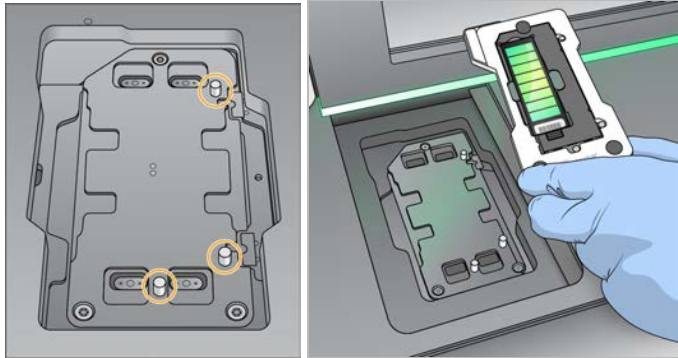
Ezek a reagensek potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaznak. Belégzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa. További környezetvédelmi, egészségügyi és biztonsági információkért tekintse meg a következő címen elérhető biztonsági adatlapot: support.illumina.com/sds.html.

- 2 Vegye ki az áramlási cellát a képkalkotási rekeszből.
- 3 Zárja be a reagensrekesz és a pufferrekesz ajtaját.

A BeadChip-adapter behelyezése

- 1 Az illesztőtűskék segítségével illessze a BeadChip-adaptert az emelvényre.

23. ábra: A BeadChip-adapter behelyezése




- 2 Válassza a **Load** (Betöltés) lehetőséget.
Az ajtó automatikusan bezáródik, a BeadChip azonosítója megjelenik a képernyőn, és a rendszer ellenőrzi az érzékelőket. Ilyenkor normális egy kis késlekedés. Ha nem sikerül a BeadChip vonalkódjának a leolvasása, megjelenik egy párbeszédpanel, amelyben manuálisan megadhatja a vonalkódot. Lásd: *A szoftver nem tudja leolvasni a BeadChip vonalkódját*, 46. oldal.
- 3 Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A leolvasás beállítása

- 1 A Scan Setup (Leolvasás beállítása) képernyőn erősítse meg a következő adatokat:
 - ▶ **Barcode** (Vonalkód) – A szoftver a BeadChip behelyezésekor leolvassa a vonalkódját. Ha a vonalkódot manuálisan adták meg, megjelenik a további módosítást lehetővé tevő Edit (Szerkesztés) gomb.
 - ▶ **Type** (Típus) – A BeadChip típusát mutató mező automatikusan kitöltődik a BeadChip vonalkódja alapján.
 - ▶ **DMAP Location** (DMAP helye) – A DMAP mappa helye a BeadChip Scan Configuration (BeadChip leolvasási konfiguráció) képernyőn adható meg. A helynek csak az aktuális leolvasáshoz való megváltoztatásához válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon a megfelelő helyre.
 - ▶ **Output Location** (Kimenet helye) – A kimeneti adatok helye a BeadChip Scan Configuration (BeadChip leolvasási konfiguráció) képernyőn adható meg. A helynek csak az aktuális leolvasáshoz való megváltoztatásához válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon a kívánt helyre.
- 2 Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A futtatás előtti ellenőrzés áttekintése

A szoftver a futtatás előtt elvégzi a rendszer automatikus ellenőrzését. Az ellenőrzés során a következő jelzések jelennek meg a képernyőn.

- ▶ **Szürke pipa** – Az ellenőrzés még nem történt meg.
- ▶ **Folyamatban**  ikon – Az ellenőrzés folyamatban van.
- ▶ **Zöld pipa** – Az ellenőrzés sikerült.
- ▶ **Piros X** – Az ellenőrzés sikertelen. Az ellenőrzés sikertelen részeinek mindegyikénél a folytatás előtt beavatkozás szükséges. Lásd: *Az automatikus ellenőrzési hibák elhárítása*, 42. oldal.

A folyamatban lévő automatikus ellenőrzés megszakításához válassza a **Cancel** (Mégse) gombot. Az ellenőrzés újraindításához válassza a **Retry** (Újra) gombot. Az ellenőrzés folytatódik az első befejezetlen vagy sikertelen ellenőrzéssel.

Az egy kategórián belüli egyedi ellenőrzések eredményének megtekintéséhez válassza a Category (Kategória) lapot.

A leolvasás indítása

Ha az automatikus ellenőrzés befejeződött, válassza a **Start** (Indítás) lehetőséget. Elkezdődik a leolvasás.

A rendszer olyan beállításához, hogy a sikeres ellenőrzés után automatikusan elkezdje a leolvasást, lásd: [A futtatásbeállítási lehetőségek beállítása](#), 12. oldal.

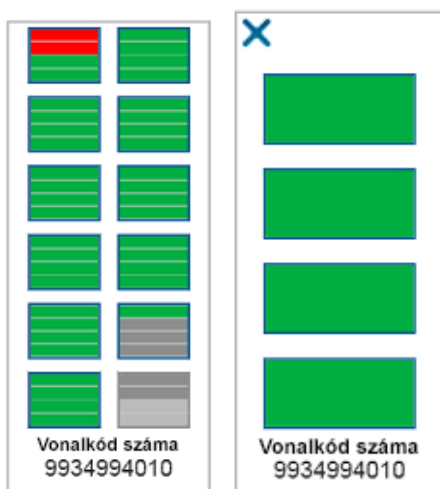
A leolvasás állapotának nyomon követése

- 1 A leolvasás előrehaladása a BeadChip-kép alapján követhető. A képen megjelenő színek jelzik a leolvasás állapotát.
 - ▶ **Világoszürke** – Nem történt leolvasás.
 - ▶ **Sötétszürke** – A leolvasás megtörtént, de a regisztrálás nem.
 - ▶ **Zöld** – Sikeres leolvasás és regisztráció
 - ▶ **Piros** – Sikertelen leolvasás és regisztráció

Ha sikertelen a regisztrálás, a hibás részeket tartalmazó minták újra leolvashatók. Lásd [A BeadChip leolvasásának sikertelensége](#), 46. oldal.

- 2 A BeadChip képére kattintva váltani lehet a teljes nézet és egy kiválasztott minta nézete között.
 - ▶ A teljes nézeten láthatók a BeadChipen található minták és a mintákon belüli részek.
 - ▶ A részletes nézet a kiválasztott minta minden részét mutatja.

24. ábra: A BeadChip képe: teljes nézet és részletes nézet



MEGJEGYZÉS

A leolvasás leállítása végleges hatályú. Ha leállítja a leolvasást, mielőtt befejeződne, a leolvasás adatai **nem** tárolódnak.

Adatátvitel

A leolvasás befejeződése után a rendszer sorba állítja az adatokat a leolvasási kimeneti mappába való átvitelre. Az adatok ideiglenesen a készülék számítógépén tárolódnak. Az ideiglenes mappa automatikusan törlődik a készülék számítógépéről, ha elkezdődik a következő leolvasás.

Az adatok átviteléhez szükséges idő a hálózati kapcsolattól függ. A következő leolvasás elkezdése előtt ellenőrizze, hogy megtörtént-e az adatok kiírása a kimeneti mappába. Az ellenőrzéshez győződjön meg arról, hogy GTC-fájlok vannak a vonalkódmappában. További információkért lásd: [A leolvasási kimeneti mappa szerkezete](#), 61. oldal.

A kapcsolat megszakadása esetén az adatátvitel automatikusan folytatódik, ha a kapcsolat helyreáll. Minden fájl esetén a kimeneti mappába való sorba állítás után elindul az idő visszaszámlálása 1 órától. Ha az átvitel megtörténte előtt lejár az idő, vagy a számítógépet újraindítják, az adatok nem kerülnek kiírásra a kimeneti mappába.

5. fejezet: Karbantartás

Bevezetés	34
Manuális mosás elvégzése	34
A levegőszűrő cseréje	37
Szoftverfrissítések	38
Újraindítási és leállítási lehetőségek	40

Bevezetés

A karbantartási eljárások közé tartozik a készülék manuális mosása és a rendszerszoftver frissítése, ha rendelkezésre áll.

- ▶ **A készülék mosása** – A minden szekvenálási futtatás után elvégzett automatikus futtatás utáni mosás szolgál a készülék teljesítményének fenntartására. Bizonyos körülmények között azonban rendszeres manuális mosás is szükséges. Lásd: *Manuális mosás elvégzése, 34. oldal.*
- ▶ **Szoftverfrissítés** – Ha a rendszerszoftver frissített verziója rendelkezésre áll, a frissítést automatikusan telepítheti a BaseSpace-helyhez való csatlakozással vagy manuálisan a telepítőfájl letöltésével az Illumina honlapjáról. Lásd: *Szoftverfrissítések, 38. oldal.*
- ▶ **A levegőszűrő cseréje** – A levegőszűrő rendszeres cseréje biztosítja a levegő megfelelő áramlását a készüléken keresztül.

Megelőző karbantartás

Az Illumina azt javasolja, hogy éves gyakorisággal végezzen megelőző karbantartást. Ha nincs szervizszerződése, vegye fel a kapcsolatot a területileg illetékes ügyfél-kapcsolattartóval vagy az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával, és érdeklődjön egy számlaképes, megelőző karbantartási műveletek elvégzésére alkalmas szolgáltató felől.

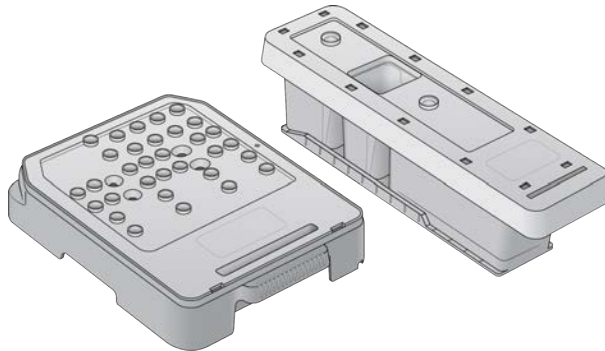
Manuális mosás elvégzése

A manuális mosást a Home (Kezdő) képernyőről lehet indítani. A mosási lehetőségek közé tartozik a Quick Wash (Gyors mosás) és a Manual Post-Run Wash (Futtatás utáni manuális mosás).

Mosás fajtája	Leírás
Gyors mosás Időtartam: 20 perc	A rendszer átöblítése a felhasználó által elkészített, laboratóriumi minőségű vizet és Tween 20 oldatot (puffermosó kazetta) tartalmazó mosóoldattal. <ul style="list-style-type: none">• 14 naponként szükséges, ha a készülék nincs használatban, de a reagenskazetta és a pufferkazetta a helyén van.• 7 naponként szükséges, ha a készülék száraz (nincs benne a reagenskazetta és a pufferkazetta).• Leállítás után szükséges.
Futtatás utáni manuális mosás Időtartam: 90 perc	A rendszer átöblítése a felhasználó által elkészített, laboratóriumi minőségű vizet, Tween 20 oldatot (puffermosó kazetta) és 0,12%-os nátrium-hipokloritot (reagensmosó kazetta) tartalmazó mosóoldattal. Akkor szükséges, ha a futtatás utáni automatikus mosás nem történt meg.

A manuális mosáshoz a készülékkel együtt szállított reagensmosó kazetta és puffermosó kazetta és egy használt áramlási cella szükséges. Egy használt áramlási cella legfeljebb 20 alkalommal használható a készülék mosására.

25. ábra: Reagensmosó kazetta és puffermosó kazetta



A futtatás utáni manuális mosás előkészítése

Válasszon, hogy futtatás utáni manuális mosást kíván előkészíteni az itt leírtak szerint, vagy gyors mosást készít elő (ezt a következő szakasz ismerteti). Ha futtatás utáni manuális mosást kíván végezni, ugorja át a gyors mosásról szóló szakaszt, és folytassa a következő résszel: *A használt áramlási cella és a mosási fogyóeszközök behelyezése*, 36. oldal.

