

NextSeq 550Dx-instrument i research-läge

Referensguide för instrumentet



Dokumentet och dess innehåll tillhör Illumina, Inc. och dess dotterbolag ("Illumina") och är endast avsett för användning enligt avtal i samband med kundens bruk av produkterna som beskrivs häri. Allt annat bruk är förbjudet. Dokumentet och dess innehåll får ej användas eller distribueras i något annat syfte och/eller återges, delges eller reproduceras på något vis utan föregående skriftligt tillstånd från Illumina. I och med detta dokument överlåter Illumina inte någon licens som hör till dess patent, varumärke eller upphovsrätt, eller i enlighet med rättspraxis eller liknande tredjepartsrättigheter.

Instruktionerna i detta dokument ska följas till punkt och pricka av kvalificerad och lämpligt utbildad personal för att säkerställa rätt och säker produktanvändning i enlighet med beskrivning häri. Hela innehållet i dokumentet ska läsas och förstås i sin helhet innan produkten (produkterna) används.

UNDERLÅTENHET ATT LÄSA OCH FÖLJA ALLA INSTRUKTIONER HÄRI I SIN HELHET KAN MEDFÖRA SKADA PÅ PRODUKTEN/PRODUKTERNA, PERSONSKADA, INKLUSIVE SKADA PÅ ANVÄNDAREN/ANVÄNDARNA ELLER ANDRA PERSONER SAMT SKADA PÅ ANNAN EGENDOM, OCH LEDER TILL ATT EVENTUELL GARANTI FÖR PRODUKTEN/PRODUKTERNA BLIR OGILTIG.

ILLUMINA KAN INTE ÅLÄGGAS NÅGOT ANSVAR SOM UPPKOMMER GENOM FELAKTIG ANVÄNDNING AV PRODUKTERNA SOM BESKRIVS HÄRI (INKLUSIVE DELAR DÄRI ELLER PROGRAM).

© 2018 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

Alla varumärken tillhör Illumina, Inc. eller respektive ägare. Specifik varumärkesinformation finns på www.illumina.com/company/legal.html.

Revisionshistorik

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000041922 v01	Mars 2018	Lade till information om tjänsten Illumina Proactive monitoring (proaktiv övervakning) i avsnittet om att anpassa systeminställningar.
Dokumentnr 1000000041922 v00	November 2017	Första version.

Innehållsförteckning

Kapitel 1 Översikt	1
Om den här handboken	1
Inledning	1
Ytterligare resurser	2
Instrumentets delar	3
Översikt över förbrukningsmaterial för sekvensering	6
Kapitel 2 Komma igång	11
Starta instrumentet	11
Anpassa systeminställningar	12
Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren	13
Kapitel 3 Sekvensering	15
Inledning	15
Arbetsflöde för sekvensering	16
Förbereda reagenskassetten	16
Förbereda flödescellen	17
Förbereda bibliotek för sekvensering	17
Ställa in en sekvenseringskörning	18
Övervaka körningsförloppet	25
Automatisk rengöring efter körning	26
Kapitel 4 Skanna	29
Inledning	29
Arbetsflöde för skanning	30
Ladda ned DMAP-mappen	30
Sätta i BeadChip-enheten i adaptorn	31
Ställa in en skanning	32
Övervaka skanningsförloppet	34
Kapitel 5 Underhåll	37
Inledning	37
Utföra en manuell rengöring	37
Byta ut luftfiltret	40
Programuppdateringar	41
Alternativ för omstart och avstängning	43
Bilaga A Felsökning	45
Inledning	45
Felsökningsfiler	45
Lösa fel vid automatisk kontroll	46
Behållaren med förbrukad reagens är full	48
Arbetsflöde för rehybridisering	48

BeadChip- och skanningsfel	50
Egna recept och receptmappar	51
RAID-felmeddelande	52
Konfigurera systeminställningar	52
Bilaga B Realtidsanalys	55
Översikt över realtidsanalys	55
Arbetsflöde för realtidsanalys	56
Bilaga C Utdatafiler och -mappar	61
Utdatafiler för sekvensering	61
Mappstruktur för sekvenseringsutdata	63
Utdatafiler för skanning	64
Mappstruktur för skanningsutdata	65
Index	67
Teknisk hjälp	71

Kapitel 1 Översikt

Om den här handboken	1
Inledning	1
Ytterligare resurser	2
Instrumentets delar	3
Översikt över förbrukningsmaterial för sekvensering	6

Om den här handboken

I den här referensguiden finns användaranvisningar för NextSeq 550Dx-instrumentet i research-läge (RUO).

Inledning

Illumina® NextSeq™ 550Dx-instrumentet är en heltäckande lösning som ger en smidig övergång mellan sekvensering med hög genomströmning och matrissskanning.

Sekvenseringsfunktioner

- ▶ **Sekvensering med hög genomströmning** – NextSeq™ 550-instrumentet möjliggör sekvensering av exom, hela genom och transkriptom och stödjer TruSeq™ - och Nextera™ -bibliotek.
- ▶ **Flödeshastigheter** – Flödeshastigheter finns i högproduktiva och medelproduktiva konfigurationer. Varje flödeshastighet kombineras med en kompatibel utfyllnad reagenskasset.
- ▶ **Analys i realtid (RTA)** – Integrerad analysprogramvara som utför dataanalyser i instrumentet, vilket innefattar bildanalys och basbestämning. NextSeq 550Dx använder en implementering av RTA som kallas RTA v2 och omfattar viktiga arkitektur- och funktionsskillnader. Mer information finns i avsnittet *Realtidsanalys* på sidan 55.
- ▶ **BaseSpace®-integration** – Sekvenseringsarbetsflödet är integrerat med BaseSpace, Illumina-genomikdatormiljön för dataanalys, lagring och samarbete. För instrument som konfigurerats för BaseSpace anges biblioteksinformation och körningsparametrar på fliken BaseSpace Prep. Körningar som konfigurerats i BaseSpace visas på instrumentgränssnittet vid körningskonfiguration. Allteftersom körningen fortskrider strömmas utdatafiler i realtid till BaseSpace eller BaseSpace Onsite.

Matrissskanningsfunktioner

- ▶ **Integrerad matrissskanning i kontrollprogram** – NextSeq 550Dx-instrumentet gör att du kan växla mellan matrissskanning och sekvensering med hög genomströmning på samma instrument och med samma kontrollprogram.
- ▶ **Utökad bildprestanda** – Bildframställningssystemet i NextSeq 550Dx-instrumentet inkluderar programvara och stadiemodifieringar som gör det möjligt att använda BeadChip-skanning på en större yta.
- ▶ **BeadChip-typer** – Kompatibla BeadChip-typer är CytoSNP-12, CytoSNP-850K och Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip-adaptör** – En återanvändbar BeadChip-adaptör underlättar inläsning av BeadChip på instrumentet.
- ▶ **Dataanalys** – Använd BlueFuse® Multi-programmet för att analysera matrisdata.

Ytterligare resurser

Följande dokument kan hämtas på Illuminas webbsida.

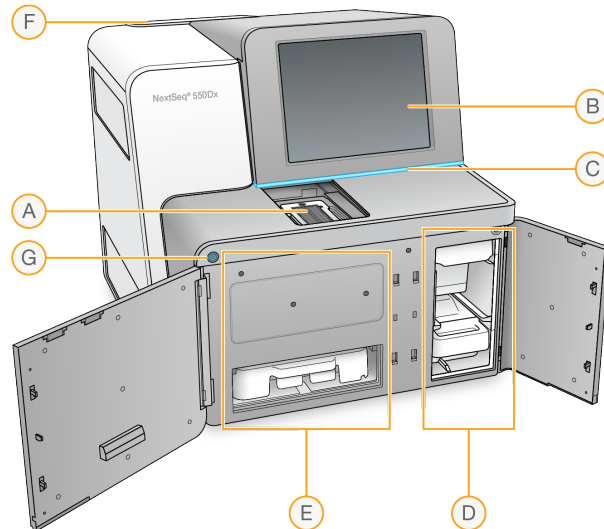
Resurs	Beskrivning
<i>Referensguide för NextSeq 550Dx-instrument (dokumentnummer 100000009513)</i>	Anvisningar för användning av instrumentet i diagnostiskt läge och tillhörande felsökningsprocedurer.
<i>Förberedelseguide för NextSeq 550Dx-instrumentets plats (dokumentnummer 100000009869)</i>	Specifikationer för laboratorietrymme, elektriska krav och miljöaspekter.
<i>Säkerhets- och efterlevnadsguide för NextSeq 550Dx-instrument (dokumentnummer 100000009868)</i>	Information om driftssäkerhet, efterlevnad och instrumentmärkning.
<i>Efterlevnadsguide för RFID-läsare (dokumentnummer 1000000030332)</i>	Tillhandahåller information om RFID-läsaren i instrumentet, efterlevnads-certifieringar och säkerhetsåtgärder.
<i>Denaturera och späda bibliotek för NextSeq-systemet (dokumentnummer 15048776)</i>	Anvisningar för denaturering och spädnings av förberedda bibliotek inför en sekvenseringskörning, samt för förberedelse av valfri PhiX-kontroll. Detta steg gäller för de flesta typer av bibliotek.
<i>NextSeq-guide för anpassade primrar (dokumentnummer 15057456)</i>	Information om användning av anpassade sekvenseringsprimrar istället för Illuminas sekvenseringsprimrar.
<i>Hjälp för BaseSpace (help.basespace.illumina.com)</i>	Information om användning av BaseSpace [®] och tillgängliga alternativ för analys.

Besök [supportsidan för NextSeq 550Dx-instrumentet](#) på Illuminas webbplats för att få tillgång till dokumentation, programnedladdningar, onlineutbildning och vanliga frågor och svar.

Instrumentets delar

NextSeq 550Dx-instrumentet omfattar en pekskärm, en statusrand och fyra olika enheter.

Bild 1 Instrumentets delar



- A **Avbildningsenhet** – Inrymmer flödescellen för sekvensering eller BeadChip-adaptorn för skanning.
- B **Pekskärm** – Möjliggör konfiguration och inställningar direkt på instrumentet via kontrollprogrammets gränssnitt.
- C **Statusrand** – Visar instrumentets status som bearbetar (blå), åtgärd krävs (orange) eller klar för sekvensering (grön).
- D **Buffertfack** – Inrymmer buffertkassetten och behållaren med förbrukad reagens.
- E **Reagensfack** – Inrymmer reagenskassetten.
- F **Luftfilterfack** – Inrymmer luftfiltret. Du kommer åt filtret från instrumentets baksida.
- G **Strömknapp** – Slår på och av instrumentet och instrumentdatorn.

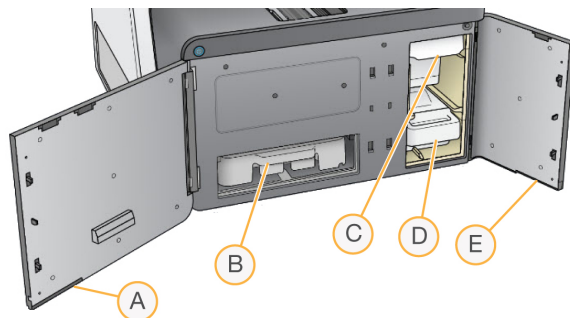
Avbildningsenheten

I avbildningsenheten finns steget, vilket omfattar tre inpassningsstift för positionering av flödescellen vid sekvensering eller BeadChip-adaptorn vid skanning. När flödescellen eller BeadChip-adaptorn har satts i stängs avbildningsenhetens lucka automatiskt och komponenterna flyttas till rätt läge.

Reagens- och buffertfacken

För att ställa in en sekvenseringskörning på NextSeq 550Dx-instrumentet måste du kunna komma åt reagensfacket och buffertfacket så att du kan fylla på med förbrukningsmaterial inför körningen och tömma behållaren med förbrukad reagens.

Bild 2 Reagens- och buffertfacken



- A **Lucka till reagensfacket** – Stänger reagensfacket med en spärr som sitter nere till höger på luckan. I reagensfacket finns reagenskassetten.
- B **Reagenskassett** – Reagenskassetten är en förfylld engångsprodukt.
- C **Buffertkassett** – Buffertkassetten är en förfylld engångsprodukt.
- D **Behållare med förbrukad reagens** – Förbrukade reagenser samlas in för kassering efter varje körning.
- E **Lucka till buffertfacket** – Stänger buffertfacket med en spärr som sitter nere till vänster på luckan.

Luftfilterfack

Luftfiltret sitter i luftfilterfacket på instrumentets baksida. Byt ut luftfiltret var 90:e dag. Information om byte av filtret finns i [Byta ut luftfiltret på sidan 40](#).






NextSeq 550Dx-programmet

Instrumentprogrammet inkluderar integrerade applikationer som utför sekvenseringskörningar eller matrisskanning.

- ▶ **NextSeq-kontrollprogram (NCS)** – Kontrollprogrammet vägleder dig genom stegen för att konfigurera en sekvenseringskörning eller en matrisskanning.
- ▶ **Programvara för analys i realtid (RTA)** – För sekvenseringskörning utför RTA bildanalys och basbestämning under körningen. NextSeq 550Dx-instrumentet använder RTA v2, som omfattar viktiga arkitektur- och funktionsskillnader jämfört med tidigare versioner. Mer information finns i avsnittet [Realtidsanalys på sidan 55](#).

Statusikoner

En statusikon i kontrollens övre högra hörn visar ändringar av förhållanden under körningskonfiguration eller under körningen.

Statusikon	Statusnamn	Beskrivning
	Status OK	Systemet är normalt.
	Processing (bearbetar)	Systemet bearbetar.
	Warning (varning)	En varning har utlöst. Varningar stoppar inte en körning eller behöver åtgärdas innan du fortsätter.
	Error (fel)	Ett fel har inträffat. Fel måste åtgärdas innan du fortsätter med körningen.
	Service Needed (service krävs)	Ett meddelande som kräver uppmärksamhet har inträffat. Se meddelandet för mer information.

Ikonen blinkar när ett tillstånd förändras. Välj ikonen för att se en beskrivning av tillståndet. Välj **Acknowledge** (bekräfta) för att ta emot meddelandet och **Close** (stäng) för att stänga dialogrutan.

OBS!

Ikonen återställs när du bekräftar meddelandet, och det tonas ned. Meddelandet är fortfarande synligt för användaren om de väljer ikonen, men försvinner när NCS startas om.

Strömknapp

Med strömknappen på framsidan av NextSeq 550Dx slår du på strömmen till instrumentet och instrumentdatorn. Strömknappen utför olika åtgärder beroende på instrumentets strömstatus. Se tabellen nedan. Som standard startar NextSeq 550Dx i diagnostiskt läge.

Information om att stänga av instrumentet finns i [Stänga av instrumentet på sidan 43](#).

Strömstatus	Åtgärd
Instrumentets ström är av	Tryck kort på knappen för att slå på strömmen.
Instrumentets ström är på	Tryck kort på knappen för att slå av strömmen. En dialogruta visas på skärmen för bekräftelse av normal instrumentavstängning.
Instrumentets ström är på	Håll strömknappen intryckt i 10 sekunder för att tvinga instrumentet och instrumentdatorn att stängas av. Använd den här avstängningsmetoden endast om instrumentet inte svarar.