A felhasználó által beszerzett fogyóeszközök	Mennyiség és leírás
NaOCl	1 ml, 0,12%-ra hígítva A reagensmosó kazettába (a 28. pozíciójú tárolóba) betöltve
100% Tween 20 Laboratóriumi minőségű víz	125 ml, 0,05% Tween 20 oldatot tartalmazó mosóoldat A puffermosó kazettába (a középső tárolóba) betöltve

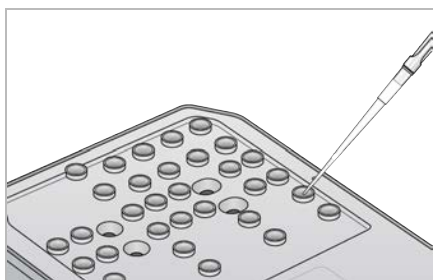


MEGJEGYZÉS

Mindig frissen, **24 órán** belül elkészített NaOCl-oldatot használjon. Ha több mint 1 ml hígított oldatot készít, a megmaradó hígított oldatot 24 órán belüli felhasználásra tárolja 2 °C és 8 °C között. Egyébként ártalmatlanítsa a maradék hígított NaOCl-oldatot.

- Adagolja az alábbi mennyiségeket egy mikrocentrifuga-csőbe, hogy 1 ml 0,12%-os NaOCl-oldatot kapjon:
 - ▶ 5% NaOCl (24 µl)
 - ▶ Laboratóriumi minőségű víz (976 µl)
- A cső megfordításával keverje össze.
- Adjon 1 ml 0,12%-os NaOCl-oldatot a reagensmosó kazettába. Az oldatot az előre töltött kazetta **28.** pozíciójának megfelelő tartályba kell adagolni.

26. ábra: A NaOCl betöltése



- 4 Adagolja a következő mennyiségeket, hogy 0,05%-os Tween 20 mosóoldatot kapjon:
 - ▶ 100% Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Laboratóriumi minőségű víz (125 ml)
- 5 Töltsön 125 ml mosóoldatot a puffermosó kazetta középső tárolójába.
- 6 Válassza a **Perform Wash** (Mosás elvégzése), majd a **Manual Post-Run Wash** (Futtatás utáni manuális mosás) lehetőséget.

A gyors mosás előkészítése

Előkészíthet gyors mosást az itt leírtak szerint, alternatívaként a következőhöz: *A futtatás utáni manuális mosás előkészítése*, 35. oldal.

A felhasználó által beszerzett fogyóeszközök	Mennyiség és leírás
100% Tween 20 Laboratóriumi minőségű víz	40 ml, 0,05% Tween 20 oldatot tartalmazó mosóoldat A puffermosó kazettába (a középső tárolóba) betöltve

- 1 Adagolja a következő mennyiségeket, hogy 0,05%-os Tween 20 mosóoldatot kapjon:
 - ▶ 100% Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Laboratóriumi minőségű víz (40 ml)
- 2 Töltsön 40 ml mosóoldatot a puffermosó kazetta középső tárolójába.
- 3 Válassza a **Perform Wash** (Mosás elvégzése), majd a **Quick Wash** (Gyors mosás) lehetőséget.

A használt áramlási cella és a mosási fogyóeszközök behelyezése

- 1 Ha nincs használt áramlási cella a készülékben, helyezzen be egyet. Válassza a **Load** (Betöltés), majd a **Next** (Tovább) lehetőséget.
- 2 Vegye ki a használt reagensek tárolóját, és ártalmatlanítsa a tartalmát a hatályos szabályoknak megfelelően.



FIGYELMEZTETÉS

Ezek a reagensek potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaznak. Belélegzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa. További környezetvédelmi, egészségügyi és biztonsági információkért tekintse meg a következő címen elérhető biztonsági adatlapot: support.illumina.com/sds.html.

- 3 Csúsztassa a használt reagensek tárolóját üres állapotban a pufferrekeszbe ütközésig.
- 4 Vegye ki az előző futtatáshoz használt pufferkazettát, ha bent van.
- 5 Helyezze be a mosópuffert tartalmazó puffermosó kazettát.
- 6 Vegye ki az előző futtatáshoz használt reagenskazettát, ha bent van.
- 7 Helyezze be a reagensmosó kazettát.
- 8 Válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget. Automatikusan elkezdődik az előmosás.

A mosás indítása

- 1 Válassza a **Start** (Indítás) lehetőséget.
- 2 Ha a mosás befejeződött, válassza a **Home** (Kezdőképernyő) lehetőséget.

A mosás után

A mosás után a szívócsövek a leengedett helyzetben maradnak, hogy ne kerüljön levegő a rendszerbe. Hagyja a kazettákat a készülékben a következő futtatásig.

A levegőszűrő cseréje

A levegőszűrő biztosítja a levegő áramlását a készüléken keresztül. A NextSeq 550Dx kezelőszoftver diagnosztikai módban 90 naponként megjelenít egy értesítést a levegőszűrő cseréjéről. Ha az értesítés megjelenik, válassza a **Remind in 1 day** (Emlékeztessen 1 nap múlva) lehetőséget, vagy végezze el az alábbi eljárást, és válassza a **Filter Changed** (Szűrő kicserélve) lehetőséget. A 90 napos visszaszámlálás a **Filter Changed** (Szűrő kicserélve) lehetőség kiválasztása után újraindul.

- 1 Vegye ki a levegőszűrőt a csomagolásából, és a keretére írja rá a behelyezés dátumát.
- 2 A szűrő tálcajának kioldásához a készülék hátulján nyomja lefelé a tálca felső részét.
- 3 Fogja meg a szűrő tálcaját, és felfelé húzva teljesen vegye ki a készülékből.
- 4 Távolítsa el belőle a régi szűrőt, és dobja ki.
- 5 Helyezze be az új szűrőt a tálcaiba.

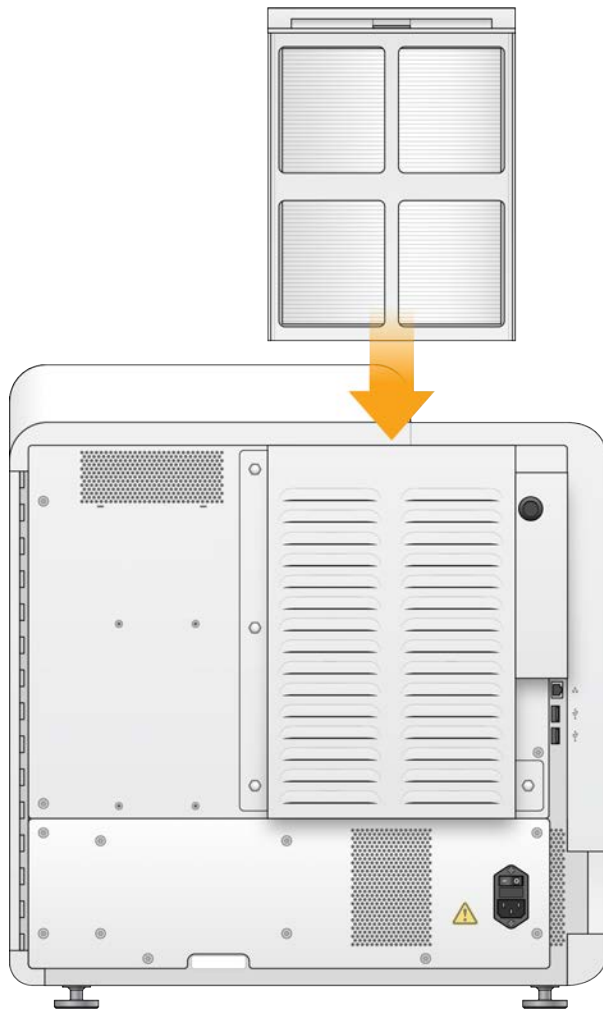


MEGJEGYZÉS

A levegőszűrő nem működik megfelelően, ha fordítva van behelyezve. Ügyeljen arra, hogy a szűrőnek a tálcaiba való behelyezésekor a zöld, felfelé mutató nyíl látszódjon, és a figyelmeztető címke ne látszódjon. A nyílnek a szűrőtálca fogantyúja felé kell mutatnia.

- 6 Csúsztassa a szűrő tálcaját a készülékbe. Nyomja lefelé a szűrő tálcaját, amíg a helyére nem kattann.

27. ábra: A levegőszűrő behelyezése




Szoftverfrissítések

A szoftverfrissítések egy System Suite nevű szoftvercsomagban találhatóak, amely az alábbi szoftvereket tartalmazza:

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

Szoftverek telepíthetők automatikusan internetkapcsolaton keresztül vagy manuálisan egy hálózati helyről vagy USB-eszközzel.

- ▶ **Automatikus frissítés** – Az internetkapcsolattal rendelkező hálózathoz csatlakozó készülékek esetén a Home (Kezdő) képernyőn a Manage Instrument (Készülék kezelése) gombon egy figyelmeztetés  ikon jelenik meg, ha elérhető frissítés.
- ▶ **Manuális frissítés** – Töltse le a System Suite telepítőfájlját a [NextSeq 550Dx készülék támogatási oldaláról](#) az Illumina honlapján.

Automatikus szoftverfrissítés

- 1 Válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése) lehetőséget.
- 2 Válassza a **Software Update** (Szoftverfrissítés) lehetőséget.
- 3 Válassza az **Install the update already downloaded from BaseSpace** (A BaseSpace-ről már letöltött frissítés telepítése) lehetőséget.
- 4 A frissítés megkezdéséhez válassza az **Update** (Frissítés) lehetőséget. A parancs megerősítését kérő párbeszédpanel jelenik meg.
- 5 Kövesse a telepítési varázsló utasításait:
 - a Fogadja el a felhasználói licencszerződést.
 - b Tekintse át a kiadási megjegyzéseket.
 - c Tekintse át a frissítés által érintett szoftvereket.

A frissítés befejeződése után a vezérlőszoftver automatikusan újraindul.



MEGJEGYZÉS

Ha a firmware frissítése is megtörténik, utána a rendszer automatikus újraindítása szükséges.

Manuális szoftverfrissítés

- 1 Töltse le a System Suite telepítőjét az Illumina honlapjáról, és mentse egy hálózati helyre. Másik lehetőségként másolja a telepítőfájl egy hordozható USB-meghajtóra.
- 2 Válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése) lehetőséget.
- 3 Válassza a **Software Update** (Szoftverfrissítés) lehetőséget.
- 4 Válassza a **Manually install the update from the following location** (Frissítés manuális telepítése a következő helyről) lehetőséget.
- 5 A **Browse** (Tallózás) lehetőség kiválasztása után keresse meg a szoftver telepítőfájlját, majd válassza az **Update** (Frissítés) lehetőséget.
- 6 Kövesse a telepítési varázsló utasításait:
 - a Fogadja el a felhasználói licencszerződést.
 - b Tekintse át a kiadási megjegyzéseket.
 - c Tekintse át a frissítés által érintett szoftvereket.

A frissítés befejeződése után a vezérlőszoftver automatikusan újraindul.



MEGJEGYZÉS

Ha a firmware frissítése is megtörténik, utána a rendszer automatikus újraindítása szükséges.

Újraindítási és leállítási lehetőségek

A Shut Down Options (Leállítási lehetőségek) gomb kiválasztása után a következő funkciók választhatók:

- ▶ Restart (Újraindítás) – A készülék újraindul Dx módban.
- ▶ Shutdown (Leállítás) – A készülék újraindul diagnosztikai módban.
- ▶ Exit to Windows (Kilépés a Windowsba) – A jogosultságtól függően lehetséges az NCS bezárása és a Windows használata.

Újraindítás diagnosztikai módban

A készülék biztonságos leállításához és diagnosztikai módban való újraindításához használja a Restart (Újraindítás) parancsot. Az alapértelmezett újraindulási mód a diagnosztikai mód.

- 1 Válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése) lehetőséget.
- 2 Válassza a **Shutdown Options** (Leállítási lehetőségek) lehetőséget.
- 3 Válassza a **Restart** (Újraindítás) lehetőséget.

A készülék leállítása

- 1 Válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése) lehetőséget.
- 2 Válassza a **Shutdown Options** (Leállítási lehetőségek) lehetőséget.
- 3 Válassza a **Shut Down** (Leállítás) lehetőséget.

A Shut Down (Leállítás) parancs biztonságosan bezárja a szoftvert, és kikapcsolja a készüléket. A készülék ismételt bekapcsolása előtt várjon legalább 60 másodpercet.



MEGJEGYZÉS

Alapértelmezésként bekapcsoláskor a készülék diagnosztikai módban indul.



FIGYELEM!

Ne helyezze át a készüléket. A készülék nem megfelelően végzett mozgatása befolyásolhatja az optikai illeszkedést, és ronthatja az adatok integritását. Ha át kell helyezni a készüléket, forduljon Illumina képviselőjéhez.

Kilépés a Windowsba

Az Exit to Windows (Kilépés a Windowsba) parancs lehetővé teszi a készülék operációs rendszeréhez és a számítógépen tárolt mappákhoz való hozzáférést. A parancs segítségével biztonságosan be lehet zárni a szoftvert, és ki lehet lépni a Windowsba,

- 1 Válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése) lehetőséget.
- 2 Válassza a **Shutdown Options** (Leállítási lehetőségek) lehetőséget.
- 3 Válassza az **Exit to Windows** (Kilépés a Windowsba) lehetőséget.

A. függelék: Hibaelhárítás

Bevezetés	41
Hibaelhárítási fájlok	41
Az automatikus ellenőrzési hibák elhárítása	42
A használt reagensek tárolója megtelt	44
Rehibridizálási munkafolyamat	44
A BeadChip és a leolvasás hibái	46
Egyéni receptek és receptmappák	48
RAID-hibaüzenet	48
A rendszerbeállítások konfigurálása	48

Bevezetés

Ha műszaki jellegű kérdése van, keresse fel a NextSeq 550Dx készülék támogatási oldalait az Illumina honlapján. A támogatási oldalakon dokumentáció, letöltések és a gyakran ismételt kérdések találhatók.

A támogatási közleményekhez való hozzáféréshez jelentkezzen be MyIllumina-fiókjába.

A futtatás minőségére és teljesítményére vonatkozó problémákkal forduljon az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához. Lásd: *Műszaki támogatás*, 66. oldal.

A hibaelhárítás elősegítéséhez ossza meg az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával a BaseSpace-en található futtatási összefoglalóra mutató hivatkozást.

Hibaelhárítási fájlok

Az Illumina műszaki ügyfélszolgálati képviselője kérheti a futtatásra vonatkozó vagy az ellenőrzésre vonatkozó fájlokat a problémák elhárításához. Jellemzően a következő fájlok használatosak a hibaelhárításhoz.

A szekvenálási futtatásokkal kapcsolatos hibaelhárítási fájlok

Kulcsfájl	Mappa	Leírás
Futtatási információs fájl (RunInfo.xml)	Gyökérmappa	A következő információkat tartalmazza: <ul style="list-style-type: none">• Futtatás neve• Ciklusok száma a futtatás során• Ciklusok száma egy leolvasásban• Az, hogy indexelt leolvasásról van-e szó• Az áramlási cella rendjeinek és csempéinek száma
Futtatási paraméterek fájl (RunParameters.xml)	Gyökérmappa	Információkat tartalmaz a futtatási paramétereiről és a futtatás összetevőiről. Az adatok közé tartozik az RFID, a gyártási szám, a cikkszám és a lejárat dátum.
RTA konfigurációs fájl (RTAConfiguration.xml)	Gyökérmappa	A futtatás RTA konfigurációs beállításait tartalmazza. Az RTAConfiguration.xml fájl a futtatás elején jön létre.
InterOp-fájlok (*.bin)	InterOp	Bináris jelentésfájlok a Sequencing Analysis Viewer általi használatra. Az InterOp fájlok folyamatosan frissülnek a futtatás során.
Naplófájlok	Naplók	A naplófájlok tartalmazzák a készülék által minden ciklusban elvégzett minden lépést, illetve a futtatáshoz használt szoftver és firmware verzióit. A [KészülékNeve]_CurrentHardware.csv felsorolja a készülék összetevőinek a gyártási számait.
Hibanapló fájlok (*.ErrorLog*.txt)	RTA logs	Az RTA-hibák naplója. A hibanapló fájlok frissítésre kerülnek hiba fellépése esetén.
Globális naplófájlok (*.ErrorLog*.txt)	RTA logs	Az összes RTA-esemény naplója. A globális naplófájlok folyamatosan frissülnek a futtatás során.

RTA hibák

Az RTA hibáinak elhárításához először ellenőrizze az RTA hibanaplót, amely az RTALogs mappában található. A sikeres futtatások esetén nincs ilyen mappa. Csatolja a hibanaplót, ha problémát jelent az Illumina műszaki ügyfélszolgálatának.

A chippek leolvasásával kapcsolatos hibaelhárítási fájlok

Kulcsfájl	Mappa	Leírás
Leolvasási paraméterek fájl (ScanParameters.xml)	Gyökérmappa	A leolvasási paraméterek információit tartalmazza. Az adatok a következők: leolvasási adatok, a BeadChip vonalkódja, a klaszterfájl helye és a jegyzékfájl helye.
Naplófájlok	Naplók	A naplófájlok tartalmazzák a készülék által a leolvasás során elvégzett minden lépést.
Mérőszámfájlok	[Vonalkód]	A mérőszámok közé tartoznak a minta mérőszámai és a szakasz mérőszámai. [vonalkód]_sample_metrics.csv – Minden minta és csatorna (piros és zöld) esetén a következő értékek: Percent Off Image (Kép kikapcsolásának százaléka), Percent Outliers (Kívül eső adatok százaléka), P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev, és Min Registration Score (Minimális regisztrálási pontszám). [vonalkód]_section_metrics.csv – Minden szakasz és csempe esetén a következő értékek: Laser Z-position (Lézer Z-pozíciója), Through Focus Z-position (Fókus Z-pozíciója), Red FWHM (Piros FWHM), Green FWHM (Zöld FWHM), Red Avg Pixel Intensity (Piros átlagos pixelintenzitás), Green Avg Pixel Intensity (Zöld átlagos pixelintenzitás), Red Registration Score (Piros regisztrálási pontszám) és Green Registration Score (Zöld regisztrálási pontszám).
Ismételt leolvasási fájl	[Vonalkód]	[vonalkód]_rescan.flowcell – A nagyobb csempék közötti átfedéssel végzett ismételt leolvasáshoz beállított csempék felsorolása

Az automatikus ellenőrzési hibák elhárítása

Ha az automatikus ellenőrzés során hibák lépnek fel, azok elhárításához végezze el az alábbi ajánlott műveleteket. A szekvenálási futtatás előtti és a chipleolvasás előtti automatikus ellenőrzés különbözik.

A szekvenálási futtatásokkal kapcsolatos ellenőrzések

Ha a futtatás előtti ellenőrzés sikertelen, a reagenskazetta RFID-je nincs zárolva, és az felhasználható egy későbbi futtatáshoz. A zárófilák kiszúrása után azonban zárolva van az RFID.

Rendszerellenőrzés	Ajánlott művelet
Ajtók záródása	Gondoskodjon a rekeszek ajtajának a bezárásáról.
Fogyóeszközök behelyezése	A fogyóeszközök érzékelője nem jelez. Gondoskodjon minden fogyóeszköz megfelelő behelyezéséről. A futtatási beállítási képernyőkön válassza a Back (Vissza) gombot a betöltési lépéshez való visszatéréshez, és ismétlje meg a futtatás beállítását.
Szükséges szoftver	A szoftver kritikus összetevői hiányoznak. Az összes szoftverelem helyreállításához végezzen manuális szoftverfrissítést.
Készülék lemezterülete	A készülék merevlemezén nincs elegendő lemezterület a futtatáshoz. Lehetséges, hogy az előző futtatásból származó adatok nem kerültek átvitelre. Törölje a futtatási adatokat a készülék merevlemezéről.
Hálózati kapcsolat	A hálózati kapcsolat megszakadt. Ellenőrizze a hálózat állapotát és a hálózat fizikai csatlakozását.

Rendszerellenőrzés	Ajánlott művelet
Hálózati lemez területe	Vagy a BaseSpace-fiók, vagy a hálózati kiszolgáló megtelt.
Hőmérséklet	Ajánlott művelet
Hőmérséklet	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Hőmérséklet-érzékelők	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Ventilátorok	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Képkötési rendszer	Ajánlott művelet
Képkötési határértékek	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Z irányú léptetés és lecsillapodás	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Bithibaarány	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Áramlási cella regisztrálása	Lehetséges, hogy az áramlási cella nem megfelelően van beillesztve. <ul style="list-style-type: none"> • A futtatási beállítási képernyőn válassza a Back (Vissza) gombot az áramlási cella behelyezési lépéséhez való visszatéréshez. A képkötési rekesz ajtaja kinyílik. • Vegye ki az áramlási cellát, és a visszahelyezésekor ügyeljen a megfelelő beillesztésére.
Reagensadagolás	Ajánlott művelet
Szelep reakciója	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Szivattyú	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Puffermechanizmus	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Az elhasznált reagens tárolója üres	Üritse ki a használt reagens tárolóját, és helyezze vissza az üres tárolót.

A chip leolvasása előtti ellenőrzés

Rendszerellenőrzés	Ajánlott művelet
Ajtók záródása	Gondoskodjon a rekeszek ajtajának a bezárásáról.
Fogyóeszközök behelyezése	A fogyóeszközök érzékelője nem jelez. Gondoskodjon minden fogyóeszköz megfelelő behelyezéséről. A futtatási beállítási képernyőn válassza a Back (Vissza) gombot a betöltési lépéshez való visszatéréshez, és ismétlje meg a futtatás beállítását.
Szükséges szoftver	A szoftver kritikus összetevői hiányoznak. Az összes szoftverelem helyreállításához végezzen manuális szoftverfrissítést.
Beviteli fájlok ellenőrzése	Győződjön meg arról, hogy a klaszterfájl és a jegyzékfájl elérési útja helyes, és a fájlok megvannak.
Készülék lemezterülete	A készülék merevlemezén nincs elegendő lemezterület a futtatáshoz. Lehetséges, hogy az előző futtatásból származó adatok nem kerültek átvitelre. Törölje a futtatási adatokat a készülék merevlemezéről.
Hálózati kapcsolat	A hálózati kapcsolat megszakadt. Ellenőrizze a hálózat állapotát és a hálózat fizikai csatlakozását.
Hálózati lemez területe	Vagy a BaseSpace-fiók, vagy a hálózati kiszolgáló megtelt.

Képkalkotási rendszer	Ajánlott művelet
Képkalkotási határértékek	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Z irányú léptetés és lecsillapodás	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Bithibaarány	Vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.
Automatikus középre állítás	Távolítsa el a BeadChip-adaptert. Gondoskodjon arról, hogy a BeadChip megfelelően legyen behelyezve az adapterbe, majd helyezze vissza az adaptert.

A használt reagensek tárolója megtelt

A futtatást mindig úgy kezdje, hogy üres a használt reagensek tárolója.

Ha a használt reagensek tárolójának kiürítése nélkül indít egy futtatást, a tároló megtelése esetén a rendszer érzékelői szüneteltetik a szoftver által végzett futtatást. A rendszer érzékelői nem tudják szüneteltetni a futtatást a klaszterképződés, a páros vég újraszintetizálása, illetve az automatikus futtatás utáni mosás közben.

Ha a futtatás szünetel, megjelenik egy párbeszédpanel azzal a lehetőséggel, hogy a készülék felemeli a szívócsöveket, és ki lehet üríteni a tele tárolót.