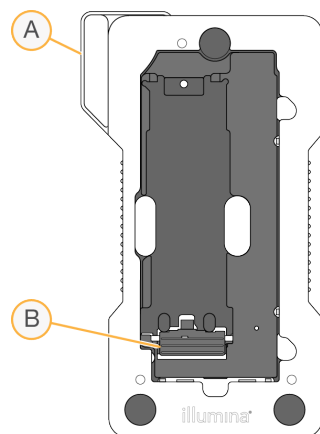
OBS!

Körningen avslutas omedelbart om instrumentet stängs av under en sekvenseringskörning. Att avsluta en körning är en slutgiltig åtgärd. Förbrukningsmaterial som använts kan inte återanvändas och sekvenseringsdata från körningen sparas inte.

Översikt över den återanvändbara BeadChip-adaptorn

Den återanvändbara BeadChip-adaptorn håller ett BeadChip under skanning. Detta BeadChip hålls fast i det lilla facket i adaptorn med hjälp av en fästklämma. BeadChip-adaptorn placeras sedan i steget inuti avbildningsenheten.

Bild 3 Återanvändbar BeadChip-adapter



- A BeadChip-adapter
- B Fästklämma

Översikt över förbrukningsmaterial för sekvensering

För sekvenseringskörning på NextSeq 550Dx-instrumentet i research-läge krävs ett NextSeq 500/550-kit för engångsbruk eller NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit. Varje kit innehåller en flödescell och de reagenser som krävs för en sekvenseringskörning.

Flödescellen, reagenskassetten och buffertkassetten använder radiofrekvensidentifiering (RFID) för exakt spårning av förbrukningsmaterial och kompatibilitet.



OBS!



Förvara förbrukningsmaterial för sekvensering i deras förpackningar tills de ska användas.

Om du använder ett NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit för en körning i research-läge måste samtliga komponenter vara från ett och samma kit (med samma lotnummer). Ett NextSeq 500/550-kit kan inte användas för körning i diagnostiskt läge.

Kompatibilitetsmärkning av kitdelar

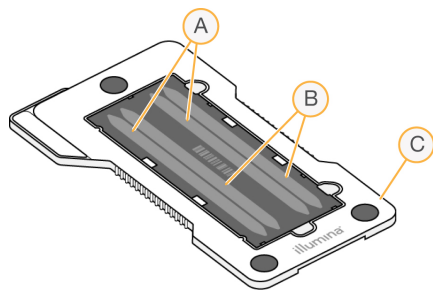
Komponenterna i kitet är färgmärkta för att visa kompatibilitet mellan flödesceller och reagenskassetter. Använd alltid en kompatibel reagenskasset och flödescell. Buffertkassetten är universell.

Varje flödescell och reagenskasset är märkt **High** (hög) eller **Mid** (medel). Titta alltid på etiketten när du förbereder förbrukningsmaterial för en körning.

Typ av kit	Märkning på etiketten
Komponenter i högproduktiva kit	
Komponenter i medelproduktiva kit	

Översikt över flödescellen

Bild 4 Flödescellskasset



- A Spårpar A – spår 1 och 3
- B Spårpar B – spår 2 och 4
- C Flödescellskassetten

Flödescellen är ett glasbaserat substrat på vilket kluster genereras och sekvenseringsreaktionen äger rum. Flödescellen är innesluten i en flödescellskasset.

Flödescellen innehåller fyra spår som avbildas i par.

- ▶ Spår 1 och 3 (spårpar A) avbildas samtidigt.
- ▶ Spår 2 och 4 (spårpar B) avbildas när avbildningen av spårpar A är klar.

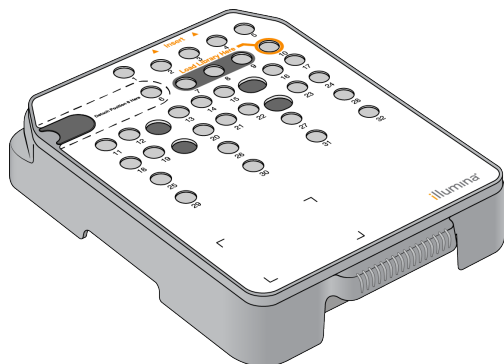
Flödescellen har förvisso fyra spår, men endast ett bibliotek eller en uppsättning poolade bibliotek sekvenseras på flödescellen. Biblioteken laddas på reagenskassetten från samma behållare och överförs automatiskt till alla fyra spår på flödescellen.

Varje spår avbildas i små avbildningsområden som kallas plattor. Mer information finns i [Flödescellens plattor på sidan 61](#).

Översikt över reagenskassetten

Reagenskassetten är en engångsprodukt med RFID-spårning och folieförseglade behållare som är förfyllda med klustrings- och sekvenseringsreagenser.

Bild 5 Reagenskassetten



Reagenskassetten har en särskild behållare för laddning av förberedda bibliotek. När körningen börjar överförs biblioteken automatiskt från behållaren till flödescellen.

Flera behållare är reserverade för den automatiska rengöringen efter körning. Tvättlösning pumpas från buffertkassetten till de reserverade behållarna genom systemet och sedan till behållaren med förbrukad reagens.

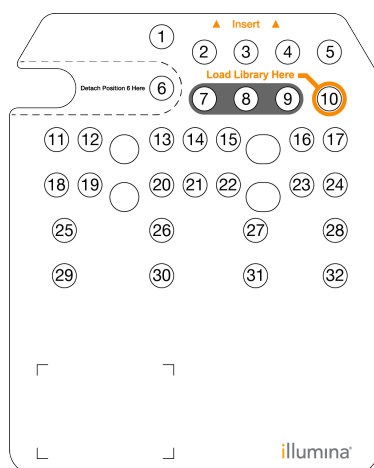


VARNING

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

Reserverade behållare

Bild 6 Numrerade behållare



Position	Beskrivning
7, 8 och 9	Reserverade för anpassade primrar (valfritt)
10	Ladda bibliotek

Information om anpassade primrar finns i *NextSeq-guide för anpassade primrar* (dokumentnummer 15057456).

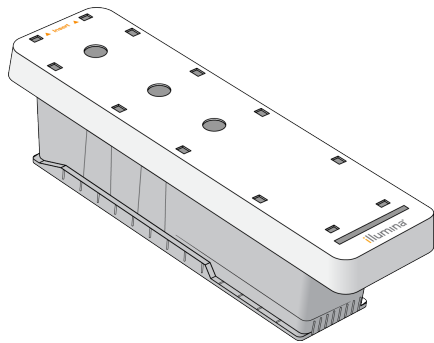
Löstagbar behållare i position 6

I position 6 i den förfyllda reagenskassetten finns denatureringsreagens som innehåller formamid. Behållaren i position 6 kan tas bort för att underlätta en säker kassering av eventuellt oanvänd reagens efter sekvenseringskörningen. Mer information finns i *Ta bort behållaren som använts från position 6 på sidan 22*.

Översikt över buffertkassetten

Buffertkassetten är en engångsprodukt med tre behållare som är förfyllda med buffertar och tvättlösning. Innehållet i buffertkassetten räcker till sekvensering av en flödescell.

Bild 7 Buffertkassett



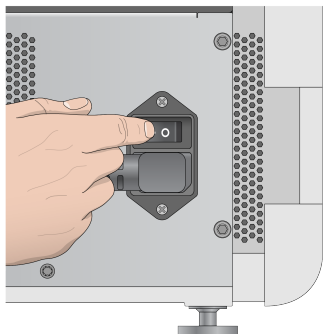
Kapitel 2 Komma igång

Starta instrumentet	11
Anpassa systeminställningar	12
Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren	13

Starta instrumentet

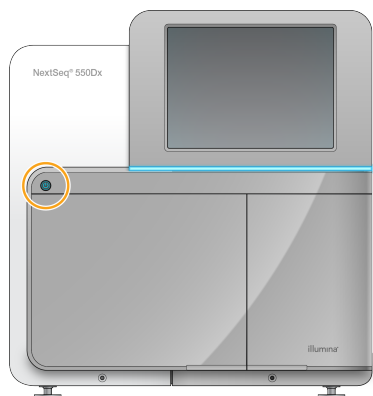
Ställ strömbrytaren på I (på).

Bild 8 Strömbrytare på instrumentets baksida



- 1 Tryck på strömknappen ovanför reagensfacket. Med strömknappen slår du på ström till instrumentet och den integrerade datorn och programvaran i instrumentet startar. Som standard startar instrumentet i diagnostiskt läge.

Bild 9 Strömknapp på instrumentets framsida



- 2 Vänta tills operativsystemet har lästs in. NextSeq 550Dx-systemprogramvaran (NOS) startar och systemet sätts automatiskt igång. Därefter öppnas skärmen Home (start).
- 3 Ange användarnamn och lösenord för Local Run Manager (lokal körningshanterare). Information om lösenord för Local Run Manager (lokal körningshanterare) finns i *Referensguide för NextSeq 550Dx-instrument (dokumentnummer 100000009513)*.
- 4 Välj **Login** (logga in). Skärmen Home (start) öppnas, med ikonerna Sequence (sekvens), Local Run Manager (lokal körningshanterare), Manage Instrument (hantera instrument) and Perform Wash (utför rengöring).

- 5 Använd kommandot Reboot to RUO (starta om till RUO) i NOS för att säkert stänga av instrumentet och starta om till research-läge.
 - ▶ Välj **Manage Instrument** (hantera instrument).
 - ▶ Välj **Reboot / Shut Down** (starta om/stäng av).
 - ▶ Välj **Reboot to RUO** (starta om till RUO).
- 6 Vänta tills operativsystemet har lästs in. NCS startar och systemet sätts automatiskt igång. Därefter öppnas skärmen Home (start).
- 7 Om systemet har konfigurerats så att inloggningsuppgifter krävs ska du logga in på Windows med centrets användarnamn och lösenord.



OBS!

Se *Indikatorer för instrumentläge* om du är osäker på vilket läge instrumentet är i.

Indikatorer för instrumentläge

Tabellen nedan innehåller de indikatorer för instrumentläge som förekommer på NCS- eller NOS-skärmen. Information om att byta från research-läge till diagnostiskt läge finns i *Alternativ för omstart och avstängning på sidan 43*.

Läge	Startskärmen	Färgfältet	Statusikonens orientering
Diagnostiskt läge	Välkommen till NextSeqDx	Blå	Vågrät
Research-läge	Välkommen till NextSeq	Orange	Lodrät

Anpassa systeminställningar

I kontrollprogrammet kan följande systeminställningar göras:

- ▶ indataalternativ
- ▶ ljudinställningar
- ▶ instrumentets namn
- ▶ körningsalternativ
- ▶ tömning av oanvända reagenser.

Ställa in instrumentbild och kortnamn

- 1 Välj **System Customization** (systemanpassning) på skärmen Manage Instrument (hantera instrument).
- 2 Om du vill ge instrumentet en egen bild trycker du på **Browse** (bläddra) och väljer önskad bild.
- 3 I fältet Nick Name (kortnamn) kan du ange valfritt namn för instrumentet.
- 4 Tryck på **Save** (spara) för att spara inställningarna och lämna skärmen. Bilden och namnet visas högst upp till vänster på varje skärm.

Ställa in tangentbordsalternativet och ljudsignaler

- 1 Välj **System Customization** (systemanpassning) på skärmen Manage Instrument (hantera instrument).
- 2 Markera kryssrutan **Use on-screen keyboard** (använd skärmtangentbordet) för att aktivera skärmtangentbordet för inmatning i instrumentet.
- 3 Markera kryssrutan **Play audio** (spela ljud) för att aktivera ljudsignaler för följande händelser:

- ▶ när instrumentet startas
- ▶ när en körning startas
- ▶ när vissa fel uppstår
- ▶ när interaktion från användaren krävs
- ▶ när en körning är klar.

4 Tryck på **Save** (spara) för att spara inställningarna och lämna skärmen.

Ställa in körningsalternativ

- 1 Välj **System Customization** (systemanpassning) på skärmen Manage Instrument (hantera instrument).
- 2 Markera kryssrutan **Use Advanced Load Consumables** (använd avancerad laddning av förbrukningsmaterial) för att aktivera alternativet att ladda allt förbrukningsmaterial till körningen från en enda skärm.
- 3 Markera kryssrutan **Skip Pre-Run Check Confirmation** (hoppa över bekräftelse före körning) för att automatiskt påbörja sekvensering eller skanning efter genomförd automatisk kontroll.
- 4 Tryck på **Save** (spara) för att spara inställningarna och lämna skärmen.

Ställa in automatisk tömning

- 1 Välj **System Customization** (systemanpassning) på skärmen Manage Instrument (hantera instrument).
- 2 Markera kryssrutan **Purge Consumables at End of Run** (töm förbrukningsmaterial efter körningen) för att automatiskt tömma oanvända reagenser i behållaren med förbrukad reagens efter varje körning.



OBS!

Automatisk tömning av förbrukningsmaterial innebär att arbetsflödet tar längre tid.

- 3 Tryck på **Save** (spara) för att spara inställningarna och lämna skärmen.

Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren

Följande förbrukningsmaterial och utrustning används för förberedelse av förbrukningsmaterial, sekvensering och instrumentunderhåll.

Förbrukningsmaterial för sekvenseringskörning som tillhandahålls av användaren

Förbrukningsmaterial	Tillverkare	Användningsområde
1 N NaOH (natriumhydroxid)	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Biblioteksdenaturering, spädd till 0,2 N
200 mM Tris-HCl, pH7	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Biblioteksdenaturering
Spritsuddar, 70 % isopropyl eller 70 % etanol	WWR, artikelnummer 95041-714 (eller likvärdig) Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Rengöring av flödescell samt allmänna ändamål
Laboratorietrasa, luffdfri	WWR, artikelnummer 21905-026 (eller likvärdig)	Rengöring av flödescell samt allmänna ändamål

Förbrukningsmaterial för instrumentunderhåll som tillhandahålls av användaren

Förbrukningsmaterial	Tillverkare	Användningsområde
NaOCl, 5 % (natriumhypoklorit)	Sigma-Aldrich, artikelnummer 239305 (eller likvärdig produkt av laboratoriekvalitet)	Rengöring av instrumentet med hjälp av manuell rengöring efter en körning, spädd till 0,12 %.
Tween 20	Sigma-Aldrich, artikelnummer P7949	Rengöring av instrumentet med hjälp av alternativ för manuell rengöring, spädd till 0,05 %.
Vatten av laboratoriekvalitet	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Rengöring av instrument (manuell rengöring).
Luftfilter	Illumina, artikelnummer 20022240	Rengöring av luften som instrumentet tar in för kylning.

Riktlinjer för vatten av laboratoriekvalitet

Använd alltid vatten av laboratoriekvalitet eller avjoniserat vatten för att utföra instrumentprocedurer. Använd aldrig kranvatten. Använd endast vatten av följande kvaliteter eller likvärdiga:

- ▶ avjoniserat vatten
- ▶ Illumina PW1
- ▶ vattenkvalitet 18 megaohm (MΩ)
- ▶ Milli-Q-vatten
- ▶ Super-Q-vatten
- ▶ vatten av molekylärbiologisk kvalitet.