A használt reagensek tárolójának kiürítése

- 1 Válassza a **Raise Sippers** (Szívócsövek felemelése) lehetőséget.
- 2 Vegye ki a használt reagensek tárolóját, és megfelelően ártalmatlanítsa a tartalmát.
- 3 Helyezze vissza az üres tárolót a pufferrekeszbe.
- 4 Válassza a **Continue** (Folytatás) lehetőséget. A futtatás automatikusan folytatódik.

Rehibridizálási munkafolyamat

Rehibridizálási futtatás válhat szükségessé, ha az első néhány ciklusban mért adatok 2500-nál alacsonyabb intenzitásokat mutatnak. Bizonyos alacsony diverzitású könyvtárak 1000-nél alacsonyabb intenzitást mutathatnak, ami várható jelenség, és nem korrigálható rehibridizálással.



MEGJEGYZÉS

Az End Run (Futtatás befejezése) utasítás végleges hatályú. A futtatás nem folytatható, a futtatáshoz használt fogyóeszközök nem használhatók újra, és a futtatás szekvenálási adatai nem tárolódnak.

Ha Ön megszakítja a futtatást, a szoftver a következő műveleteket végzi el a futtatás befejezése előtt:

- ▶ Biztonságos helyzetbe helyezi az áramlási cellát.
- ▶ Feloldja az áramlási cella RFID-azonosítóját egy későbbi futtatáshoz.
- ▶ Rehibridizálási lejárat dátumot rendel az áramlási cellához.
- ▶ A befejezett ciklusokat tartalmazó futtatási naplót készít. Ilyenkor normális némi késlekedés.
- ▶ Kihagyja az automatikus futtatás utáni mosást.

Ha Ön rehibridizálási futtatást indít, a szoftver a következő műveleteket végzi el a futtatás indításához:

- ▶ Futtatási könyvtárat hoz létre az egyedi futtatási név alapján.
- ▶ Ellenőrzi, hogy nem járt-e le az áramlási cella rehibridizálási lejárat dátuma.
- ▶ Felbontja a reagenseket. Ilyenkor normális némi késlekedés.

- ▶ Átugorja a klasztergenerálási lépést.
- ▶ Eltávolítja a korábbi 1. leolvasás primerét.
- ▶ Friss 1. leolvasási primert hibridizál.
- ▶ Folytatja az 1. leolvasással és a futtatás többi részével a megadott futtatási paraméterek alapján.

A futtatás rehibridizálást lehetővé tevő megszakítási pontjai

Későbbi rehibridizálás csak akkor lehetséges, ha a futtatást a következő pontokon szakítja meg:

- ▶ **Az 5. ciklus után** – Az intenzitások a sablon regisztrálása után jelennek meg, amelyhez az első 5 szekvenálási ciklus szükséges. Biztonságos a futtatás megszakítása az 1. ciklus után, de javasolt az 5. ciklus utáni megszakítás. Ne szakítsa meg a futtatást a klasztergenerálás közben.
- ▶ **1. leolvasás vagy 1. index leolvasása** – A futtatást a páros vég újraszintetizálása **előtt** kell leállítani. Ha elkezdődik a páros vég újraszintetizálása, az áramlási cellát nem lehet félretenni későbbi rehibridizálás céljára.

Szükséges fogyóeszközök

A rehibridizálási futtatáshoz új NextSeq 550Dx reagenskazetta és pufferkazetta szükséges, függetlenül a futtatás megszakításának idejétől.

Az aktuális futtatás megszakítása

- 1 Válassza az **End Run** (Futtatás befejezése) lehetőséget. Ha a rendszer a parancs megerősítését kéri, kattintson a **Yes** (Igen) gombra.
- 2 Ha a rendszer az áramlási cella megtartását kérdezi, kattintson a **Yes** (Igen) gombra. Vegye figyelembe a rehibridizálásra vonatkozó lejárat dátumot.
- 3 Vegye ki az áramlási cellát, és tegye félre 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten, amíg készen nem áll a rehibridizálási futtatás beállítására.



MEGJEGYZÉS

Az áramlási cella 7 napig tárolható 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten a kagylótokban a páramentesítő **nélkül**. A legjobb eredmény érdekében végezze el az áramlási cella rehibridizálását 3 napon belül.

Manuális mosás elvégzése

- 1 A Home (Kezdő) képernyőn válassza a **Perform Wash** (Mosás elvégzése) lehetőséget.
- 2 A Wash Selection (Mosás kiválasztása) képernyőn válassza a **Manual Post-Run Wash** (Futtatás utáni manuális mosás) lehetőséget. Lásd: *Manuális mosás elvégzése, 34. oldal*.



MEGJEGYZÉS

Ha nem távolította el a megszakított futtatáshoz használt reagenskazettát és pufferkazettát, ezeket használhatja a manuális mosáshoz. Egyébként használja a mosáshoz a reagensmosó kazettát és puffermosó kazettát.

Új futtatás beállítása a BaseSpace Prep lapján

- 1 Ha a készülék a BaseSpace vagy a BaseSpace Onsite használatára van beállítva, A Prep (Előkészítés) lapon állítson be egy új futtatást az eredeti futtatás paraméterei alapján.



TIPP

Kattintson a Pools (Keverékek) lapfőldre, válassza a megfelelő keverékazonosítót az előző futtatás beállításainak megtartásához, majd adjon egyedi nevet a futtatásnak.

Futtatás beállítása a készüléken

- 1 Készítsen elő egy új reagenskazettát.
- 2 Ha a félretett áramlási cellát hűtve tárolták, várja meg, hogy szobahőmérsékletre melegedjen (15–30 perc).
- 3 Tisztítsa meg és helyezze be a félretett áramlási cellát.
- 4 Vegye ki a használt reagensek tárolóját, és megfelelően ártalmatlanítsa a tartalmát, majd helyezze vissza az üres tárolót.
- 5 Helyezze be az új pufferkazettát és reagenskazettát.
- 6 A Run Setup (Futtatás beállítása) képernyőn válasszon a következő lehetőségek közül:
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace vagy BaseSpace Onsite) – Válassza ki a futtatást, és erősítse meg a futtatás paramétereit.
 - ▶ **Standalone** (Különálló) – Írja be a futtatás nevét, és adja meg ugyanazokat a paramétereket, mint az eredeti futtatáshoz.
- 7 A futtatás előtti ellenőrzés és a futtatás elindításához válassza a **Next** (Tovább) lehetőséget.

A BeadChip és a leolvasás hibái

A szoftver nem tudja leolvasni a BeadChip vonalkódját

Ha a vonalkódhibát jelző párbeszédpanel jelenik meg, a következő lehetőségek közül lehet választani:

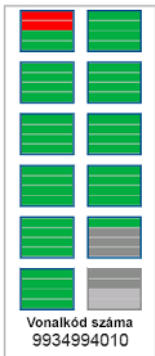
- ▶ Válassza a **Rescan** (Ismételt leolvasás) lehetőséget. A szoftver ismét megpróbálja leolvasni a vonalkódot.
- ▶ Válassza ki a szövegmezőt, és írja be a képen látható helyen található vonalkódot. A BeadChip típusától függően a vonalkód akár 12 számjegyet is tartalmazhat. Válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget. A vonalkód képe a kimeneti mappába kerül mentésre.
- ▶ Válassza a **Cancel** (Mégse) lehetőséget. A képalkotási rekesz ajtaja kinyílik, hogy ki lehessen venni a BeadChip-adaptert.

A BeadChip leolvasásának sikertelensége

A képek regisztrálása a leolvasás után történik. A regisztrálás során a rendszer azonosítja a gyöngyöket a leolvasott képen lévő helyeknek a gyöngytérképpel vagy a DMAP mappával való összevetésével.

A BeadChip képen pirossal vannak jelölve azok a területek, amelyek regisztrálása sikertelen.

28. ábra: Sikertelen területeket tartalmazó BeadChip



A leolvasás befejezése és a leolvasási adatoknak a kimeneti mappába való kiírása után aktívá válik a Rescan (Ismételt leolvasás) gomb.

A Rescan (Ismételt leolvasás) kiválasztása esetén a szoftver a következő lépéseket végzi el:

- ▶ Újra leolvassa a hibás részeket tartalmazó mintákat nagyobb csempék közötti átfedéssel.
- ▶ Létrehozza a kimeneti fájlokat az eredeti kimeneti mappában.
- ▶ Átírja a korábbi sikertelen részek kimeneti fájljait.
- ▶ Minden ismételt leolvasáskor a leolvasási számlálót 1-gyel növeli, de ezt a háttérben teszi. A szoftver nem nevezi át a kimeneti mappát.

Ismételt leolvasás vagy új leolvasás

- 1 A hibás részeket tartalmazó minták leolvasásához válassza a **Rescan** (Ismételt leolvasás) lehetőséget.
- 2 Ha leolvasás továbbra is sikertelen, fejezze be a leolvasást.
- 3 Távolítsa el a BeadChipet és az adaptert, és ellenőrizze a BeadChipet, hogy nincs-e rajta por vagy törmelék. A törmelék eltávolításához használjon sűrített levegővel való lefúvatást.
- 4 Helyezze vissza a BeadChipet, és indítson új leolvasást.
Új leolvasás indítása esetén a szoftver a következő lépéseket végzi el:
 - ▶ Leolvassa az egész BeadChipet.
 - ▶ Létrehozza a kimeneti fájlokat egy új mappában.
 - ▶ A leolvasási számlálót 1-gyel növeli a legutóbbi ismételt leolvasáskor kapott értékéhez képest.

Jegyzékfájlok és klaszterfájlok cseréje

- 1 Lépjen az Illumina támogatási oldalára (support.illumina.com), válassza az Ön által használt BeadChip nevét, és kattintson a **Downloads** (Letöltések) lapfülre.
- 2 Töltse le a cserélni vagy frissíteni kívánt fájlokat, és másolja azokat a kívánt hálózati helyre.



MEGJEGYZÉS

Ügyeljen arra, hogy a NextSeq 550Dx rendszerrel kompatibilis jegyzék- és klaszterfájlokat válasszon. A kompatibilis fájlok nevében szerepel az **NS550** karaktorsor.

- 3 Csak akkor frissítse a BeadChip Scan Configuration (BeadChip leolvasási konfiguráció) képernyőn a helyet, ha megváltozott a fájlok helye.
 - a Az NCS Home (Kezdő) képernyőjén válassza a **Manage Instrument** (Készülék kezelése) lehetőséget.
 - b Válassza a **System Configuration** (Rendszerkonfiguráció) lehetőséget.
 - c Válassza a **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip leolvasási konfiguráció) lehetőséget.
- 4 Válassza az **Browse** (Tallózás) lehetőséget, majd navigáljon a cserélt vagy frissített fájlokhoz.

Egyéni receptek és receptmappák

Ne módosítsa az eredeti recepteket. Mindig készítsen másolatot az eredeti receptről egy új néven. Ha egy eredeti receptet módosítanak, a szoftverfrissítő nem ismeri fel a receptet a későbbi frissítések esetén, és nem telepíti az új verzióját.

Az egyéni recepteket tárolja a megfelelő receptmappában. A receptmappák szerkezete a következő.

- 📁 Custom
 - 📁 High – Nagy teljesítményű készlettel használható egyéni receptek
 - 📁 Mid – Közepes teljesítményű készlettel használható egyéni receptek
 - 📁 High – Nagy teljesítményű készlettel használható eredeti receptek
 - 📁 Mid – Közepes teljesítményű készlettel használható eredeti receptek
 - 📁 Wash – A manuális mosás receptjét tartalmazza.

RAID-hibaüzenet

A NextSeq 550Dx számítógép négy merevlemezzel van felszerelve, ebből kettő a diagnosztikai módhoz és kettő a kutatási módhoz való. Ha a merevlemezek elkezdnek meghibásodni, a rendszer RAID-hibaüzenetet jelenít meg, és azt javasolja, hogy forduljon az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához. Ilyenkor általában ki kell cserélni a merevlemezt.