Utrustning som tillhandahålls av användaren

Artikel	Källa
Frostfri frys, -25 °C till -15 °C	Valfri leverantör av laboratorieutrustning
Kylskåp, 2 °C till 8 °C	Valfri leverantör av laboratorieutrustning

Kapitel 3 Sekvensering

Inledning	15
Arbetsflöde för sekvensering	16
Förbereda reagenskassetten	16
Förbereda flödescellen	17
Förbereda bibliotek för sekvensering	17
Ställa in en sekvenseringskörning	18
Övervaka körningsförloppet	25
Automatisk rengöring efter körning	26

Inledning

När du ska utföra en sekvenseringskörning på NextSeq 550Dx-instrumentet förbereder du en reagenskassetten och en flödescell och följer sedan anvisningarna i programmet för att konfigurera och starta körningen. Klustergenerering och -sekvensering utförs på instrumentet. Efter körningen startas automatiskt en instrumentrengöring med hjälp av de komponenter som redan har laddats i instrumentet.

Klustergenerering

Under klustergenerering binds enskilda DNA-molekyler till ytan på flödescellen, och förstärks sedan för att bilda kluster.

Sekvensering

Klustren avbildas med tvåkanalig sekvenseringskemi och filterkombinationer som är specifika för varje fluorescensmärkt nukleotid. Nästa ruta avbildas när avbildningen av en ruta på flödescellen är klar. Processen upprepas för varje sekvenseringscykel. Efter bildanalysen utför programmet basbestämning, filtrering och kvalitetsbedömning.

Övervaka körningens förlopp och statistik från kontrollprogrammets gränssnitt, från fliken Run (kör) på BaseSpace eller från en nätverksansluten dator med Sequencing Analysis Viewer-programmet (SAV). Se *Sequencing Analysis Viewer* på sidan 26.

Analys

Allteftersom körningen fortskrider, överför kontrollprogrammet automatiskt basbestämningsfiler (BCL) till BaseSpace eller den angivna utdataplatsen för sekundär analys.

Flera analysmetoder finns tillgängliga beroende på programmet. Se *Hjälp för BaseSpace* (help.basespace.illumina.com) för mer information.

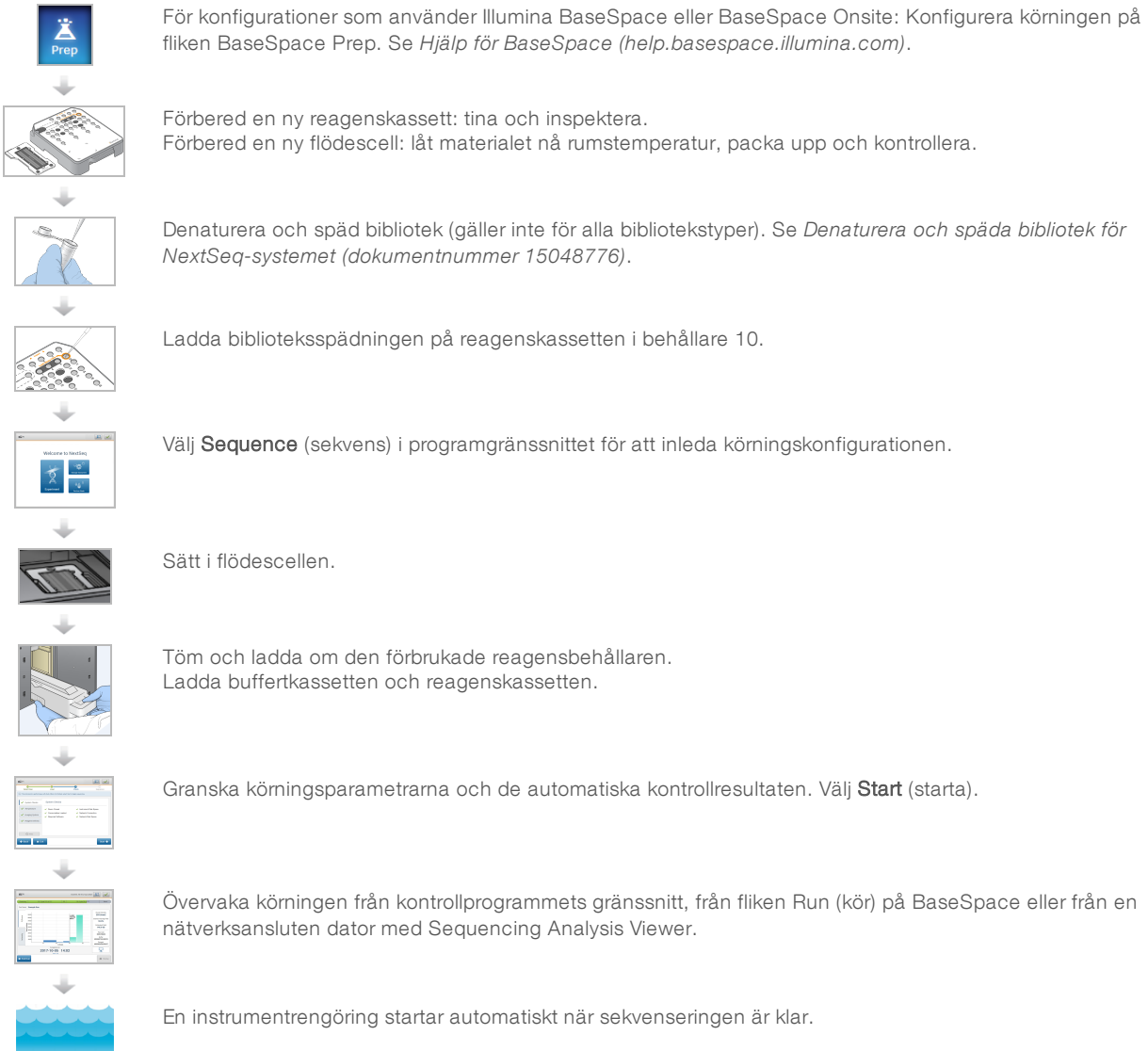
Sekvenseringskörningens längd

Sekvenseringskörningens längd beror på hur många cykler som utförs. Den maximala körningslängden är en paired-end-körning med 150 cykler i varje läsning (2 x 150), plus upp till 8 cykler vardera för 2 indexläsningar.

Antal cykler i en läsning

I en sekvenseringskörning är antalet cykler som utförs i en läsning en cykel mer än antalet cykler som analyseras. Till exempel utför en paired-end-körning med 150 cykler läsningar av 151 cykler (2 x 151), alltså totalt 302 cykler. I slutet av körningen analyseras 2 x 150 cykler. Den extra cykeln krävs för fasnings- och förfasningsberäkningar.

Arbetsflöde för sekvensering



Förbereda reagenskassetten

Följ anvisningarna för reagenskassetten noga för att uppnå en lyckad sekvensering.

- 1 Ta fram reagenskassetten från förvaringen vid -25 °C till -15 °C .
- 2 Välj en av metoderna nedan för att tina upp reagenserna. Sänk inte ned kassetten i någon vätska. När kassetten tinat ska den torkas torr före nästa steg.

Temperatur	Tid för upptining	Stabilitetsgräns
Vattenbad, 15 °C till 30 °C	60 minuter	Får inte överskrida 6 timmar
2 °C till 8 °C	7 timmar	Får inte överskrida 5 dagar



OBS!

Om mer än en kasset tinas upp i samma vattenbad ska tiden för upptining förlängas.

- 3 Vänd kassetten 5 gånger för att blanda reagenserna.
- 4 Kontrollera kassetten botten för att säkerställa att reagenserna är tinade och fria från fällningar. Kontrollera att positionerna 29, 30, 31 och 32 är tinade eftersom de är de största och tar längst tid att tina.
- 5 Knacka försiktigt kassetten i bänken för att minska mängden luftbubblor. Fortsätt direkt med att ladda provet och förbereda körningen för bästa resultat.



VARNING

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

Förbereda flödescellen

- 1 Ta fram en ny flödescellförpackning från förvaringen vid 2 °C till 8 °C.
- 2 Låt den uppackade flödescellen ligga i rumstemperatur i 30 minuter.



OBS!

Om folieförpackningen är obruten kan flödescellen förvaras i rumstemperatur i upp till 12 timmar. Undvik upprepad nedkylning och uppvärmning av flödescellen.

Förbereda bibliotek för sekvensering

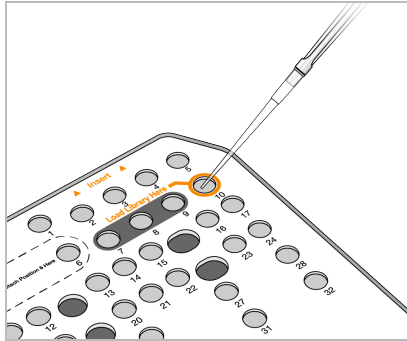
Denaturera och späda bibliotek

Denaturera och späda biblioteken till en laddningsvolym på 1,3 ml och en laddningskoncentration på 1,8 pM. I praktiken kan laddningskoncentrationen variera beroende på vilka metoder för beredning av bibliotek och kvantifiering som används. Anvisningar finns i *Guiden till att denaturera och späda bibliotek för NextSeq-systemet* (dokumentnummer 15048776).

Ladda bibliotek på reagenskassetten

- 1 Rengör folieförseglingen som täcker behållare nr 10 märkt **Load Library Here** (ladda bibliotek här) med en luddfri duk.
- 2 Stick hål på förseglingen med en ren 1 ml pipettspets.
- 3 Ladda 1,3 ml förberedda 1,8 pM bibliotek i behållare nr 10 märkt **Load Library Here** (ladda bibliotek här). Undvik att vidröra folieförseglingen vid dispensering av biblioteken.

Bild 10 Ladda bibliotek



Ställa in en sekvenseringskörning

- 1 Välj **Experiment** (experimentera) och sedan **Sequence** (sekvens) på skärmen Home (start). Med kommandot Sequence (sekvens) öppnas avbildningsenhetens lucka, förbrukningsmaterialet från föregående körning tappas ut och en serie skärmar för körningsinställning visas. En kort fördröjning är normalt.

Om instrumentet är konfigurerat för BaseSpace ombeds du att logga in i BaseSpace. Om instrumentet är konfigurerat för fristående läge är nästa steg att fylla på flödescellen.

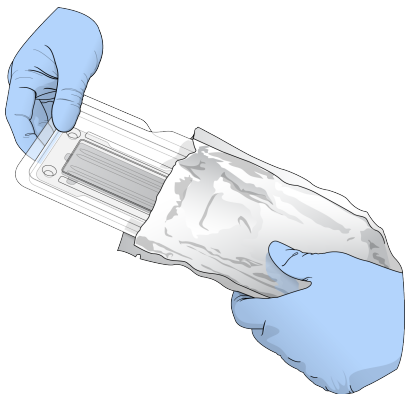
Logga in på BaseSpace

- 1 Ange användarnamn och lösenord för BaseSpace.
- 2 Tryck på **Next** (nästa).

Sätta i flödescellen

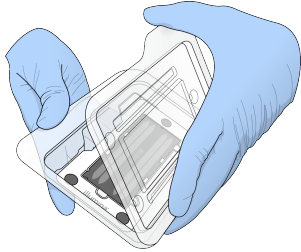
- 1 Ta ut den använda flödescellen från en tidigare körning.
- 2 Ta ut flödescellen ur folieförpackningen.

Bild 11 Ta bort folieförpackningen



- 3 Öppna den genomskinliga blisterförpackningen i plast och ta ut flödescellen.

Bild 12 Ta bort plastförpackningen



- 4 Rengör flödescellens glasyta med en luddfri spritsudd. Torka glasytan torr med en luddfri laborietrasa.

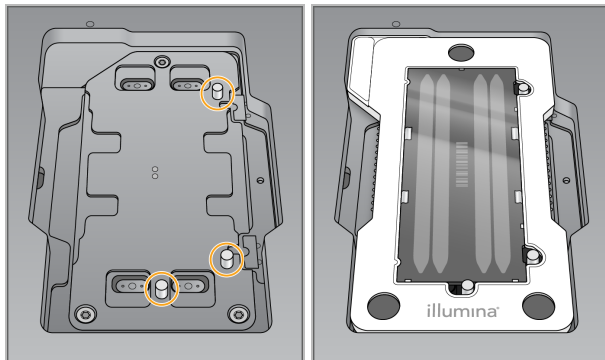


OBS!

Säkerställ att flödescellens glasyta är ren. Upprepa rengöringssteget vid behov.

- 5 Passa in flödescellen över inpassningsstiften och placera flödescellen på steget.

Bild 13 Sätta i flödescellen



- 6 Tryck på **Load** (ladda).
Luckan stängs automatiskt, flödescellens id visas på skärmen och sensorerna kontrolleras.



OBS!

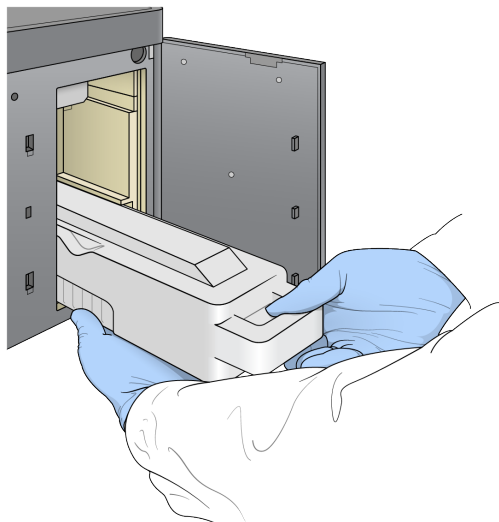
Håll händerna borta från flödescellens lucka när den stängs så att du inte klämmer dig.

- 7 Välj **Next** (nästa).

Töm behållaren med förbrukad reagens

- 1 Öppna buffertfackets spärr som sitter nere till vänster bakom luckan.
- 2 Ta ut behållaren med förbrukad reagens och kassera innehållet enligt gällande standarder.

Bild 14 Ta ur behållaren med förbrukad reagens



OBS!

När du tar ur behållaren ska du hålla den andra handen under som stöd.

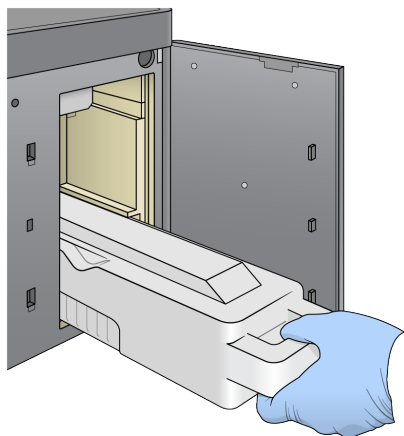


VARNING

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

- 3 För tillbaka den tomma reagensbehållaren in i buffertfacket tills det tar emot. Ett klickljud indikerar att behållaren sitter på plats.

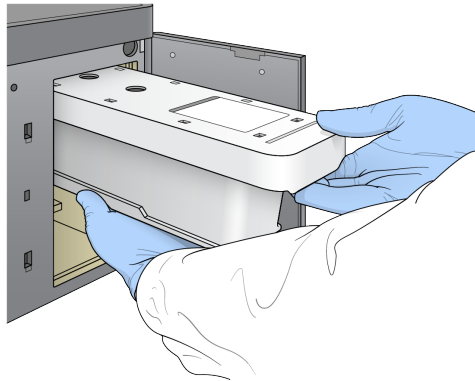
Bild 15 Sätt in den tomma behållaren för förbrukad reagens



Sätta i buffertkassetten

- 1 Ta ut den förbrukade buffertkassetten ur det övre facket.
Ett visst mått av kraft behövs för att lyfta upp och dra ur buffertkassetten.
- 2 För in en ny buffertkassett i buffertfacket tills det tar emot.
Ett klickljud indikerar att kassetten sitter på plats. Buffertkassetten id visas på skärmen och sensorn kontrolleras.

Bild 16 Sätta i buffertkassetten



- 3 Stäng luckan till buffertfacket och tryck på **Next** (nästa).

Sätta i reagenskassetten

- 1 Öppna reagensfackets spärr som sitter nere till höger bakom luckan.
- 2 Ta ut den förbrukade reagenskassetten ur reagensfacket. Kassera oanvänt innehåll enligt gällande standarder.



VARNING

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

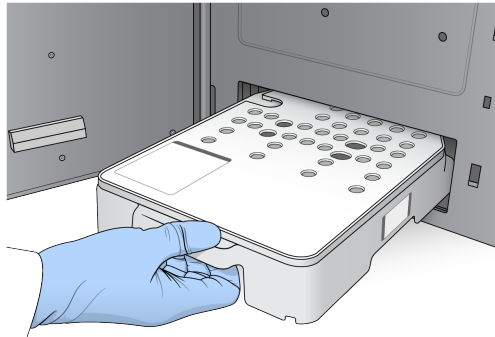


OBS!

Behållaren i position 6 kan tas bort för att underlätta säker kassering av oanvänd reagens. Mer information finns i *Ta bort behållaren som använts från position 6* på sidan 22.

- 3 För in reagenskassetten i reagensfacket så långt det går, och stäng sedan reagensfackets lucka.

Bild 17 Sätt i reagenskassetten

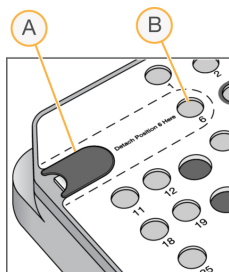


- 4 Tryck på **Load** (ladda).
Programvaran flyttar automatiskt kassetten till rätt läge (ca 30 sekunder), reagenskassetten id visas på skärmen och sensorerna kontrolleras.
- 5 Välj **Next** (nästa).

Ta bort behållaren som använts från position 6

- 1 När du har tagit bort den **förbrukade** reagenskassetten från instrumentet tar du bort det skyddande gummihöljet från skåran bredvid position 6.

Bild 18 Uttagbar position 6



- A Skyddande gummihölje
- B Position 6

- 2 Tryck ned fliken i genomskinlig plast och för den åt vänster för att lossa behållaren.
- 3 Kassera behållaren enligt gällande standarder.

Ange körningsparametrar

Stegen på skärmen Run Setup (körningsinställning) varierar beroende på systemkonfiguration:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace eller BaseSpace på plats) – På skärmen Run Setup (körningsinställning) visas en lista över körningar som har ställts in på fliken Prep (förberedelse) i BaseSpace. Om den avsedda körningen inte visas på skärmen Run Setup (körningsinställning) kontrollerar du att körningen är markerad för sekvensering i BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (fristående) – Skärmen Run Setup (körningsinställning) innehåller fält för definition av körningsparametrar.

Välja tillgänglig körning (BaseSpace-konfiguration)

- 1 Välj ett namn i listan över tillgängliga körningar.
Använd upp- och nedpilarna för att bläddra i listan eller ange ett körningsnamn i fältet Search (sök).
- 2 Välj **Next** (nästa).
- 3 Bekräfta körningsparametrar.
 - ▶ **Run name** (körningsnamn) – namn på körningen i BaseSpace.
 - ▶ **Library-ID** (biblioteks-id) – namn på de poolade biblioteken i BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (recept) – namn på receptet, antingen **NextSeq High** (NextSeq hög) eller **NextSeq Mid** (NextSeq medel) beroende på vilken reagenskasset som används i körningen.
 - ▶ **Read Type** (typ av läsning) – enkel läsning eller paired end.
 - ▶ **Read Length** (läsningslängd) – antal cykler för varje läsning.
 - ▶ **[Valfritt]** Anpassade primrar, om tillämpligt.
- 4 **[Valfritt]** Välj knappen **Edit** (redigera) för att ändra körningsparametrar. När du är klar väljer du **Save** (spara).
 - ▶ **Run parameters** (körningsparametrar) – Ändra antalet läsningar eller antal cykler per läsning.
 - ▶ **Custom primers** (anpassade primrar) – Ändra inställningar för anpassade primrar. Mer information finns i *NextSeq-guide för anpassade primrar (dokumentnummer 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (rensa bort förbrukningsmaterial för denna körning) – Ändra inställningen för att automatiskt rensa bort förbrukningsmaterial efter den aktuella körningen.
- 5 Välj **Next** (nästa).

Ange körningsparametrar (fristående konfiguration)

- 1 Ange önskat körningsnamn.
- 2 **[Valfri]** Ange önskat biblioteks-id.
- 3 Välj typ av läsning, antingen **Single Read** (enkel läsning) eller **Paired End**.
- 4 Ange antalet cykler för varje läsning i sekvenseringskörningen.
 - ▶ **Read 1 (läsning 1)** – Ange ett värde på upp till 151 cykler.
 - ▶ **Index 1** – Ange hur många cykler som krävs för index 1-primern (i7).
 - ▶ **Index 2** – Ange hur många cykler som krävs för index 2-primern (i5).
 - ▶ **Read 2 (läsning 2)** – Ange ett värde på upp till 151 cykler. Detta värde brukar vanligtvis vara samma antal cykler som i läsning 1.

I kontrollprogrammet bekräftas de värden du angett enligt följande kriterier:

 - ▶ Totalt antal cykler överskrider inte det högsta antalet tillåtna cykler
 - ▶ Cykler för läsning 1 överstiger de fem cykler som används för mallgenerering
 - ▶ Indexläsningscyklar överskrider inte läsning 1- och läsning 2-cyklerna
- 5 **[Valfritt]** Om du använder anpassade primrar markerar du kryssrutan för de primrar som används. Mer information finns i *NextSeq-guide för anpassade primrar (dokumentnummer 15057456)*.
 - ▶ **Read (läsning 1)** – Anpassad primer för läsning 1.
 - ▶ **Index 1** – Anpassad primer för index 1.
 - ▶ **Index 2** – Anpassad primer för index 2.
 - ▶ **Read (läsning 2)** – Anpassad primer för läsning 2.

- 6 **[Valfritt]** Välj knappen **Advanced Settings** (avancerade inställningar)  för att ändra körningsparametrar.
- ▶ Välj ett recept i den nedrullningsbara listan Receipt (recept). Endast kompatibla recept räknas upp.
 - ▶ **Output folder location** (utdatamappens plats) – Ändra utdatamappens plats för den aktuella körningen. Välj **Browse** (bläddra) för att navigera till en nätverksplats.
 - ▶ **Included file** (inkluderad fil) – Välj vilka filer som ska ingå i utdatamappen – dessa kan vara användbara om ytterligare analys krävs, till exempel manifestfiler och provlistor.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (rensa bort förbrukningsmaterial för denna körning) – ändra inställningen för att automatiskt rensa bort förbrukningsmaterial efter den aktuella körningen.
 - ▶ **Use run monitoring for this run** (använd körningsövervakning för denna körning) – ändra inställningen för att använda körningsövervakning i BaseSpace.
- 7 Välj **Next** (nästa).

Granska kontrollen före körning

I programmet utförs automatiskt en kontroll av systemet före körning. Under kontrollen visas följande indikatorer på skärmen:

- ▶ **Grå bock** – Kontrollen har ännu ej genomförts.
- ▶ **Förloppsikon**  – Kontrollen pågår.
- ▶ **Grön bock** – Kontrollen godkänd.
- ▶ **Rött X** – Kontrollen är inte godkänd. En åtgärds krävs för alla objekt som inte klarade kontrollen innan du kan fortsätta. Se [Lös fel vid automatisk kontroll på sidan 46](#).

Om du vill avbryta en pågående automatisk kontroll väljer du knappen **Cancel** (avbryt). Om du vill starta om kontrollen väljer du knappen **Retry** (försök igen). Kontrollen fortsätter från den första ofullständiga eller ej godkända kontrollen.

Välj fliken Category (kategori) om du vill granska resultatet av varje enskild kontroll inom en kategori.

Starta körningen

Välj **Start** (starta) när den automatiska kontrollen före körning är klar. Sekvenseringskörningen påbörjas.

Information om hur du ställer in systemet så att körningen automatiskt startas efter en lyckad kontroll finns i [Ställa in körningsalternativ på sidan 13](#).

Övervaka körningsförloppet

- 1 Övervaka körningsförloppet, intensiteter och kvalitetsresultat med hjälp av de värden som visas på skärmen.

Bild 19 Sekvenseringskörningens förlopp och värden



- A **Körningsförlopp** – Visar det aktuella steget och antal cykler som har genomförts för varje läsning. Förloppsindikatorn är inte proportionerlig till körningshastigheten för varje steg. Beräknat datum och klockslag då körningen är klar visas längst ned.
- B **Q-resultat** – Visar fördelningen av kvalitetsresultat. Se *Kvalitetsbedömning på sidan 58*.
- C **Intensitet** – Visar värdet på klusterintensiteter för den 90:e percentilen för varje platta. Linjernas färg anger de olika baserna: röd är A, grön är C, blå är G och svart är T.
- D **Klusterdensitet (K/mm²)** – Visar antalet kluster som detekterats för körningen.
- E **Kluster som passerat filtret (%)** – Visar procentandelen kluster som passerat filtret. Se *Passerfilter för kluster på sidan 58*.
- F **Uppskattad avkastning (Gb)** – Visar antalet baser som beräknas för körningen.
- G **Lotinformation** – Visar lotnumren för sekvenseringens förbrukningsmaterial. För flödescellen visas serienumret.
- H **End Run** (avsluta körning) – Stannar pågående sekvenseringskörning. Förbrukningsmaterial kan inte återanvändas.



OBS!













Om du trycker på Home (start) är det inte möjligt att återgå till visningen av körningsvärden. Du kan dock komma åt körningsvärdena via BaseSpace eller Sequencing Analysis Viewer (SAV) på en fristående dator.

Cykler för körningsvärden

Körningsvärden visas vid olika tillfällen under en körning.

- ▶ Under klustergenereringen visas inga värden.
- ▶ De första fem cyklerna är tillägnade mallgenerering.
- ▶ Körningsvärden visas efter cykel 25, inklusive klusterdensitet, kluster som passerat filtret, avkastning och kvalitetsresultat.

Dataöverföring

Status	Illumina BaseSpace	BaseSpace Onsite	Fristående instrument
Ansluten			
Ansluten och överför data			
Frånkopplad			
Inaktiverad			

Beroende på vilken analyskonfiguration som valts så visas en ikon på skärmen under körningen som anger dataöverföringens status.

Om dataöverföringen avbryts under körningen sparas aktuella data tillfälligt på instrumentdatorn. När anslutningen har återupprättats fortsätter dataöverföringen automatiskt. Om anslutningen inte återupprättas innan körningen är klar, ska dessa data tas bort manuellt från instrumentdatorn så att nästa körning kan påbörjas.

Tjänst för körningskopiering

I NextSeq 550Dx-systemets programvarusvit ingår en tjänst för körningskopiering. RTA v2 begär att tjänsten kopierar filer från en källsökväg till en målsökväg, och tjänsten bearbetar dessa kopieringsbegäranden i den ordning de tas emot. Om ett undantag inträffar placeras filen i kopieringskön på nytt baserat på antalet filer i kön.

Sequencing Analysis Viewer

I programmet Sequencing Analysis Viewer visas de sekvenseringsvärden som genereras under körningen. Värden visas i form av diagram, kurvor och tabeller baserat på data som genereras av RTA och skrivs till InterOp-filer. Värdena uppdateras under körningens gång. Välj **Refresh** (uppdatera) när som helst under körningen för att se uppdaterade värden. Mer information finns i *Användarhandbok för Sequencing Analysis Viewer (artikelnummer 15020619)*.

Sequencing Analysis Viewer ingår i programmet som är installerat på instrumentdatorn. Du kan också installera Sequencing Analysis Viewer på en annan dator som är kopplad till samma nätverk som instrumentet för att fjärrövervaka körningsvärden.

Automatisk rengöring efter körning

När sekvenseringskörningen är klar startar programvaran en automatisk rengöring efter körning med den tvättlösning som finns i buffertkassetten och den NaOCl som finns i reagenskassetten. Om alternativet att tömma förbrukningsmaterial för körningen är aktiverat, så kommer detta att göras före den automatiska rengöringen efter körning.

Den automatiska rengöringen efter körning tar cirka 90 minuter. När rengöringen är klar aktiveras knappen Home (start). Resultaten från sekvenseringen förblir synliga på skärmen under rengöringen.

Efter rengöring

När rengöringen är klar förblir sugrören i nedåtläget för att förhindra att luft kommer in i systemet. Låt kassetterna sitta kvar till nästa körning.

Kapitel 4 Skanna

Inledning	29
Arbetsflöde för skanning	30
Ladda ned DMAP-mappen	30
Sätta i BeadChip-enheten i adaptorn	31
Ställa in en skanning	32
Övervaka skanningsförloppet	34

Inledning

Om du vill utföra en skanning med NextSeq 550Dx-instrumentet behöver du följande körningskomponenter:

- ▶ Ett hybridiserat och färgat BeadChip
- ▶ Den återanvändbara BeadChip-adaptorn
- ▶ Decode Map-filer (DMAP) för det BeadChip du använder
- ▶ En manifestfil för den typ av BeadChip du använder
- ▶ En klusterfil för den typ av BeadChip du använder

Utdatafiler genereras under skanningen och placeras sedan i kö för överföring till angiven utdatamapp.

Utför en analys i BlueFuse Multi-programvaran, som kräver tillgängliga skanningsdata i genotype call-filformat (GTC). Som standard genererar NextSeq 550Dx-instrumentet normaliserade data och tillhörande genotypresultat i GTC-filformat. Om du vill kan du konfigurera instrumentet för att generera ytterligare intensitetsdatafiler (IDAT). Mer information finns i *BeadChip-skanningskonfiguration* på sidan 54.

Filavkodningsklienten

DMAP-mappen innehåller information som identifierar pärlplatser på BeadChip-enheten och kvantifierar signalen som är kopplad till varje pärla. En DMAP-mapp är unik för varje BeadChip-streckkod.

Med filavkodningsklienten kan du ladda ned DMAP-mappar direkt från Illuminas servrar med HTTP-standardprotokoll.