Folytathatja a futtatás beállítását és a normál működtetést. Az üzenet célja, hogy előre ütemezni lehessen a szervizelést, hogy elkerülhető legyen a készülék normál működésének megszakítása. A folytatáshoz válassza a **Close** (Bezárás) lehetőséget.

A rendszerbeállítások konfigurálása

A rendszer konfigurálása a telepítés során történik. Ha azonban módosítás szükséges, vagy a rendszert újra kell konfigurálni, használja a rendszer konfigurációs lehetőségeit. Csak Windows rendszergazdai fiókkal bejelentkezett felhasználó férhet hozzá a rendszerkonfigurációs lehetőségekhez.

- ▶ **Network Configuration** (Hálózat beállítása) – Beállítható az IP-cím, a tartományi névkiszolgáló (DNS) cím, a számítógép neve és a tartománynév.
- ▶ **Analysis Configuration** – Beállíthatók az elemzési módszerek, így a BaseSpace, a BaseSpace Onsite, a különálló üzemmód, a futtatás monitorozása a BaseSpace-ben, valamint az alapértelmezett BaseSpace-bejelentkezésnek és a készülék állapotára vonatkozó adatok küldésének a beállításai.
- ▶ **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip leolvasási konfiguráció) – Beállítható a DMAP mappa alapértelmezett helye, a kimeneti mappa helye, a mentett képek fájlformátuma és a kimeneti fájl típusa.

A hálózati konfiguráció beállítása

- 1 A Manage Instrument (Készülék kezelése) képernyőn válassza a **System Configuration** (Rendszerkonfiguráció) menüpontot.
- 2 Válassza a **Network Configuration** (Hálózati konfiguráció) lehetőséget.
- 3 Az IP-címnek a DHCP szolgáltatástól való beszerzéséhez válassza az **Obtain an IP address automatically** (IP-cím automatikus beszerzése) lehetőséget.



MEGJEGYZÉS

A Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) szabványos hálózati protokoll, amely IP-hálózatokon a hálózati konfigurációs paraméterek dinamikus elosztását végzi.

Másik lehetőség, hogy a **Use the following IP address** (Következő IP-cím használata) kiválasztásával a készüléket manuálisan csatlakoztatja egy másik kiszolgálóhoz a következő módon. Kérdezze meg a hálózati rendszergazdát az Ön intézményében beállított címekről.

- ▶ Írja be az IP-címet. Az IP-cím 4, pontokkal elválasztott számból áll, ilyen például a 168.62.20.37.
- ▶ Írja be az alhálózati maszkot, amely az IP-hálózat egy részét jelenti.
- ▶ Írja be az alapértelmezett átjárót, amely a hálózatot az internethez csatlakoztató útválasztó.

- 4 A készüléknek az IP-címhez kapcsolódó tartománynév-kiszolgálóhoz való csatlakoztatásához válassza az **Obtain a DNS server address automatically** (DNS-kiszolgálócím automatikus kérése) lehetőséget. Másik lehetőség, hogy a **Use the following DNS server addresses** (Következő DNS-kiszolgálócímek használata) kiválasztásával a készüléket manuálisan csatlakoztatja egy másik tartománynév-kiszolgálóhoz a következő módon.
 - ▶ Írja be a preferált DNS-címet. A DNS-cím annak a kiszolgálónak a neve, amely a tartományneveket lefordítja IP-címekké.
 - ▶ Írja be az alternatív DNS-címet. Az alternatív cím akkor használatos, ha a preferált DNS nem tud lefordítani egy bizonyos tartománynevet IP-címmé.
- 5 A Computer (Számítógép) képernyőre való lépéshez válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.




MEGJEGYZÉS

A készülék számítógépének nevét a számítógép a gyártáskor kapja. A számítógép nevének bármilyen változtatása befolyásolhatja a csatlakozást, és ehhez hálózati adminisztrátor szükséges.

- 6 A készülék számítógépét a következő módon csatlakoztassa egy tartományhoz vagy munkacsoporthoz.
 - ▶ **Az internethez csatlakoztatott készülékek esetén** – Válassza a **Member of Domain** (Tartomány tagja) lehetőséget, majd írja be az Ön intézményében az internetkapcsolathoz társított tartománynevet. A tartomány megváltoztatásához rendszergazdai felhasználónév és jelszó szükséges.
 - ▶ **Az internethez nem csatlakozó készülékek esetén** – Válassza a **Member of Work Group** (Munkacsoport tagja) lehetőséget, és írja be a munkacsoport nevét. A munkacsoport neve egyedi az Ön intézményében.
- 7 Válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.

Az elemzési konfiguráció beállítása

- 1 A Manage Instrument (Készülék kezelése) képernyőn válassza a **System Configuration** (Rendszerkonfiguráció) menüpontot.
- 2 Válassza az **Analysis Configuration** (Elemzési konfiguráció) lehetőséget.

- 3 A következő lehetőségekből választhat a későbbi elemzésre átvitt adatok helyének megadásához.
 - ▶ A szekvenálási adatoknak az Illumina BaseSpace-be való elküldéséhez válassza a **BaseSpace** lehetőséget. **[Opcionális]** Jelölje be az **Output Folder** (Kimeneti mappa) jelölőnégyzetet, válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon egy hálózati helyre a BCL-fájlok másodlagos mentésére a BaseSpace-en kívül.
 - ▶ Válassza a **BaseSpace Onsite** lehetőséget. A Server Name (Kiszolgáló neve) mezőbe írja be a BaseSpace Onsite kiszolgáló teljes elérési útját. **[Opcionális]** Jelölje be az **Output Folder** (Kimeneti mappa) jelölőnégyzetet, válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon egy hálózati helyre a BCL-fájlok másodlagos mentésére a BaseSpace Onsite kiszolgálón kívül.
 - ▶ Válassza a **Standalone instrument** (Különálló készülék) lehetőséget, ha csak egy hálózati helyre kívánja menteni az adatokat. Válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon a kívánt hálózati helyre. A vezérlőszoftver automatikusan létrehozza a kimeneti mappa nevét.
 - ▶ **[Opcionális]** Válassza a **Use Run Monitoring** (Futtatási monitorozás használata) lehetőséget, hogy a BaseSpace megjelenítési eszközeivel végezze a futtatás monitorozását. Ehhez BaseSpace bejelentkezési adatok és internetkapcsolat szükséges.
 - 4 Ha a BaseSpace vagy a BaseSpace Onsite lehetőséget választotta, állítsa be a BaseSpace-paramétereket a következők szerint:
 - ▶ A készüléknek a BaseSpace-en való regisztrálásához adja meg BaseSpace-hez tartozó **User Name** (Felhasználónév) és **Password** (Jelszó) adatokat.
 - ▶ A regisztrált felhasználónév és jelszó alapértelmezettként való beállításához válassza a **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Alapértelmezett bejelentkezés használata és a BaseSpace bejelentkezési képernyő kihagyása) lehetőséget. E beállítás esetén a futtatás beállítása során a BaseSpace képernyő nem jelenik meg.
 - 5 Az Illumina proaktív monitorozási szolgáltatás bekapcsolásához válassza a (A készülék teljesítményadatainak elküldése az Illumina részére)**Send instrument health information to Illumina** (A készülék állapotára vonatkozó adatok elküldése az Illumina részére) lehetőséget. Az NCS verziójától függően előfordulhat, hogy ez a beállítás más név alatt jelenik meg a szoftver kezelőfelületén, mint itt az útmutatóban.
Ha ez a beállítás be van kapcsolva, a készülék elküldi a teljesítményadatait az Illumina részére. Ezek az adatok segítenek az Illumina munkatársainak a hibák elhárításában és a potenciális meghibásodások felismerésében, lehetővé téve ezáltal a proaktív karbantartást és maximalizálva a műszer üzemidejét. A szolgáltatás előnyeiről további tájékoztatást lásd: *Illumina proaktív műszaki tájékoztatás (kiadványszám: 1000000052503)*.
Ez a szolgáltatás:
 - ▶ A szekvenálási adatokat nem küldi el
 - ▶ Internetkapcsolatot igényel a műszeren
 - ▶ Ehhez szükséges, hogy a készülék csatlakoztatva legyen a BaseSpace helyhez
-  **MEGJEGYZÉS**
Ez a lehetőség nem elérhető a BaseSpace Onsite esetén
- ▶ Alapértelmezés szerint be van kapcsolva. E szolgáltatás kikapcsolásához szüntesse meg a **Send instrument health information to Illumina** (A készülék állapotára vonatkozó adatok elküldése az Illumina részére) beállítás kijelölését.
- 6 Válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.

BeadChip leolvasási konfiguráció

- 1 A Manage Instrument (Készülék kezelése) képernyőn válassza a **System Configuration** (Rendszerkonfiguráció) menüpontot.
- 2 Válassza a **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip leolvasási konfiguráció) lehetőséget.
- 3 A DMAP mappa alapértelmezett helyének megadásához válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon az intézmény hálózatán található kívánt helyre.



MEGJEGYZÉS

Minden leolvasás előtt töltsse le és másolja a DMAP mappa tartalmát erre a helyre. A DMAP mappa tartalma szükséges minden BeadChiphez, és minden BeadChip-vonalkód esetén egyedi.

- 4 A kimeneti mappa alapértelmezett helyének megadásához válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon az intézmény hálózatán található kívánt helyre.
- 5 Válassza ki a mentett képek formátumát. Az alapértelmezett képformátum a **JPG**.
- 6 Válassza ki a leolvasási adatok kimeneti fájljának a formátumát. A kimeneti fájlok alapértelmezett formátuma **csak GTC**.
- 7 Válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.
- 8 A Scan Map (Leolvasási térkép) képernyőn adja meg mindegyik BeadChip-típushoz való jegyzékfájl és klaszterfájl teljes elérési útját. Mindegyik fájltypus esetén válassza a **Browse** (Tallózás) lehetőséget, és navigáljon a fájlokat tartalmazó mappához.
- 9 **[Opcionális]** A **Hide Obsolete BeadChips** (Elavult BeadChipek elrejtése) kiválasztásával elrejtethők az elavult BeadChipek.
- 10 Válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.

B. függelék: Valós idejű elemzés

A valós idejű elemzés áttekintése	52
A valós idejű elemzés munkafolyamata	53

A valós idejű elemzés áttekintése

A NextSeq 550Dx készülék az RTA2 nevű valós idejű elemzési szoftver implementációját használja. Az RTA2 a készülék számítógépén fut, és kivonja az intenzitásokat a képekből, elvégzi a bázisazonosítást, majd egy minőségi pontszámot rendel hozzá az egyes bázisazonosításokhoz. Az RTA2 és a vezérlőszoftver webes HTTP-interfészen és megosztott memóriefájlokot keresztül kommunikál egymással. Ha az RTA2 félbeszakad, a feldolgozás nem folytatható, és a rendszer nem menti el a futtatási adatokat.



MEGJEGYZÉS

A rendszer a demultiplikálási teljesítményt nem számítja ki. Ezért a Sequencing Analysis Viewer (SAV) Index lapja üres marad.

Az RTA2 bemeneti adatai

Az RTA2 az alábbi bemeneti adatokat igényli a feldolgozáshoz:

- ▶ A helyi rendszermemóriában tárolt csempeképek.
- ▶ A RunInfo.xml fájl, amelyet a rendszer automatikusan létrehoz a futtatás kezdetekor, és tartalmazza a futtatás nevét, a ciklusok számát, azt, hogy a leolvasás indexelve van-e, illetve az áramlási cellán található csempek számát.
- ▶ Az RTA.exe.config, amely XML formátumú konfigurációs fájl.

Az RTA2 parancsokat kap a vezérlőszoftvertől, amelyek tartalmazzák a RunInfo.xml fájl helyét, és azt, hogy meg lett-e adva opcionális kimeneti mappa.

RTA v2 – kimeneti fájlok

A rendszer a memóriában mindkét csatorna képeit csempeként továbbítja. A csempek kis képalkotási területek az áramlási cellán, amelyeket a kamera képének egy bizonyos területe definiál. A szoftver ezekből a képekből minőségi pontszámokkal ellátott bázisazonosító fájlokat és szűrőfájlokat állít elő. A többi fájl támogató kimeneti fájl.