För tillgång till filavkodningsklienten går du till [filavkodningsklientens supportsida](http://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) på Illuminas webbplats (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Installera filavkodningsklienten på en dator som har åtkomst till DMAP-mappens nätverksplats.

Mer information finns i *Ladda ned DMAP-mappen* på sidan 30.

Manifestfiler och klusterfiler

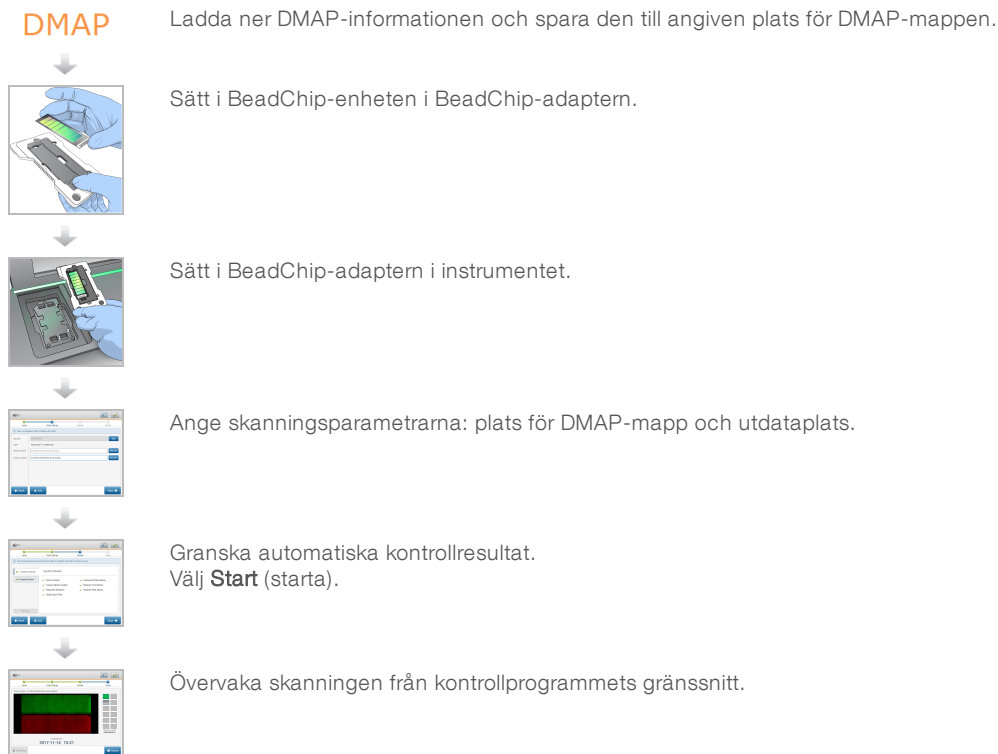
För varje BeadChip behöver programvaran tillgång till en manifestfil och en klusterfil. Varje manifest-/klusterfil är unik för varje BeadChip-typ. Säkerställ att du använder klusterfiler med NS550 i filnamnet. Dessa filer är kompatibla med NextSeq 550Dx-systemet.

- ▶ **Manifestfiler** – Manifestfiler beskriver SNP eller probinnehåll på ett BeadChip. Manifestfiler använder filformatet *.bpm.
- ▶ **Klusterfiler** – Klusterfiler beskriver klusterpositioner för Illuminas genotypmatris och används vid dataanalys för att bestämma genotyp. Klusterfiler använder filformatet *.egt.

Filernas sökväg anges på skärmen BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skanningskonfiguration). Tryck på **Manage Instrument** (hantera instrument) och **System Configuration** (systemkonfiguration) på NCS-startskärmen, och sedan på **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skanningskonfiguration).

När NextSeq 550Dx-instrumentet installeras laddar representanten från Illumina ned dessa filer och anger sökvägen i kontrollprogrammet. Dessa filer behöver inte ändras annat än om de går förlorade eller om en ny version blir tillgänglig. Mer information finns i [Byta ut manifest- och klusterfiler på sidan 51](#).

Arbetsflöde för skanning



Ladda ned DMAP-mappen

Du kan komma åt DMAP-mappen med filavkodningsklienten via konto eller BeadChip (standardvy).

Åtkomst till DMAP-mappen via konto

- 1 Välj ett av följande nedladdningsalternativ på huvudfliken i filavkodningsklienten:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ Vissa BeadChip har ännu inte laddats ned
 - ▶ Alla BeadChip
 - ▶ BeadChip med inköpsorder
 - ▶ BeadChip med streckkod.
- 2 Ange den information som erfordras.
- 3 Navigera till den DMAP-mapp som du vill ladda ned.
- 4 Se till att det finns tillräckligt med ledigt utrymme där du avser ladda ned den.
- 5 Starta nedladdningen. Nedladdningsstatusen visas på fliken Download Status and Log (nedladdningsstatus och logg).
- 6 Spara DMAP-mappen på den angivna sökvägen.

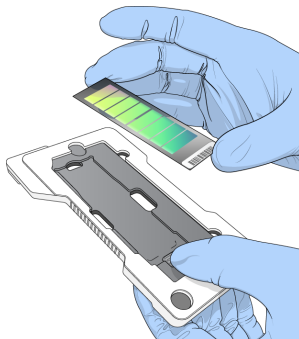
Åtkomst till DMAP-mappen via BeadChip

- 1 BeadChip kan identifieras med två av följande alternativ:
 - ▶ BeadChip-streckkod
 - ▶ BeadChip-id på förpackningen
 - ▶ inköpsordernummer
 - ▶ försäljningsordernummer.
- 2 Navigera till den DMAP-mapp som du vill ladda ned.
- 3 Se till att det finns tillräckligt med ledigt utrymme där du avser ladda ned den.
- 4 Starta nedladdningen. Nedladdningsstatusen visas på fliken Download Status and Log (nedladdningsstatus och logg).
- 5 Spara DMAP-mappen på den angivna sökvägen.

Sätta i BeadChip-enheten i adaptorn

- 1 Tryck ned adaptorns fästklämman. Klämman fälls upp en liten bit.
- 2 Håll i kanten på BeadChip-enheten och lägg den i det lilla facket i adaptorn, med streckkoden vid fästklämman.

Bild 20 Sätt i BeadChip-enheten i adaptorn



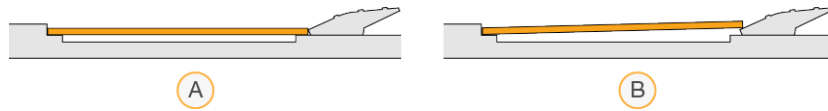
- 3 Känn vid öppningarna på båda sidorna om BeadChip-enheten för att kontrollera att BeadChip-enheten sitter ordentligt i det lilla facket i adaptorn.

Bild 21 Kontrollera att BeadChip-enheten ligger på plats



- 4 Släpp försiktigt fästklämman så att BeadChip-enheten låses fast.
- 5 Inspektera BeadChip-enheten från sidan så att den ligger plant i adaptorn. Rätta till BeadChip-enheten vid behov.

Bild 22 Inspektera BeadChip-enhetens läge



- A Korrekt position – BeadChip-enheten ligger plant i adaptorn när du har släppt klämman.
- B Fel position – BeadChip-enheten ligger inte plant när du har släppt klämman.

Ställa in en skanning

- 1 Välj **Experiment** (experimentera) och sedan **Scan** (skanna) på skärmen Home (start). Med kommandot Scan (skanna) öppnas luckan till avbildningsenheten, förbrukningsmaterialet från föregående körning tappas ut (i förekommande fall) och en serie skärmar för skanningsinställning visas. En kort fördröjning är normalt.

Ta bort sekvenseringens förbrukningsmaterial

Om det finns använda förbrukningsmaterial för sekvensering när du konfigurerar en skanning uppmanas du av programmet att ta bort reagenskassetten och buffertkassetten innan du går vidare till nästa steg.

- 1 Avlägsna använda förbrukningsmaterial för sekvensering från en tidigare sekvenseringskörning om du uppmanas till det.
 - a Ta bort reagenskassetten ur reagensfacket. Kassera oanvänt innehåll enligt gällande standarder.
 - b Ta bort den använda buffertkassetten ur buffertfacket.



WARNING (VARNING)

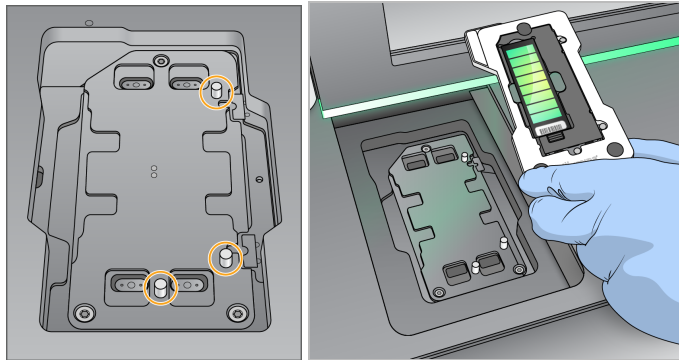
Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

- 2 Ta bort flödescellen ur avbildningsenheten.
- 3 Stäng luckorna för reagensfacket och buffertfacket.

Sätta i BeadChip-adaptorn

- 1 Placera BeadChip-adaptorn på steget med hjälp av inpassningsstiften.

Bild 23 Sätta i BeadChip-adaptorn




- 2 Tryck på **Load** (ladda).
Luckan stängs automatiskt, BeadChip-enhetens id visas på skärmen och sensorerna kontrolleras. En kort fördröjning är normalt. Om BeadChip-streckkoden inte kan läsas av visas en dialogruta där du kan skriva in streckkoden manuellt. Se *Programvaran kan inte läsa BeadChip-streckkoden på sidan 50*.
- 3 Välj **Next** (nästa).

Skanningsinställning

- 1 Bekräfta följande uppgifter på skärmen Scan Setup (skanningsinställning):
 - ▶ **Barcode** (streckkod) – Programmet läser av BeadChip-streckkoden när ett BeadChip har laddats. Om streckkoden anges manuellt visas knappen Edit (redigera) om du vill göra fler ändringar.
 - ▶ **Type** (typ) – Fältet för BeadChip-typ får automatiskt ett värde baserat på BeadChip-streckkoden.
 - ▶ **DMAP Location** (DMAP-plats) – DMAP-mappens plats anges på skärmen BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skanningskonfiguration). Om du endast vill ändra plats för den aktuella skanningen väljer du **Browse** (bläddra) och navigerar till rätt plats.
 - ▶ **Output Location** (Plats för utdata) – Platsen för utdata anges på skärmen BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skanningskonfiguration). Om du endast vill ändra plats för den aktuella skanningen väljer du **Browse** (bläddra) och navigerar till önskad plats.
- 2 Välj **Next** (nästa).

Granska kontrollen före körning

I programmet utförs automatiskt en kontroll av systemet före körning. Under kontrollen visas följande indikatorer på skärmen:

- ▶ **Grå bock** – Kontrollen har ännu ej genomförts.
- ▶ **Förloppsikon**  – Kontrollen pågår.
- ▶ **Grön bock** – Kontrollen godkänd.
- ▶ **Rött X** – Kontrollen är inte godkänd. En åtgärds krävs för alla objekt som inte klarade kontrollen innan du kan fortsätta. Se *Lösa fel vid automatisk kontroll på sidan 46*.

Om du vill avbryta en pågående automatisk kontroll väljer du knappen **Cancel** (avbryt). Om du vill starta om kontrollen väljer du knappen **Retry** (försök igen). Kontrollen fortsätter från den första ofullständiga eller ej godkända kontrollen.

Välj fliken Category (kategori) om du vill granska resultatet av varje enskild kontroll inom en kategori.

Starta skanningen

Välj **Start** (starta) när den automatiska kontrollen är klar. Skanningen börjar.

Information om hur du ställer in systemet så att skanningen automatiskt startas efter en lyckad kontroll finns i [Ställa in körningsalternativ](#) på sidan 13.

Övervaka skanningsförloppet

1 Skanningsförloppet kan övervakas med hjälp av BeadChip-bilden. Färgerna på bilden anger skanningsstatus.

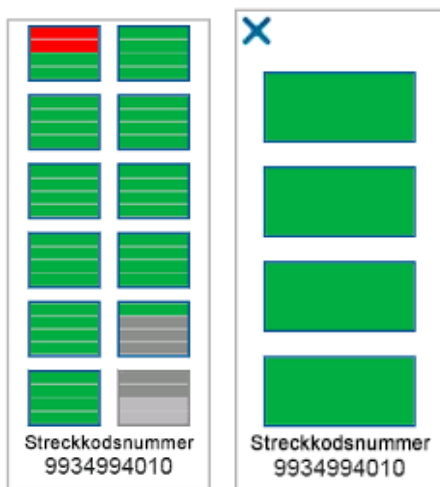
- ▶ **Ljusgrå** – Ej skannad.
- ▶ **Mörkgrå** – Skannad men ej registrerad.
- ▶ **Grön** – Skannad och registrerad.
- ▶ **Röd** – Skanning och registrering misslyckades.

Om registreringen inte lyckas kan du skanna om proverna med sektionerna som misslyckades. Se [Fel vid BeadChip-skanning](#) på sidan 50.

2 Välj BeadChip-bilden för att växla mellan helvy och detaljerad vy av det markerade provet.

- ▶ Helvyn visar proverna på BeadChip-enheten och sektionerna inom varje prov.
- ▶ Den detaljerade vyn visar varje sektion inom det valda provet.

Bild 24 BeadChip-bild: helvy och detaljerad vy



OBS!

Att avsluta en skanning är en slutgiltig åtgärd. Om du avslutar skanningen innan den är klar så sparas *inte* aktuella skanningsdata.

Dataöverföring

Data placeras i kö för överföring till skanningens utdatamapp när skanningen är klar. Data skrivs tillfälligt till instrumentdatorn. Den tillfälliga mappen raderas automatiskt från instrumentdatorn när nästa skanning startar.

Hur lång tid som krävs för dataöverföringen beror på nätverksanslutningen. Innan du påbörjar nästa skanning bör du se till att aktuella data har skrivits till utdatamappen. Det gör du genom att kontrollera att det finns GTC-filer i streckkodsmappen. Mer information finns i [Mappstruktur för skanningsutdata på sidan 65](#).

Om anslutningen avbryts kommer dataöverföringen att fortsätta automatiskt när anslutningen har återupprättats. Varje fil får en timer på 1 timme då den placeras i kö för överföring till utdatamappen. Om timern löper ut, eller om instrumentet startas om innan överföringen är klar, skrivs data inte till den utdatamappen.

Kapitel 5 Underhåll

Inledning	37
Utföra en manuell rengöring	37
Byta ut luftfiltret	40
Programuppdateringar	41
Alternativ för omstart och avstängning	43

Inledning

Underhållsrutiner inbegriper manuell instrumentrengöring och programuppdateringar till systemet när sådana är tillgängliga.