Fájltípus	Leírás
Bázisazonosító fájlok	Minden elemzett csempe elemzésének adatai ciklusonként és soronként egy összesített bázisazonosító fájlba (*.bcl.bgzf) kerülnek. Az összesített bázisazonosító fájl tartalmazza a sor minden klaszterének bázisazonosítását és az ezekhez tartozó minőségi pontszámokat.
Szűrőfájlok	Minden csempehez keletkeznek szűrési adatok, amelyek minden sorhoz 1 szűrőfájlba (*.filter) vannak összesítve. A szűrőfájl adja meg, hogy a klaszter megfelelt-e a szűrő feltételeinek.
Klaszterhelyfájlok	A klaszterhely fájlok (*.locs) a csempe minden klaszterének X és Y koordinátáját tartalmazzák. Minden sorhoz egy klaszterhely fájl készül a sablonlétrehozás során.
Bázisazonosító indexfájlok	Minden sorhoz készül bázisazonosító indexfájl (*.bci), amely megőrzi az eredeti csempeadatokat. Az indexfájl tartalmaz minden csempehez egy értékpárt, amely a csempe számából és a csempen található klaszterek számából áll.

A kimeneti fájlok a BaseSpace általi további elemzésre szolgálnak. Másik lehetőségként FASTQ-konvertáláshoz és harmadik féltől származó elemzési megoldásokhoz használja a bcl2fastq konvertálószoftvert. A NextSeq 550Dx fájlok feldolgozásához a bcl2fastq v2.0 vagy későbbi verziója szükséges. A bcl2fastq legújabb verziójának letöltéséhez keresse fel a [NextSeq 550Dx letöltési oldalát](#) az Illumina honlapján.

Az RTA v2 valós idejű adatokat szolgáltat a futtatás minőségéről, és ezeket InterOp-fájlokként tárolja. Az InterOp-fájlok bináris fájlok, amelyek csempe-, ciklus- és olvasási szintű mérőszámokat tartalmaznak, amelyek a valós idejű mérőszámok megtekintéséhez szükségesek a Sequencing Analysis Viewer (SAV) alkalmazás segítségével. Az SAV legújabb verziójának letöltéséhez keresse fel az [SAV letöltési oldalát](#) az Illumina honlapján.

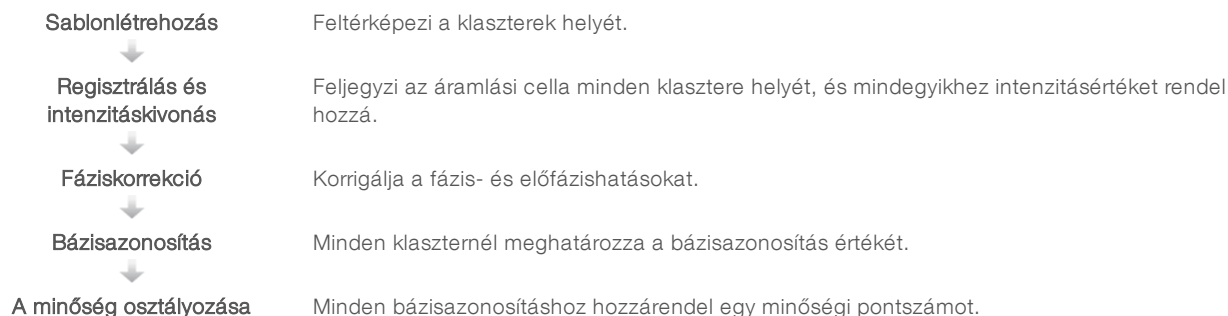
Hibakezelés

Az RTA2 naplófájlokat hoz létre, amelyeket az RTALogs mappába ment. A hibákat egy *.tsv formátumú hibafájlbba menti.

A feldolgozás végén az alábbi napló- és hibafájlokat másolja át a végső kimeneti mappába:

- ▶ *GlobalLog*.tsv: a fontos futtatási eseményeket összegzi.
- ▶ *Error*.tsv: a futtatás során jelentkező hibákat sorolja fel.
- ▶ *WarningLog*.tsv: a futtatás során jelentkező figyelmeztetéseket sorolja fel.

A valós idejű elemzés munkafolyamata



Sablonlétrehozás

Az RTA munkafolyamatban az első lépés a sablonlétrehozás, amely meghatározza a csempén található mindegyik klaszter pozícióját az X és az Y koordináták segítségével.

A sablonlétrehozáshoz a futtatás első 5 ciklusának képadatai szükségesek. A csempe utolsó sablonkészítési ciklusának befejeződése után elkezdődik a sablon létrehozása.



MEGJEGYZÉS

A sablonlétrehozás során a klaszter kimutatásához az első **5** ciklus valamelyikében legalább 1, a G-től eltérő bázisnak kell lennie. Az indexszekvenciákhoz az RTA v2 megköveteli, hogy az első **2** ciklus valamelyikében legalább 1, a G-től eltérő bázis legyen.

A sablon referenciaként szolgál a következő lépéshez, amely a regisztrációból és az intenzitáskivonásból áll. Az egész áramlási cellára vonatkozó klaszterpozíciók a klaszterhely fájlokba (*.locs), soronként 1 fájlba kerülnek kiírásra.

Regisztrálás és intenzitáskivonás

A regisztrálás és intenzitáskivonás a sablonlétrehozás után kezdődik.

- ▶ A regisztrálás az egymást követő ciklusok alkalmával készült képeket illeszti a sablonhoz.
- ▶ Az intenzitáskivonás során a rendszer egy adott képnél a sablonban található minden klaszterhez kiszámítja az intenzitás értékét.

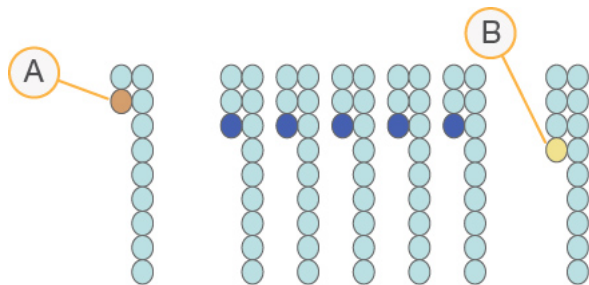
Ha egy ciklusban valamelyik kép esetén sikertelen a regisztráció, abban a ciklusban ahhoz csempéhez nem történik bázisazonosítás. A miniatűr képek elemzéséhez és a sikertelen regisztrációjú képek azonosításához használja a Sequencing Analysis Viewer (SAV) szoftvert.

Fáziskorrekció

A szekvenálási reakció közben az egyes klaszterek DNS-szállai ciklusonként 1 bázissal hosszabbá válnak. Fázishatás és előfázishatás akkor következik be, amikor egy szál kiesik a fázisból az aktuális beépítési ciklusban.

- ▶ Fázishatás akkor következik be, amikor egy bázis lemarad.
- ▶ Előfázishatás akkor következik be, amikor egy bázis előre ugrik.

29. ábra: Fázishatás és előfázishatás



- A Fázishatás alatt lévő bázis leolvasása
- B Előfázishatás alatt lévő bázis leolvasása

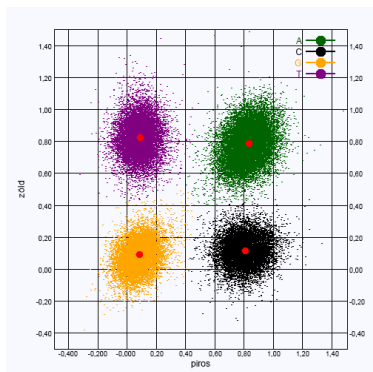
Az RTA2 korrigálja a fázis- és előfázishatást, ezzel maximalizálva az adatok minőségét minden ciklusban a futtatás teljes ideje alatt.

Bázisazonosítás

A bázisazonosítás során egy bizonyos ciklusban egy csempe minden klaszterében meghatározásra kerül egy bázis (A, C, G vagy T). A NextSeq 550Dx 2 csatornás szekvenálást alkalmaz, így mindössze 2 képre van szükség ahhoz, hogy megkülönböztesse a 4-féle DNS-bázist: 1 kép a piros csatornáról, 1 pedig a zöld csatornáról.

A rendszer leolvassa az intenzitást az egyik képről, majd összehasonlítja a másik képpel. Ez 4 különböző populációt eredményez, amelyek mindegyike egy-egy nukleotidnak felel meg. A bázisazonosítás során állapítja meg a rendszer, hogy az egyes klaszterek mely populációba tartoznak.

30. ábra: A klaszterintenzitások vizuális megjelenítése



1. táblázat: Bázisazonosítások 2 csatornás szekvenálás esetén

Bázis	Piros csatorna	Zöld csatorna	Eredmény
A	1 (van)	1 (van)	Azok a klaszterek, amelyek mind a piros, mind a zöld csatornán fényintenzitást mutatnak
C	1 (van)	0 (nincs)	Azok a klaszterek, amelyek csak a piros csatornán mutatnak fényintenzitást
G	0 (nincs)	0 (nincs)	Azok a klaszterek, amelyek egyik csatornán sem mutatnak fényintenzitást
T	0 (nincs)	1 (van)	Azok a klaszterek, amelyek csak a zöld csatornán mutatnak fényintenzitást

A szűrő feltételeinek megfelelő klaszterek

Futtatás közben az RTA2 kiszűri a nyersadatokból azokat a leolvasásokat, amelyek nem felelnek meg a szükséges adatminőségi követelményeknek. Eltávolítja az egymást átfedő és az alacsony minőségű klasztereket.

A 2 csatornás szekvenálásnál az RTA2 populációalapú rendszert használ a bázisazonosítás tisztaságának megállapítására. A klaszterek akkor felelnek meg a szűrő feltételeinek („passing filter”, PF), ha az első 25 ciklusban legfeljebb 1 bázisazonosítás tisztasági értéke $< 0,63$. A meg nem felelő klaszterek esetén nem történik bázisazonosítás.

Indexeléssel kapcsolatos megfontolások

A bázisazonosító indexek leolvasásának folyamata eltér az egyéb leolvasások során végzett bázisazonosítástól.

Az indexleolvasásoknak az első 2 ciklus valamelyikében legalább 1, a G-től eltérő bázissal kell kezdődniük. Ha az indexleolvasás két G bázissal kezdődik, akkor nem keletkezik jelintenzitás. A jelnek az első 2 ciklus valamelyikében jelen kell lennie, máskülönben a demultiplexelés kellő hatásfoka nem biztosított.

A demultiplexelés hatékonyságának javítása érdekében olyan indexszekvenciákat válasszon, amelyek minden ciklusban legalább 1 csatornán, de lehetőleg mindkét csatornán adnak jelet. Ennek az irányvonalnak a követése azt jelenti, hogy el kell kerülni azokat az indexkombinációkat, amelyek bármelyik ciklusban csak G bázist tartalmaznak.

- ▶ Piros csatorna – A vagy C
- ▶ Zöld csatorna – A vagy T

Ez a bázisazonosítási eljárás biztosítja a pontosságot low-plex minták elemzésekor.

A minőség osztályozása

A minőségi pontszám (Q-pontszám) annak előrejelzése, hogy mekkora a valószínűsége egy hibás bázisazonosításnak. Minél magasabb a Q-pontszám, annál jobb minőségű a bázisazonosítás, és annál valószínűbb, hogy a bázisazonosítás helyes.

A Q-pontszám egy egyszerű módszer a kisebb hibák előfordulási esélyének jelzésére. A minőségi pontszámot a Q(X) formában jelenik meg, ahol X maga a pontszám. Az alábbi táblázatban a minőségi pontszám és a hiba előfordulási valószínűségének kapcsolata látható.

Q-pontszám Q(X)	Hiba előfordulásának valószínűsége
Q40	0,0001 (10 000-ből 1)
Q30	0,001 (1000-ből 1)
Q20	0,01 (100-ből 1)
Q10	0,1 (10-ből 1)



MEGJEGYZÉS

A minőség osztályozása a Phred-algoritmus egy módosított változatán alapul.

A minőség osztályozása során a rendszer minden bázisazonosításnál kiszámít néhány prediktort, majd az előre jelzett értékek alapján kikeresi a Q-pontszámot egy minőségi táblázatból. A minőségi táblázatok arra szolgálnak, hogy optimális pontosságú előrejelzéseket adjanak a meghatározott beállítású szekvenálási platformon és kémiai verzió mellett létrehozott futtatásokhoz.

A Q-pontszám megállapítása után a rendszer a bázisazonosító fájlokban (*.bcl.bgzf) rögzíti az eredményeket.

C. függelék: Kimeneti fájlok és mappák

Szekvenálási kimeneti fájlok	57
A szekvenálási kimeneti mappa szerkezete	60
Leolvasási kimeneti fájlok	61
A leolvasási kimeneti mappa szerkezete	61

Szekvenálási kimeneti fájlok

Fájltípus	A fájl leírása, helye és neve
Bázisazonosító fájlok	Minden csempe elemzésének adatai egy bázisazonosító fájlba kerülnek; ciklusonként és soronként 1 ilyen fájl összesíti az adatokat. Az összesített fájl tartalmazza a sor minden klaszterének bázisazonosítását és kódolt minőségi pontszámát. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – A fájlok soronként 1 mappában található. [Ciklus].bcl.bgzf, ahol a [Ciklus] a 4 számjegyű ciklusszám. A rendszer a bázisazonosító fájlokat blokk gzip tömörítéssel becsomagolja.
Bázisazonosító indexfájl	Minden sorhoz egy bináris indexfájl tartalmazza az eredeti csempeadatokat minden csempehez egy értékpár formájában, amely a csempe számából és a csempen található klaszterek számából áll. A bázisazonosító indexfájlok akkor jönnek létre, amikor először történik bázisazonosítás az illető sor esetén. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – A fájlok soronként 1 mappában található. s_[sor].bci
Klaszterhelyfájlok	Minden sorhoz 1 klaszterhelyfájlból tárolódnak minden csempe minden klaszterének X- és Y-koordinátái. A klaszterhelyfájlok a sablonlétrehozás során jönnek létre. Data\Intensities\L00[X] – A fájlok soronként 1 mappában található. s_[sor].locs
Szűrőfájlok	A szűrőfájlok adják meg, hogy a klaszter átment-e a szűrőn. A szűrőinformációk minden sorhoz és minden leolvasáshoz 1 szűrőfájlból vannak összefoglalva. A rendszer a 26. ciklusnál hozza létre a szűrőfájlokat 25 ciklus adatai alapján. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – A fájlok soronként 1 mappában található. s_[sor].filter
InterOp-fájlok	Bináris jelentésfájlok a Sequencing Analysis Viewer (SAV) általi használatra. Az InterOp fájlok folyamatosan frissülnek a futtatás során. InterOp mappa
RTA konfigurációs fájl	Az RTA konfigurációs fájl a futtatás elején jön létre, és a futtatás beállításait sorolja fel. [Gyökérmappa], RTAConfiguration.xml
Futtatási információs fájl	Tartalmazza a futtatás nevét, a leolvasásonkénti ciklusok számát, hogy a leolvasás indexelt leolvasás-e, valamint az áramlási cellában lévő rendek és csempék számát. A futtatási információs fájl a futtatás elején jön létre. [Gyökérmappa], RunInfo.xml

Az áramlási cella csempéi

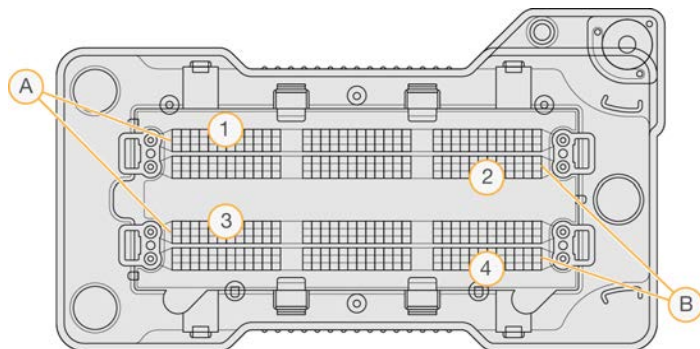
A csempék kis képalkotási területek az áramlási cellán, amelyeket a kamera képének egy bizonyos területe definiál. A csempék teljes száma az áramlási cellán ábrázolt sorok, rendek és felületek számától függ, valamint a kamerák képfelvételi együttműködésének módjától. A nagy teljesítményű áramlási cellák összesen 864 csempét tartalmaznak.

2. táblázat: Az áramlási cella csempéi

Áramlási cella komponense	Nagy teljesítményű	Leírás
Sorok	4	A sor egy fizikai csatoma meghatározott belépési és kilépési nyílásokkal.
Felületek	2	Az áramlási cella 2 felületéről történik képfelvétel. Először egy csempe felső felületéről készül felvétel, majd az alsó felületéről, és ezután kezdődik a következő csempe képfelvétele.
Soronkénti rendek száma	3	A rend egy soron belül a csempék egy oszlopát jelenti.
Kameraszegmensek	3	A készülék 6 kamerát használ az áramlási cella képének elkészítéséhez: minden sorban 3 kamerát.
Csempék száma rendenként és kameraszegmensenként	12	A csempe az áramlási cella azon része, amelyet a kamera 1 képként lát.
Az összes, képfelvétellel rögzített csempe száma	864	A csempék teljes száma = sorok száma × felületek száma × rendek száma × kameraszegmensek száma × szegmensek száma rendenként és kameraszegmensenként.

Sorok számozása

Az 1. és a 3. sor elnevezése A sorpár, ezekről egyszerre készül felvétel. A 2. és a 4. sor elnevezése B sorpár, ezekről az A sorpár befejezése után készül felvétel.

31. ábra: Sorok számozása

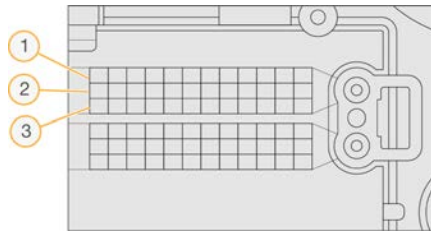
A A sorpár: 1. és 3. sor

B B sorpár: 2. és 4. sor

Rendek számozása

Mindegyik soron belül 3 rend felvétele készül. A rendek 1–3 közötti számokkal vannak jelölve a nagy teljesítményű áramlási cellákon.

32. ábra: Rendek számozása

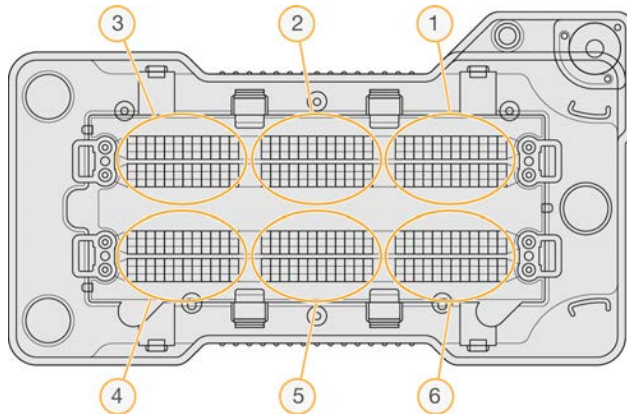


Kamerák számozása

A NextSeq 550Dx készülék 6 kamerát használ az áramlási cella képének elkészítéséhez.

A kamerák 1–6 közötti számokkal vannak jelölve. Az 1–3. kamera az 1. sorról készít felvételt. A 4–6. kamera a 3. sorról készít felvételt. Az 1. és a 3. sor felvételeinek elkészítése után a képalkotó modul elmozdul az x-tengelyen, és felvételt készít a 2. és a 4. sorról.

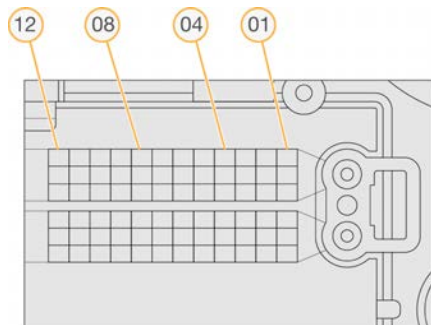
33. ábra: A kamerák és a szegmensek számozása (nagy teljesítményű áramlási cella)



Csempék számozása

Minden kameraszegmentumban minden rend 12 csempéből áll. A csempék 01–12 közötti, 2 számjegyű számokkal vannak jelölve, függetlenül a rend számától és a kameraszegmenttól.

34. ábra: Csempék számozása



Az egyes csempék teljes számozása 5 számjeggyel jelzi a csempé helyét a következő módon:

- ▶ **Felület** – Az 1-es szám a felső felületet jelzi, a 2-es az alsó felületet.
- ▶ **Rend** – 1., 2. vagy 3.

- ▶ **Kamera** – 1., 2., 3., 4., 5. vagy 6.
- ▶ **Csempe** – 01., 02., 03., 04., 05., 06., 07., 08., 09., 10., 11. és 12.

Példa: A 12508 csempeszám jelentése: felső felület, 2. sor, 5. kamera és 8. csempe.

A csempék teljes, 5 számjegű száma a miniatűr képek fájlnevében és az empirikus fázishatás-fájlok nevében használatos. További információkért lásd: *Szekvenálási kimeneti fájlok*, 57. oldal.

A szekvenálási kimeneti mappa szerkezete

A vezérlőszoftver automatikusan létrehozza a kimeneti mappa nevét.

📁 Data

📁 Intensities

📁 BaseCalls

📁 L001 – Bázisazonosító fájlok az 1. sorhoz, ciklusonként 1 fájlba összegyűjtve.

📁 L002 – Bázisazonosító fájlok a 2. sorhoz, ciklusonként 1 fájlba összegyűjtve.

📁 L003 – Bázisazonosító fájlok a 3. sorhoz, ciklusonként 1 fájlba összegyűjtve.

📁 L004 – Bázisazonosító fájlok a 4. sorhoz, ciklusonként 1 fájlba összegyűjtve.

📁 L001 – Az 1. sorhoz tartozó összesített *.locs fájl

📁 L002 – A 2. sorhoz tartozó összesített *.locs fájl

📁 L003 – A 3. sorhoz tartozó összesített *.locs fájl

📁 L004 – A 4. sorhoz tartozó összesített *.locs fájl

📁 Images

📁 Focus

📁 L001 – A 1. sorhoz tartozó fókuszfájlok

📁 L002 – A 2. sorhoz tartozó fókuszfájlok

📁 L003 – A 3. sorhoz tartozó fókuszfájlok

📁 L004 – A 4. sorhoz tartozó fókuszfájlok

📁 **InterOp** – Bináris fájlok a Sequencing Analysis Viewer (SAV) általi használatra

📁 **Logs** – Az üzemelési lépéseket leíró naplófájlok.

📁 **Recipe** – Futtatásspecifikus receptfájl, a neve a reagenskazetta azonosítója.

📁 **RTALogs** – Az elemzési lépéseket leíró naplófájlok.