- ▶ **Instrumentrengöring** – Automatisk rengöring efter varje sekvenseringskörning för att säkerställa instrumentets prestanda. Manuell rengöring kan dock krävas emellanåt under vissa förhållanden. Se *Utföra en manuell rengöring på sidan 37*.
- ▶ **Programuppdateringar** – När det finns en uppdaterad version av systemprogramvaran kan du installera den automatiskt via anslutning till BaseSpace, eller manuellt genom att ladda ned installationsprogrammet från Illuminas webbplats. Se *Programuppdateringar på sidan 41*.
- ▶ **Byte av luftfilter** – Regelbundet byte av luftfiltret säkerställer ett gott luftflöde genom instrumentet.

Förebyggande underhåll

Illumina rekommenderar att förebyggande underhåll utförs årligen. Om du inte har ett serviceavtal kontaktar du den lokala kontoansvariga eller Illuminas tekniska support för att boka en fakturerbar service med förebyggande underhåll.

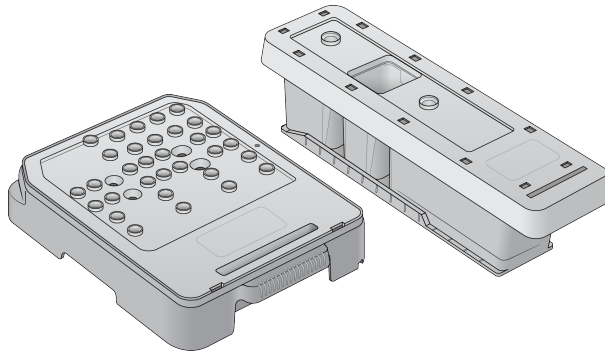
Utföra en manuell rengöring

Manuell rengöring initieras från skärmen Home (start). Rengöringsalternativ inkluderar Quick Wash (snabbrengöring) och Manual Post-Run Wash (manuell rengöring efter körning).

Rengöringstyper	Beskrivning
Quick Wash (snabbrengöring) Längd: 20 minuter	Spolar systemet med en användarpåfylld tvättlösning av vatten av laboratoriekvalitet och Tween 20 (buffertrengöringskasset). <ul style="list-style-type: none">• Krävs var fjortonde dag som instrumentet är inaktivt med reagenskassetten och buffertkassetten på plats.• Krävs var sjunde dag som instrumentet är i ett torrt tillstånd (reagenskassetten och buffertkassetten borttagna).• Krävs efter en avstängning.
Manual Post-Run Wash (manuell rengöring efter körning) Längd: 90 minuter	Spolar systemet med en användarpåfylld rengöringslösning av vatten av laboratoriekvalitet och Tween 20 (buffertrengöringskasset) och 0,12 % natriumhypoklorit (reagensrengöringskasset). Krävs om den automatiska rengöringen efter körning inte utfördes.

En manuell rengöring kräver reagensrengöringskassetten och buffertrengöringskassetten som medföljer instrumentet, samt en använd flödescell. En använd flödescell kan användas upp till 20 gånger för instrumentrengöring.

Bild 25 Reagensrengöringskassett och buffertrengöringskassett



Förbereda för en manuell rengöring efter körning

Välj om du vill förbereda för en manuell rengöring efter körning enligt beskrivningen nedan eller förbereda för en snabbrengöring (nästa avsnitt). Om du vill göra en manuell rengöring efter körning hoppar du över avsnittet för snabbrengöring och går vidare till *Ladda en använd flödescell och rengöringskassetterna på sidan 39*.

Förbrukningsmaterial som tillhandahålls av användaren	Volym och beskrivning
NaOCl	1 ml, spädd till 0,12 % Laddad i reagensrengöringskassetten (position 28)
100 % Tween 20 Vatten av laboratoriekvalitet	Används för att skapa 125 ml 0,05 % Tween 20-rengöringslösning Laddad i buffertrengöringskassetten (mittbehållaren)

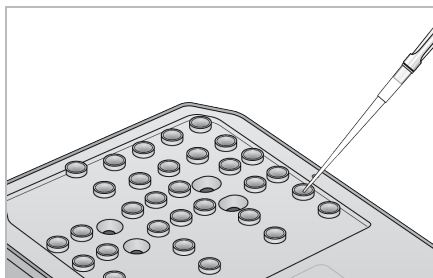


OBS!

Använd alltid en ny spädning av NaOCl som har beretts under de senaste **24 timmarna**. Om du gör en volym som är större än 1 ml ska återstående spädning förvaras vid 2 °C till 8 °C för användning inom de närmaste 24 timmarna. Annars ska överflödigt spädning av NaOCl kasseras.

- Kombinera följande volymer i ett mikrocentrifugrör för att skapa 1 ml 0,12 % NaOCl:
 - ▶ 5 % NaOCl (24 µl)
 - ▶ Vatten av laboratoriekvalitet (976 µl)
- Vänd röret för att blanda.
- Tillför 1 ml 0,12 % NaOCl till reagensrengöringskassetten. Rätt behållare motsvarar position **28** på den förfyllda kassetten.

Bild 26 Ladda NaOCl



- Kombinera följande volymer för att skapa en 0,05 % Tween 20-rengöringslösning:

- ▶ 100 % Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Vatten av laboratoriekvalitet (125 ml)
- 5 Tillsätt 125 ml rengöringslösning i mittbehållaren för buffertrengöringskassetten.
 - 6 Välj **Perform Wash** (utför rengöring) och sedan **Manual Post-Run Wash** (manuell rengöring efter körning).

Förbereda för en snabbrengöring

Du kan förbereda för en snabbrengöring enligt beskrivningen nedan som ett alternativ till *Förbereda för en manuell rengöring efter körning* på sidan 38.

Förbrukningsmaterial som tillhandahålls av användaren	Volym och beskrivning
100 % Tween 20 Vatten av laboratoriekvalitet	Används för att skapa 40 ml 0,05 % Tween 20-rengöringslösning Laddad i buffertrengöringskassetten (mittbehållaren)

- 1 Kombinera följande volymer för att skapa en 0,05 % Tween 20-rengöringslösning:
 - ▶ 100 % Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Vatten av laboratoriekvalitet (40 ml)
- 2 Tillsätt 40 ml rengöringslösning i mittbehållaren för buffertrengöringskassetten.
- 3 Välj **Perform Wash** (utför rengöring) och välj sedan **Quick Wash** (snabbrengöring)

Ladda en använd flödescell och rengöringskassetterna

- 1 Om det inte redan finns en använd flödescell laddar du en använd flödescell. Välj **Load** (ladda) och sedan **Next** (nästa).
- 2 Ta ut behållaren med förbrukad reagens och kassera innehållet enligt gällande standarder.



WARNING (VARNING)

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

- 3 För tillbaka den tomma reagensbehållaren in i buffertfacket tills det tar emot.
- 4 Ta bort den använda buffertkassetten från den tidigare körningen, om sådan finns.
- 5 Ladda buffertrengöringskassetten som innehåller rengöringslösning.
- 6 Ta bort den använda reagenskassetten från den tidigare körningen, om sådan finns.
- 7 Ladda reagensrengöringskassetten.
- 8 Välj **Next** (nästa). Förrengöringskontrollen startar automatiskt.

Starta rengöringen

- 1 Välj **Start** (starta).
- 2 Tryck på **Home** (start) när rengöringen är klar.

Efter rengöring

När rengöringen är klar förblir sugrören i nedåtläget för att förhindra att luft kommer in i systemet. Låt kassetterna sitta kvar till nästa körning.

Byta ut luftfiltret

Luftfiltret säkerställer att luft flödar genom instrumentet. I NextSeq 550Dx-systemprogramvaran visas en avisering om att byta luftfilter var 90:e dag i instrumentets diagnostiska läge. När du uppmanas till det väljer du **Remind in 1 day** (påminn om en dag) eller följer anvisningarna nedan och väljer **Filter Changed** (filter har bytts). Den 90 dagar långa nedräkningen återställs när du väljer **Filter Changed** (filter har bytts).

- 1 Ta ut det nya luftfiltret ur förpackningen och skriv installationsdatumet på filtrets ram.
- 2 På instrumentets baksida trycker du nedåt högst upp på filterhållaren för att lossa hållaren.
- 3 Fatta tag i den övre delen av filterhållaren och dra uppåt för att lyfta ut hållaren i sin helhet ur instrumentet.
- 4 Ta bort och släng det gamla luftfiltret.
- 5 Sätt i det nya luftfiltret i hållaren.

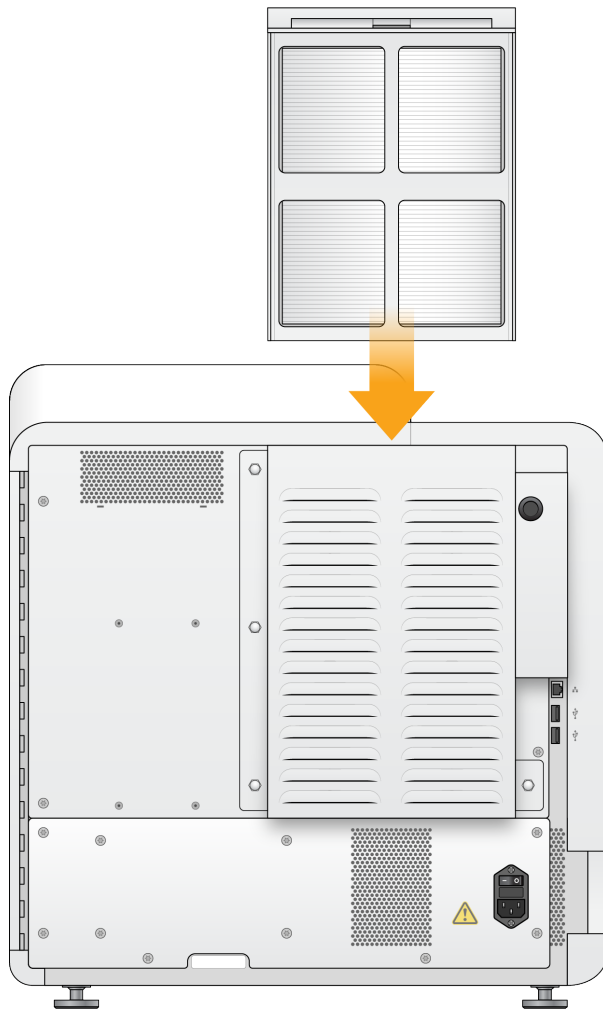


OBS!

Luftfiltret fungerar inte korrekt om det placeras bak och fram. Se till att du att du kan se den gröna uppåtpilen, men inte varningsdekalen, när du för in luftfiltret i hållaren. Pilen ska peka mot filterhållarens handtag.

- 6 Skjut in filterhållaren i instrumentet. Tryck nedåt högst upp på filterhållaren tills den klickar på plats.

Bild 27 Isättning av luftfilter




Programuppdateringar

Programuppdateringarna grupperas i programpaketet System Suite och innehåller följande programvara:

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

Du kan installera programuppdateringar automatiskt via en internetanslutning eller manuellt via ett nätverk eller en USB-enhet.

- ▶ **Automatiska uppdateringar** – För instrument som är anslutna till ett nätverk med internetuppkoppling visas en aviseringsikon  på knappen Manage Instrument (hantera instrument) på skärmen Home (start) när en uppdatering är tillgänglig.

- ▶ **Manuella uppdateringar** – Hämta installationsprogrammet för System Suite på supportsidan för [NextSeq 550Dx-instrumentet](#) på Illuminas webbplats.

Automatisk programuppdatering

- 1 Välj **Manage Instrument** (hantera instrument).
- 2 Välj **Software Update** (uppdatering av programvara).
- 3 Välj **Install the update already downloaded from BaseSpace** (installera uppdateringen som redan har hämtats i BaseSpace).
- 4 Välj **Update** (uppdatera) för att påbörja uppdateringen. En dialogruta öppnas där du får bekräfta kommandot.
- 5 Följ anvisningarna i installationsguiden:
 - a Godkänn licensavtalet.
 - b Granska versionsinformationen.
 - c Granska listan över program som ingår i uppdateringen.

När uppdateringen är klar startas kontrollprogrammet om automatiskt.



OBS!

Om en uppdatering av inbyggd programvara ingår krävs en automatisk omstart av systemet efter att den inbyggda programvaran har uppdaterats.

Manuell programuppdatering

- 1 Hämta installationsprogrammet för System Suite på Illuminas webbplats och spara det på en nätverksplats.
Du kan också kopiera programinstallationsfilen till en bärbar USB-enhet.
- 2 Välj **Manage Instrument** (hantera instrument).
- 3 Välj **Software Update** (uppdatering av programvara).
- 4 Välj **Manually install the update from the following location** (installera uppdateringen manuellt från följande plats).
- 5 Välj **Browse** (bläddra) för att gå till den plats där programvarans installationsfil finns och välj sedan **Update** (uppdatera).
- 6 Följ anvisningarna i installationsguiden:
 - a Godkänn licensavtalet.
 - b Granska versionsinformationen.
 - c Granska listan över program som ingår i uppdateringen.

När uppdateringen är klar startas kontrollprogrammet om automatiskt.



OBS!

Om en uppdatering av inbyggd programvara ingår krävs en automatisk omstart av systemet efter att den inbyggda programvaran har uppdaterats.

Alternativ för omstart och avstängning

Du får tillgång till följande funktioner genom att välja knappen Shut Down Options (avstängningsalternativ):

- ▶ Restart (starta om) – Instrumentet öppnas i Dx-läge.
- ▶ Shutdown (avstängning) – Instrumentet öppnas i Dx-läge.
- ▶ Exit to Windows (avsluta och gå till Windows) – Beroende på behörighet kan du stänga NCS och visa Windows.

Starta om i diagnostiskt läge

Använd kommandot Restart (starta om) för att säkert stänga av instrumentet och starta om i diagnostiskt läge. Diagnostiskt läge är startläge som standard

- 1 Välj **Manage Instrument** (hantera instrument).
- 2 Välj **Shutdown Options** (avstängningsalternativ).
- 3 Välj **Restart** (starta om).

Stänga av instrumentet

- 1 Välj **Manage Instrument** (hantera instrument).
- 2 Välj **Shutdown Options** (avstängningsalternativ).
- 3 Välj **Shut Down** (avsluta).

Med kommandot Shut down (avsluta) stänger du programmet och slår av strömmen till instrumentet på ett säkert sätt. Vänta i minst 60 sekunder innan du slår på instrumentet igen.



OBS!

Som standard startar instrumentet i diagnostiskt läge när det slås på.



FÖRSIKTIGHET!

Flytta *inte* instrumentet. Om instrumentet flyttas på fel sätt kan det påverka den optiska inriktningen och äventyra dataintegriteten. Kontakta en representant för Illumina om instrumentet måste flyttas.

Återgå till Windows

Kommandot Exit to Windows (återgå till Windows) ger åtkomst till instrumentets operativsystem och alla mappar på instrumentdatorn. Det stänger ned programmet och återgår till Windows på ett säkert sätt.

- 1 Välj **Manage Instrument** (hantera instrument).
- 2 Välj **Shutdown Options** (avstängningsalternativ).
- 3 Tryck på **Exit to Windows** (återgå till Windows).