📄 RTAConfiguration.txt

📄 RunInfo.xml

📄 RunNotes.xml

📄 RunParameters.xml

Leolvasási kimeneti fájlok

Fájltípus	A fájl leírása, helye és neve
GTC-fájlok	Genotípus-azonosító fájl. A BeadChipen található minden mintához egy GTC-fájl készül. A fájl neve tartalmazza a vonalkódot és a leolvasott minta nevét. [vonalkód]_[minta].gtc
Képfájlok	A képfájlok elnevezése a BeadChipen leolvasott terület alapján történik. A név tartalmazza a vonalkódot, a minta nevét, a BeadChip-szakaszát, a rendet és a képalkotási csatornát (piros vagy zöld). [vonalkód]_[minta]_[szakasz]_[rend]_[kamera]_[csempe]_[csatorna].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Vonalkód – A fájlnev a vonalkóddal kezdődik. • Minta – A BeadChip egy területe, amelynek elnevezése a sor számát (fentről lefelé) (R0X) és az oszlop számát (balról jobbra) (C0X) tartalmazza • Szakasz – Számozott sor egy mintán belül. • Rend – A BeadChipek leolvasása egymást átfedő csempek formájában történik. Ezért a szakasz leolvasása csak 1 rend használatával történik. • Kamera – A képet rögzítő kamera. • Csempe – A kamera által leképezhető képalkotási terület. • Csatorna – A csatorna piros vagy zöld.

A leolvasási kimeneti mappa szerkezete

📁 [Dátum]_[Készülék neve]_[Leolvasás száma]_[Vonalkód]

📁 [Vonalkód]

📁 Config

📄 Effective.cfg – A leolvasás során használt beállításokat tartalmazó jelentések.

📁 Focus – A leolvasás fókuszálásához használt képek.

📁 Logs – A leolvasás során végrehajtott lépéseket tartalmazó naplófájlok.

📁 PreScanDiagnosticFiles

📁 [Dátum_Idő] Barcode Scan

📄 ProcessedBarcode.jpg – A BeadChip vonalkódjának képe.

📄 Scanning Diagnostics (naplófájlok)

📄 PreScanChecks.csv – Az automatikus ellenőrzés eredményei.

📄 GTC fájlok – Genotípus-azonosítási fájlok (mintánként 1).

📄 IDAT fájlok – [Opcionális] Intenzitási adatok fájljai (mintánként 2, mindkét csatornához 1).

📄 Képfájlok – Leolvasási képek minden minta, szakasz, rend, kamera, csempe és csatorna esetén.

📄 [Vonalkód]_sample_metrics.csv

📄 [Vonalkód]_section_metrics.csv

📄 ScanParameters.xml

Tárgymutató

A

- adapter
 - áttekintés 6
 - BeadChip behelyezése 30
 - BeadChip iránya 29
- adatátvitel
 - aktivitási ikon 25
 - leolvasási adatok 32
 - run copy service 25
 - universal copy service 25
- alkatrészek
 - állapotsáv 3
 - képalkotási rekesz 3
 - pufferrekesz 3
 - reagensrekesz 3
- állapotfigyelmeztetések 5
- állapotsáv 3
- áramlási cella
 - áttekintés 7
 - csempék 57
 - csempék számozása 59
 - csomagolás 16
 - illesztőtűskék 17
 - képalkotás 59
 - rehibridizálás 44
 - rend száma 58
 - sorok számozása 58
 - sorpárok 7
 - típusok 1
 - tisztítás 16

B

- BaseSpace 1, 49
 - átviteli ikonok 25
 - bejelentkezés 17
- BaseSpace-konfiguráció 22
- bázisazonosítás 54
 - indexelési megfontolások 55
- bázisazonosító fájlok 57
- BeadChip
 - adapter 6, 29
 - behelyezés 30
 - elemzés 1
 - regisztrálás sikertelen 46
 - típusok 1
 - vonalkód iránya 29
 - vonalkód nem olvasható 46
- bekapcsológomb 5

- bemeneti fájlok, leolvasás
 - DMAP mappa 27
 - DMAP mappa, DMAP mappa letöltés 28
 - jegyzékfájlok 27, 47
 - klaszterfájlok 27, 47
- billentyűzet, hang 12
- BlueFuse Multi szoftver 1

C

- ciklusok leolvasásonként 14
- csempék számozása 59

D

- Decode File Client 27
 - hozzáférés BeadChipenként 29
 - hozzáférés fiókonként 28
- DMAP mappa
 - Decode File Client 27
- dokumentáció 2, 66

E

- elemzés
 - kimeneti fájlok 57
- elemzés, elsődleges
 - jel tisztasága 55
- elhasznált reagensek
 - hulladékkezelés 18
- empirikus fázishatás 54

F

- fázishatás, előfázishatás 54
- felhasználó által beszerzett fogyóeszközök 13
- felhasználónév és jelszó 10
- fogyóeszközök 6
 - áramlási cella 7
 - készülék karbantartása 13
 - laboratóriumi minőségű víz 13
 - mosási fogyóeszközök 34-35
 - pufferkazetta 9
 - reagenskazetta 8
 - szekvenálási futtatások 13
- fogyóeszközök kiürítése 12
- formamid, 6-os pozíció 21

- frissítési szoftver 38
- futtatás beállítása, haladó funkció 12
- futtatás előtti ellenőrzés 23, 31, 42
- futtatás időtartama 14-15
- futtatás mérőszámai 24
- futtatás utáni mosás 25
- futtatási paraméterek
 - BaseSpace-mód 22
 - különálló mód 22
 - paraméterek szerkesztése 22

G

- GTC-fájlok 61

H

- haladó betöltési funkció 12
- használt reagensek
 - ártalmatlanítás 36
 - tároló megtelt 44
- hibaelhárítás
 - alacsony minőségű mérés 44
 - BeadChip vonalkód nem olvasható 46
 - elérhetőségek 41
 - futtatás előtti ellenőrzés 42
 - futtatásra vonatkozó fájlok 41
 - használt reagensek tárolója 44
 - jegyzékfájlok és klaszterfájlok cseréje 47
 - leolvasás regisztrálásának sikertelensége 46
 - leolvasásra vonatkozó fájlok 42
- hibák és figyelmeztetések 5
 - kimeneti fájlokban 53
- hibák valószínűsége 56

I

- ikonok
 - állapot 5
 - hibák és figyelmeztetések 5
- Illumina proaktív monitorozási szolgáltatás 49
- indexelési megfontolások 55
- intenzitások 54
- InterOp-fájlok 41, 57

K

- kamerák számozása 59
- karbantartás, megelőző 34
- képalkotás, 2 csatornás szekvenálás 54

- képalkotási rekesz 3
- készülék
 - avatar 11
 - becenév 11
 - bekapcsológomb 5
 - elindítás 10
 - konfigurációs beállítások 48
 - leállítás 40
 - mód kijelzése 11
 - újraindítás 40
- készülék karbantartása
 - fogyóeszközök 13
- készülék kezelése
 - leállítás 40
- készülék leállítása 40
- készülék mosása 34
- kimeneti fájlok 57
- kimeneti fájlok, leolvasás
 - GTC, IDAT 61
- kimeneti fájlok, szekvenálás 57
- klasztergenerálás 14, 24
- klaszterhely
 - fájlok 57
 - sablonlétrehozás 53
- kompatibilitás
 - áramlási cella, reagenskazetta 6
 - RFID-követés 8
 - RFID követés 6
- Konfiguráció 49
- konfigurációs beállítások 48
- különálló konfiguráció 22

L

- laboratóriumi minőségű víz útmutatás 13
- leállítás
 - készülék 40
- leolvasás hossza 14-15
- leolvasási kimeneti fájlok
 - GTC, IDAT 61
- leolvasásonkénti ciklusok száma 14
- levegőszűrő 4, 37
- locs fájlok 57

M

- mappa helye 22
- megelőző karbantartás 34
- mérés
 - bázisazonosítás 54

- mérőszámok
 - intenzitási ciklusok 24
 - klasztersűrűségi ciklusok 24
- mosás
 - automatikus 25
 - felhasználó által beszerzett fogyóeszközök 34
 - manuális mosás 34
 - mosási összetevők 34
- munkafolyamat
 - áramlási cella 17
 - áramlási cella előkészítése 16
 - áttekintés 15, 28
 - BaseSpace-mód 22
 - BaseSpace bejelentkezés 17
 - BeadChip 30
 - elhasznált reagensek 18
 - futtatás előtti ellenőrzés 23, 31
 - futtatás időtartama 14-15
 - futtatás mérőszámai 24
 - haladó betöltési funkció 12
 - indexelési megfontolások 55
 - különálló mód 22
 - nátrium-hipoklorit 35
 - pufferkazetta 20
 - reagenskazetta 20
 - szekvenálás 53
- műszaki ügyfélszolgálat 66

N

- naplófájlok
 - GlobalLog 53
 - LaneNLog 53
- nátrium-hipoklorit, mosás 35

O

- online képzés 2

P

- Phred-algoritmus 56
- primerek rehibridizálása 44
- pufferkazetta 9, 20
- pufferrekesz 3

Q

- Q-pontszámok 56

R

- RAID-hibaüzenet 48
- reagensek
 - készlet 6
 - megfelelő ártalmatlanítás 20
- reagenskazetta
 - 28. tároló 35
 - áttekintés 8
- reagensrekesz 3
- rehibridizálás, 1. leolvasás 44
- rendek számozása 58
- rendszer felhasználonév és jelszó 10
- rendszerbeállítások 11
- RFID követés 6
- RTA2
 - hibák kezelése 53
- Run Copy Service 25
- RunInfo.xml 41, 57
- RUO mód 11

S

- sablon létrehozása 53
- sablonlétrehozás 54
- segítség, műszaki 66
- sorok számozása 58
- sorpárok 58
- súgó
 - dokumentáció 2
- szekvenálás
 - bevezetés 14
 - felhasználó által beszerzett fogyóeszközök 13
- szekvenálási munkafolyamat 53
- szoftver
 - automatikus frissítés 39
 - futtatás időtartama 14-15
 - inicializálás 10
 - képelemzés, bázisazonosítás 4
 - készüléken 4
 - konfigurációs beállítások 48
 - manuális frissítés 39
- szűrő feltételeinek megfelelő 55
- szűrő feltételeinek megfelelő klaszterek 55
- szűrőfájlok 57

T

- tápkapcsoló 10
- tisztasági szűrő 55

U

újraindítás 40
 készülék 40
újraindítás kutatási módban 11

Ü

ügyfélszolgálat 66

V

valós idejű elemzési szoftver 1
Valós idejű elemzési szoftver
 eredmények 57
 fázishatás 54
valós idejű elemző szoftver 4
 munkafolyamat 53
vezérlőszoftver 4

W

Windows
 kilépés 40

Műszaki támogatás

Ha műszaki támogatásra van szüksége, vegye fel a kapcsolatot az Illumina műszaki ügyfélszolgálatával.

Weboldal: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Az Illumina ügyfélszolgálati telefonszámai

Régió	Ingyenesen hívható	Regionális
Észak-Amerika	+1-800-809-4566	
Ausztrália	+1 800 775 688	
Ausztria	+43 800006249	+43 19286540
Belgium	+32 80077160	+32 34002973
Dánia	+45 80820183	+45 89871156
Egyesült Királyság	+44 8000126019	+44 2073057197
Finnország	+358 800918363	+358 974790110
Franciaország	+33 805102193	+33 170770446
Hollandia	+31 8000222493	+31 207132960
Hongkong	800960230	
Írország	+353 1800936608	+353 016950506
Japán	0800.111.5011	
Kína	400.066.5835	
Németország	+49 8001014940	+49 8938035677
Norvégia	+47 800 16836	+47 21939693
Olaszország	+39 800985513	+39 236003759
Spanyolország	+34 911899417	+34 800300143
Svájc	+41 565800000	+41 800200442
Svédország	+46 850619671	+46 200883979
Szingapúr	+1.800.579.2745	
Tajvan	00806651752	
Új-Zéland	0800.451.650	
Egyéb országok	+44.1799.534000	

Biztonsági adatlapok (SDS-ek) – Az Illumina support.illumina.com/sds.html címen elérhető weboldalán található.

A termék dokumentációja – PDF formátumban tölthető le az Illumina weboldaláról. Lépjen a support.illumina.com weboldalra, válasszon egy terméket, majd válassza a **Documentation & Literature** (Dokumentáció és szakirodalom) menüpontot.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (Észak-Amerikán kívül)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

**Kizárólag kutatási célokra használható.
Diagnosztikai eljárásokhoz nem használható.**

© 2018 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva.

illumina®