Bilaga A Felsökning

Inledning	45
Felsökningsfiler	45
Lösa fel vid automatisk kontroll	46
Behållaren med förbrukad reagens är full	48
Arbetsflöde för rehybridisering	48
BeadChip- och skanningsfel	50
Egna recept och receptmappar	51
RAID-felmeddelande	52
Konfigurera systeminställningar	52

Inledning

Gå till supportsidorna för NextSeq 550Dx-instrumentet på Illumina-webbplatsen om du har tekniska frågor. Supportsidorna ger åtkomst till dokumentation, nedladdningar och vanliga frågor.

Logga in på ditt MyIllumina-konto för tillgång till supportbulletiner.

Kontakt Illuminas tekniska support för problem med körningskvalitet eller prestanda. Se [Teknisk hjälp på sidan 71](#).

Dela gärna en länk till körningssammanfattningen i BaseSpace med Illuminas tekniska support för att underlätta felsökningen.

Felsökningsfiler

Ett tekniskt supportombud från Illumina kan be om kopior av körnings- eller skannings specifika filer för att felsöka problem. Normalt används följande filer vid felsökning.

Felsökningsfiler för sekvenseringskörningar

Nyckelfil	Mapp	Beskrivning
Fil med körningsinformation (RunInfo.xml)	Rotmapp	Innehåller följande information: <ul style="list-style-type: none">• Körningsnamn• Antal cykler i körningen• Antal cykler i varje läsning• Om läsningen är indexerad• Antal stråk och rutor på flödescellen
Fil med körningsparametrar (RunParameters.xml)	Rotmapp	Innehåller information om körningsparametrar och körningskomponenter. Informationen inbegriper RFID, serienummer, artikelnummer och utgångsdatum.
RTA-konfigurationsfil (RTAConfiguration.xml)	Rotmapp	Innehåller RTA-konfigurationsinställningar för körningen. Filen RTAConfiguration.xml skapas i början av körningen.
InterOp-filer (*.bin)	InterOp	Binära rapporteringsfiler används i Sequencing Analysis Viewer. InterOp-filerna uppdateras kontinuerligt under körningen.
Loggfiler	Logs (loggar)	I loggfiler beskrivs alla steg som instrumentet utför för varje cykel och vilka versioner av programvara och inbyggd programvara som används vid körningen. I filen med namnet [InstrumentName]_CurrentHardware.csv visas serienummer för instrumentkomponenter.
Felloggfiler (*.ErrorLog*.txt)	RTA-loggar	Logg över RTA-fel. Felloggfiler uppdateras när ett fel uppstår.
Globala loggfiler (*.GlobalLog*.tsv)	RTA-loggar	Logg över alla RTA-händelser. Globala loggfiler uppdateras kontinuerligt under körningen.

RTA-fel

Så här felsöker du RTA-fel: kontrollera först RTA-felloggen som du hittar i mappen RTALogs. Denna fil skapas inte vid godkända körningar. Inkludera felloggen om du rapporterar ett problem till Illuminas tekniska support.

Felsökningsfiler för matrisskanningar

Nyckelfil	Mapp	Beskrivning
Skanningsparameterfil (ScanParameters.xml)	Rotmapp	Innehåller information om skanningsparametrar. Informationen inkluderar skanningsdatum, BeadChip-streckkod, klusterfilplats och manifestfilplats.
Loggfiler	Logs (loggar)	Loggfiler beskriver varje steg som utförts på instrumentet under skanningen.
Värdefiler	[Streckkod]	Värden tillhandahålls som provvärden och sektionsvärden. [barcode]_sample_metrics.csv – För varje prov och kanal (röd och grön) visas procentavdragsbild, avvikande procentvärden, P05, P50, P95, genomsnittligt FWHM-genomsnitt, standardavvikelse för FWHM (Stddev) och lägsta registreringsvärde. [barcode]_section_metrics.csv – För varje sektion och ruta visas Laser Z-position, Z-position genom fokus, röd FWHM, grön FWHM, röd genomsnittlig pixelintensitet, grön genomsnittlig pixelintensitet, rött registreringsvärde och grönt registreringsvärde.
Skanna om fil	[Streckkod]	[barcode]_rescan.flowcell – Visar plattplatserna justerade för en ny skanning, vilket inkluderar större överlappning mellan plattorna.

Lösa fel vid automatisk kontroll

Om fel uppstår vid den automatiska kontrollen kan du hänvisa till de rekommenderade åtgärderna nedan för att lösa felen. De automatiska kontrollerna skiljer sig åt för sekvensering och matrisskanningar.

Kontroller för sekvenseringskörningar

Om instrumentet inte klarar en kontroll före körning är reagenskassettsens RFID inte låst och kan användas till nästa körning. RFID är dock låst när folieförseglingen har brutits.

Systemkontroller	Rekommenderad åtgärd
Luckor stängda	Se till att luckorna till alla fack är stängda.
Förbrukningsmaterial påfyllt	Sensorerna för förbrukningsmaterial registrerar inte. Se till att allt förbrukningsmaterial är ordentligt laddat. Tryck på Back (tillbaka) på skärmarna med körningsalternativ för att återgå till påfyllningssteget och upprepa körningsinställningen.
Programvara krävs	Viktiga delar av programvaran saknas. Utför en manuell programuppdatering för att återställa alla programvarukomponenter.
Diskutrymme i instrumentet	Instrumentets hårddisk har inte tillräckligt diskutrymme för en körning. Det är möjligt att data från en tidigare körning inte har överförts. Rensa körningsdata från instrumentets hårddisk.
Nätverksanslutning	Nätverksanslutningen har avbrutits. Kontrollera nätverkets status och den fysiska nätverksanslutningen.
Diskutrymme i nätverket	Antingen är BaseSpace-kontot fullt eller så är nätverksservern full.

Temperatur	Rekommenderad åtgärd
Temperatur	Kontakta Illuminas tekniska support.
Temperaturgivare	Kontakta Illuminas tekniska support.
Fläktar	Kontakta Illuminas tekniska support.

Avbildningssystem	Rekommenderad åtgärd
Avbildningsbegränsningar	Kontakta Illuminas tekniska support.
Z Steps-and-Settle	Kontakta Illuminas tekniska support.
Bithastighetsfel	Kontakta Illuminas tekniska support.
Registrering av flödescell	Det är möjligt att flödescellen inte sitter som den ska. <ul style="list-style-type: none"> Tryck på Back (tillbaka) på skärmarna med körningsalternativ för att återgå till steget med flödescellen. Avbildningsenhetens lucka öppnas. Ta bort och lägg i flödescellen igen för att säkerställa att den är korrekt isatt.

Reagenstillsats	Rekommenderad åtgärd
Ventilsvar	Kontakta Illuminas tekniska support.
Pump	Kontakta Illuminas tekniska support.
Buffertmekanism	Kontakta Illuminas tekniska support.
Töm behållare med förbrukad reagens	Töm behållaren med förbrukad reagens och sätt tillbaka den tomma behållaren.

Kontroller för matrisskanningar

Systemkontroller	Rekommenderad åtgärd
Luckor stängda	Se till att luckorna till alla fack är stängda.
Förbrukningsmaterial påfyllt	Sensorena för förbrukningsmaterial registrerar inte. Se till att allt förbrukningsmaterial är ordentligt laddat. Tryck på Back (tillbaka) på skärmarna med körningsalternativ för att återgå till påfyllningssteget och upprepa körningsinställningen.
Programvara krävs	Viktiga delar av programvaran saknas. Utför en manuell programuppdatering för att återställa alla programvarukomponenter.
Kontrollera indatafiler	Se till att sökvägen till klusterfilen och manifestfilen är korrekt och att filerna finns där.
Diskutrymme i instrumentet	Instrumentets hårddisk har inte tillräckligt diskutrymme för en körning. Det är möjligt att data från en tidigare körning inte har överförts. Rensa körningsdata från instrumentets hårddisk.
Nätverksanslutning	Nätverksanslutningen har avbrutits. Kontrollera nätverkets status och den fysiska nätverksanslutningen.
Diskutrymme i nätverket	Antingen är BaseSpace-kontot fullt eller så är nätverksservern full.

Avbildningssystem	Rekommenderad åtgärd
Avbildningsbegränsningar	Kontakta Illuminas tekniska support.
Z Steps-and-Settle	Kontakta Illuminas tekniska support.
Bithastighetsfel	Kontakta Illuminas tekniska support.
Auto-Center	Avlägsna BeadChip-adaptorn. Kontrollera att BeadChip-enheten sitter i adaptorn och sätt sedan tillbaka adaptorn.

Behållaren med förbrukad reagens är full

I början av en körning ska behållaren med förbrukad reagens alltid vara tom.

Om du börjar en körning utan att tömma behållaren med förbrukad reagens initierar systemets sensorer en paus i programkörningen när behållaren är full. Systemets sensorer kan inte göra en paus under körning vid klustring, paired-end-återsyntes eller automatisk rengöring efter körning.

Vid en paus i körningen öppnas en dialogruta där du kan välja att höja sugrören och tömma den fulla behållaren.

Tömma behållaren med förbrukad reagens

- 1 Välj **Raise Sippers** (höj sugrören).
- 2 Ta ut behållaren med förbrukad reagens och kassera innehållet på lämpligt sätt.
- 3 Sätt tillbaka den tomma behållaren i buffertfacket.
- 4 Välj **Continue** (fortsätt). Körningen fortsätter automatiskt.

Arbetsflöde för rehybridisering

En rehybridiseringskörning kan krävas om de värden som genererats under de första cyklerna uppvisar en intensitet under 2 500. Vissa bibliotek med låg mångfald kan visa intensiteter under 1 000, vilket är förväntat, och detta kan inte lösas med rehybridisering.



OBS!

Kommandot End Run (avsluta körning) är slutgiltigt. Körningen kan inte återupptas, förbrukningsmaterial som använts kan inte återanvändas och sekvenseringsdata från körningen sparas inte.

När du avslutar en körning utförs följande steg i programmet innan körningen avslutas:

- ▶ Flödescellen placeras i ett säkert tillstånd.
- ▶ Flödescellens RFID låses upp för senare körning.
- ▶ Flödescellen tilldelas ett utgångsdatum för rehybridisering.
- ▶ Körningsloggarna för utförda cykler skrivs. En fördröjning är normalt.
- ▶ Den automatiska rengöringen efter en körning kringgås.

När du startar en rehybridiseringskörning utförs följande steg i programmet:

- ▶ En körningsmapp baserad på ett unikt körningsnamn skapas.
- ▶ En kontroll av att flödescellens rehybridiseringsdatum inte har passerats utförs.
- ▶ Reagenser primas. En fördröjning är normalt.
- ▶ Klustringssteget hoppas över.
- ▶ Den föregående läsning 1-primern tas bort.
- ▶ En ny läsning 1-primer hybridiseras.
- ▶ Läsning 1 och resten av körningen fortsätter utifrån angivna körningsparametrar.

Tidpunkter att avsluta en körning för rehybridisering

Senare rehybridisering är endast möjligt om du avslutar körningen vid följande tidpunkter:

- ▶ **After cycle 5** (efter cykel 5) – Intensiteter visas efter mallregistrering, för vilken de första fem cyklerna av sekvensering krävs. Även om det är säkert att avsluta en körning efter cykel 1 rekommenderas att avsluta efter cykel 5. Avsluta inte en körning under klustergenerering.
- ▶ **Read 1 or Index 1 Read** (läsning 1 eller Index 1-läsning) – Avsluta körningen *innan* paired-end-återsyntesen börjar. Flödescellen kan inte sparas för senare rehybridisering efter att paired-end-återsyntesen har börjat.

Förbrukningsmaterial som krävs

En rehybridiseringskörning kräver en ny NextSeq 550Dx-reagenskassett och -buffertkassett, oavsett när körningen stoppades.

Avsluta aktuell körning

- 1 Välj **End Run** (avsluta körning). När du uppmanas att bekräfta kommandot väljer du **Yes** (ja).
- 2 När du uppmanas att spara flödescellen väljer du **Yes** (ja). Observera utgångsdatumet för rehybridisering.
- 3 Ta bort den sparade flödescellen och förvara i 2 °C till 8 °C tills du är redo att ställa in rehybridiseringskörningen.



OBS!

Du kan förvara flödescellen i upp till sju dagar i 2 °C till 8 °C i plastväskan *utan* desickantförpackningen. Rehybridisera den sparade flödescellen inom tre dagar för bästa resultat.

Utföra en manuell rengöring

- 1 Välj **Perform Wash** (utför rengöring) på skärmen Home (start).
- 2 Välj **Manual Post-Run Wash** (manuell rengöring efter körning) på skärmen Wash Selection (val av rengöring). Se *Utföra en manuell rengöring på sidan 37*.



OBS!

Om du inte har avlägsnat reagenskassetten och buffertkassetten från den avbrutna körningen kan du använda dem vid den manuella rengöringen. Utför i annat fall den manuella rengöringen med reagenstvättkassetten och buffertvättkassetten.

Ställa in en ny körning på fliken Prep (förberedelse) i BaseSpace

- 1 Om instrumentet är konfigurerat för BaseSpace eller BaseSpace Onsite ställer du in en ny körning på fliken Prep (förberedelse) med hjälp av samma parametrar som för den ursprungliga körningen.



TIPS

Klicka på fliken Pools (pooler), välj lämpligt pool-id för att behålla den föregående körningens inställningar och tilldela sedan den nya körningen ett unikt namn.

Ställa in en instrumentkörning

- 1 Förbered en ny reagenskassett.
- 2 Om den sparade flödescellen har varit i förvaring låter du den uppnå rumstemperatur (15–30 minuter).
- 3 Rengör och ladda den sparade flödescellen.

- 4 Ta ut behållaren med förbrukad reagens och kassera innehållet på tillbörligt sätt, och ladda sedan den tomma behållaren på nytt.
- 5 Ladda den nya buffertkassetten och reagenskassetten.
- 6 Välj bland följande alternativ på skärmen Run Setup (körningsinställning):
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace eller BaseSpace Onsite) – Välj körningen och bekräfta körningsparametrarna.
 - ▶ **Standalone (fristående)** – Ange namnet på körningen och ange samma parametrar som för den ursprungliga körningen.
- 7 Välj **Next** (nästa) för att gå vidare till kontrollen före körning och starta körningen.

BeadChip- och skanningsfel

Programvaran kan inte läsa BeadChip-streckkoden

När dialogrutan med streckkodsfel visas kan du göra något av följande alternativ:

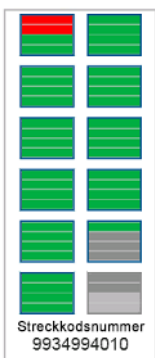
- ▶ Tryck på **Rescan** (skanna om). Programvaran försöker då läsa streckkoden igen.
- ▶ Välj textfältet och ange streckkodens siffror så som bilden visar. Beroende på vilket BeadChip som används kan streckkoden ha upp till 12 siffror. Tryck på **Save** (spara). Streckkodens bild sparas då i utdatamappen.
- ▶ Tryck på **Cancel** (avbryt). Avbildningsenhetens lucka öppnas då för urtagning av BeadChip-adaptren.

Fel vid BeadChip-skanning

Bilder registreras efter att de har skannats. Under registrering identifieras pärlorna genom att platserna på den skannade bilden kopplas samman med den information som finns i pärlkartan, eller DMAP-mappen.

Sektioner som inte kan registreras visas i rött på BeadChip-bilden.

Bild 28 BeadChip med sektioner som genererat fel



När skanningen är klar och skanningsdata skrivs till utdatamappen så aktiveras knappen Rescan (skanna om).

När du trycker på Rescan (skanna om) utför programvaran följande steg:

- ▶ Skannar om prover med sektioner som misslyckades, denna gång med större överlappning mellan plattorna.
- ▶ Genererar utdatafiler i den ursprungliga utdatamappen.

- ▶ Skriver över tidigare utdatafiler för de misslyckade sektionerna.
- ▶ Ökar skanningsräknaren med 1 för varje omskanning, men gör detta i bakgrunden. Programvaran byter inte namn på utdatamappen.

Skanna om eller starta en ny skanning

- 1 Tryck på **Rescan** (skanna om) för att skanna om prover med sektioner som misslyckades.
- 2 Om skanningen misslyckas igen ska du avsluta den.
- 3 Ta bort ditt BeadChip och adaptorn och kontrollera att det inte finns något damm eller skräp på BeadChip-enheten. Använd tryckluft på burk eller annan tryckluftsbaserad damningsmetod för att rensa bort skräpet.
- 4 Sätt tillbaka BeadChip-enheten och starta en ny skanning.
När en ny skanning startas utför programvaran följande steg:
 - ▶ Skannar hela BeadChip-enheten.
 - ▶ Genererar utdatafiler i en ny utdatamapp.
 - ▶ Ökar skanningsräknaren med 1 baserat på antalet skanningar vid den senaste omskanningen.

Byta ut manifest- och klusterfiler

- 1 Gå till Illuminas supportsida (support.illumina.com) för det BeadChip du använder och klicka på fliken **Downloads** (nedladdningar).
- 2 Ladda ned de filer som ska bytas ut eller uppdateras, och kopiera filerna till önskad nätverksplats.



OBS!

Se till att du väljer manifest- och klusterfiler som är kompatibla med NextSeq 550Dx-systemet. Kompatibla filer har **NS550** i sitt filnamn.


- 3 Om sökvägen har ändrats ska du uppdatera den på skärmen BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skanningskonfiguration) på följande sätt:
 - a Tryck på **Manage Instrument** (hantera instrument) på NCS-startskärmen.
 - b Tryck på **System Configuration** (systemkonfiguration).
 - c Välj **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skanningskonfiguration).
- 4 Välj **Browse** (bläddra) för att gå till den plats där de utbytta eller uppdaterade filerna finns.

Egna recept och receptmappar


Ändra inte originalrecept. Gör alltid en kopia av originalrecept och ge det ett nytt namn. Om ett originalrecept ändras känner programuppdateraren inte längre igen receptet vid senare uppdateringar, och nya versioner installeras inte.

Egna recept ska sparas i tillämplig receptmapp. Receptmapparna är organiserade på följande vis:

 **Custom** (egna)

 **High** (hög) – Egna recept som används med ett högproduktivt kit.

 **Mid** (medel) – Egna recept som används med ett medelproduktivt kit.

 **High** (hög) – Originalrecept som används med ett högproduktivt kit.

 **Mid** (medel) – Originalrecept som används med ett medelproduktivt kit.

 **Wash** (rengöring) – Innehåller receptet för manuell rengöring.

RAID-felmeddelande

NextSeq 550Dx-datorn har fyra hårddiskar – två för diagnostiskt läge och två för research-läge. Om en hårddisk börjar få problem genererar systemet ett RAID-felmeddelande och föreslår att du kontaktar Illuminas tekniska support. Vanligen måste hårddisken bytas ut.

Du kan fortsätta med körningskonfigurationen och normal drift. Meningen med meddelandet är att kunna boka in service i förväg så att avbrott undviks under normal instrumentdrift. Tryck på **Close** (stäng) för att fortsätta.

Konfigurera systeminställningar

Systemet konfigureras vid installationen. Om en ändring emellertid krävs eller om systemet måste konfigureras om kan detta göras med hjälp av konfigurationsalternativen. Endast Windows-administratörskonton har behörighet att komma åt konfigurationsalternativen.

- ▶ **Network Configuration** (nätverkskonfiguration) – Alternativ för IP-adress, DNS-adress (domännamnserver), datornamn och domännamn.
- ▶ **Analysis Configuration** (analyskonfiguration) – Alternativ för analysmetoder, inklusive BaseSpace, BaseSpace Onsite, fristående läge och körningsövervakning i BaseSpace, inställningar för BaseSpace-standardinloggning och rapportering av instrumentets tillstånd.
- ▶ **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skanningskonfiguration) – Alternativ för att ange standard för DMAP-mappens sökväg, utdatamappens sökväg, filformat för sparade bilder och filtyp för utdata.

Ställ in nätverkskonfiguration

- 1 Välj **System Configuration** (systemkonfiguration) på skärmen Manage Instrument (hantera instrument).
- 2 Välj **Network Configuration** (nätverkskonfiguration).
- 3 Välj **Obtain an IP address automatically** (erhåll en IP-adress automatiskt) för att erhålla en IP-adress med DHCP-servern.



OBS!

Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) är ett standardnätverksprotokoll som används på IP-plattformar för dynamisk distribuering av nätverkskonfigurationsparametrar.

Alternativt väljer du **Use the following IP address** (använd följande IP-adress) för att manuellt ansluta instrumentet till en annan server på följande sätt. Kontakta nätverksadministratören för de adresser som är specifika för din anläggning.

- ▶ Ange IP-adressen. IP-adressen är en serie med fyra tal som åtskiljs av punkter, till exempel 168.62.20.37.
 - ▶ Ange nätmasken, vilket är en underavdelning i IP-nätverket.
 - ▶ Ange standardgateway, det vill säga routern i nätverket som ansluter till internet.
- 4 Välj **Obtain a DNS server address automatically** (erhåll en DNS-serveradress automatiskt) för att ansluta instrumentet till den domännamnsserver som är kopplad till IP-adressen. Alternativt väljer du **Use the following DNS server addresses** (använd följande DNS-serveradresser) för att ansluta instrumentet till domännamnservern manuellt enligt följande.
 - ▶ Ange vald DNS-adress. DNS-adressen är servernamnet som används för att översätta domännamn till IP-adresser.

- ▶ Ange alternativ DNS-adress. Den alternativa adressen används om den valda DNS-adressen inte kan översätta ett visst domännamn till en IP-adress.
- 5 Välj **Save** (spara) för att gå vidare till skärmen Computer (dator).



OBS!

Instrumentdatornamnet tilldelas instrumentdatorn när den tillverkas. Alla ändringar av datornamnet kan påverka anslutningen och kräver en nätverksadministratör.

- 6 Anslut instrumentdatorn till en domän eller en arbetsgrupp på följande sätt.
- ▶ **För instrument som är anslutna till internet** – Välj **Member of Domain** (medlem i domän) och ange sedan domännamnet som är kopplat till anläggningens internetanslutning. Domänändringar kräver ett administratörsanvändarnamn och -lösenord.
 - ▶ **För instrument som inte är anslutna till internet** – Välj **Member of Work Group** (medlem i arbetsgrupp) och ange sedan ett arbetsgruppsnamn. Arbetsgruppsnamnet är unikt för din anläggning.
- 7 Välj **Save** (spara).

Ställa in analyskonfiguration

- 1 Välj **System Configuration** (systemkonfiguration) på skärmen Manage Instrument (hantera instrument).
- 2 Välj **Analysis Configuration** (analyskonfiguration).
- 3 Välj bland följande alternativ för att ange en plats där data överförs för senare analys.
 - ▶ Välj **BaseSpace** för att skicka sekvenseringsdata till Illumina BaseSpace. **[Valfritt]** Markera kryssrutan **Output Folder** (utdatamapp), välj **Browse** (bläddra) och navigera till en sekundär nätverksplats för att spara BCL-filer och BaseSpace.
 - ▶ Välj **BaseSpace Onsite**. Ange hela sökvägen för BaseSpace Onsite-servern i fältet Server Name (servernamn). **[Valfritt]** Markera kryssrutan **Output Folder** (utdatamapp), välj **Browse** (bläddra) och navigera till en sekundär nätverksplats för att spara BCL-filer och BaseSpace Onsite-servern.
 - ▶ Välj **Standalone instrument** (fristående instrument) för att spara data till en nätverksplats. Välj **Browse** (bläddra) och navigera till önskad nätverksplats. Kontrollprogrammet genererar namnet för utdatamappen automatiskt.
 - ▶ **[Valfritt]** Välj **Use Run Monitoring** (använd körningsövervakning) för att övervaka körningen med visualiseringsverktyg på BaseSpace. En BaseSpace-inloggning och internetanslutning krävs.
- 4 Om du valde BaseSpace eller BaseSpace Onsite ska BaseSpace-parametrarna konfigureras på följande sätt.
 - ▶ Ange **User Name** (användarnamn) och **Password** (lösenord) för BaseSpace för att registrera instrumentet med BaseSpace.
 - ▶ Välj **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (använd standardinloggning och hoppa över BaseSpace-inloggningsskärmen) för att ange standardinloggningssuppgifterna som registrerat användarnamn och lösenord. Denna inställning gör att du hoppar över BaseSpace-skärmen under konfigurationen.
- 5 Välj **Send instrument health information to Illumina** (skicka information om instrumentets tillstånd till Illumina) för att aktivera tjänsten Illumina Proactive monitoring. Namnet på inställningen i programgränssnittet kan skilja sig från namnet i denna handbok, beroende på vilken version av NCS som används.

När den här inställningen är aktiverad skickas instrumentets prestandadata till Illumina. Informationen gör det lättare för Illumina att felsöka och upptäcka eventuella fel, vilket möjliggör proaktivt underhåll och maximerar instrumentets drifttid. Mer information om fördelarna med denna tjänst finns i *Teknisk anmärkning för Illumina Proactive* (dokumentnummer 100000052503).

Tjänsten:

- ▶ skickar inte sekvenseringsdata
- ▶ kräver att instrumentet ansluts till ett nätverk med internetuppkoppling
- ▶ kräver att instrumentet ansluts till BaseSpace



OBS!

Det här alternativet är inte tillgängligt för BaseSpace Onsite

- ▶ är aktiverad som standard. Välj bort tjänsten genom att inaktivera inställningen **Send instrument health information to Illumina** (skicka information om instrumentets tillstånd till Illumina).

6 Välj **Save** (spara).

BeadChip-skanningskonfiguration

- 1 Välj **System Configuration** (systemkonfiguration) på skärmen Manage Instrument (hantera instrument).
- 2 Välj **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skanningskonfiguration).
- 3 Ange en standardplats för DMAP-mapp genom att välja **Browse** (bläddra) och gå till önskad mapp på anläggningens nätverk.



OBS!

Ladda ner och kopiera DMAP-innehållet till denna plats före varje skanning. DMAP-innehåll krävs för varje BeadChip och är unikt för varje BeadChip-streckkod.

- 4 Ange en standardplats för utdata genom att välja **Browse** (bläddra) och gå till önskad plats på anläggningens nätverk.
- 5 Välj ett bildfilformat för sparade bilder. Standardbildtypen är **JPG**.
- 6 Välj ett utdatafilformat för skanningsdata. Standardfiltypen för utdata är **endast GTC**.
- 7 Välj **Save** (spara).
- 8 På skärmen Scan Map (skanningskarta) anger du den fullständiga sökvägen till manifestfilen och klusterfilen för varje BeadChip-typ. Välj **Browse** (bläddra) för varje filtyp och navigera till den mappplats som innehåller dessa filer.
- 9 **[Valfritt]** Välj **Hide Obsolete BeadChips** (dölj föråldrade BeadChip-enheter) för att ta bort föråldrade BeadChip-enheter från vyn.
- 10 Välj **Save** (spara).

Bilaga B Realtidsanalys

Översikt över realtidsanalys	55
Arbetsflöde för realtidsanalys	56

Översikt över realtidsanalys

NextSeq 550Dx-instrumentet använder implementeringen RTA2 av programvaran Real-Time Analysis (RTA). RTA2 körs på instrumentdatorn och extraherar intensiteter från bilder, utför basbestämning och ger basbestämningen ett kvalitetsresultat. RTA2 och kontrollprogrammet kommunicerar via ett webbaserat HTTP-gränssnitt och gemensamma minnesfiler. Om RTA2 har avslutats återtas inte bearbetningen och körningsdata sparas inte.



OBS!

Demultiplexresultat beräknas inte. Fliken Index i Sequencing Analysis Viewer (SAV) innehåller därför inga värden.

RTA2-indata

RTA2 kräver följande indata vid bearbetning:

- ▶ Plattbilder från det lokala systemets minne.
- ▶ RunInfo.xml, som genereras automatiskt i början av körningen och innehåller körningens namn, antal cykler, om en läsning är indexerad och antalet plattbilder på flödescellen.
- ▶ RTA.exe.config, som är en programvarukonfigurationsfil i XML-format.

RTA2 får kommandon från kontrollprogrammet om var RunInfo.xml finns och om en alternativ utdatamapp har angetts.

RTA v2-utdatafiler

Bilder för varje kanal överförs till minnet som plattbilder. Plattor är små avbildningsområden på flödescellen som kameran definierar som synfält. Baserat på dessa bilder skapar programvaran utdata i form av en uppsättning kvalitetsbedömda basbestämningsfiler och filterfiler. Alla andra utdatafiler är hjälpfiler.

Filtyp	Beskrivning
Basbestämningsfiler	Varje plattbild som analyseras inkluderas i en aggregerad basbestämningsfil (*.bcl.bgzf) för varje spår och cykel. Den aggregerade basbestämningsfilen innehåller basbestämningen och tillhörande kvalitetsresultat för varje kluster i det spåret.
Filterfiler	Varje plattbild ger filterinformation som aggregeras i en filterfil (*.filter) för varje spår. Filterfilen anger om ett kluster passerar filtren.
Klusterplatsfiler	Klusterplatsfiler (*.locs) innehåller X- och Y-koordinater för varje kluster i en plattbild. En klusterplatsfil skapas för varje spår vid mallgenerering.
Basbestämningsindexfiler	En basbestämningsindexfil (*.bci) tas fram för varje spår för att bevara den ursprungliga plattbildsinformationen. Indexfilen innehåller ett värdepar för varje plattbild med plattbildens nummer och antal kluster för plattbildens.

Utdatafiler används för nedströmsanalys i BaseSpace. Du kan också använda bcl2fastq-konverteringsprogram för FASTQ-konvertering och analyslösningar från tredje part. NextSeq 550Dx-filer kräver bcl2fastq v2.0 eller senare. Du hittar den senaste versionen av bcl2fastq på [sidan för hämtning av NextSeq 550Dx](#) på Illuminas webbplats.

RTA v2 ger körningskvalitetsvärden i realtid lagrade som InterOp-filer. InterOp-filer är binära utdata som innehåller värden för plattbild, cykel och läsningnivå, och dessa krävs för att visa värden i realtid med hjälp av Sequencing Analysis Viewer (SAV). Du hittar den senaste versionen av SAV på [sidan för hämtning av SAV](#) på Illuminas webbplats.

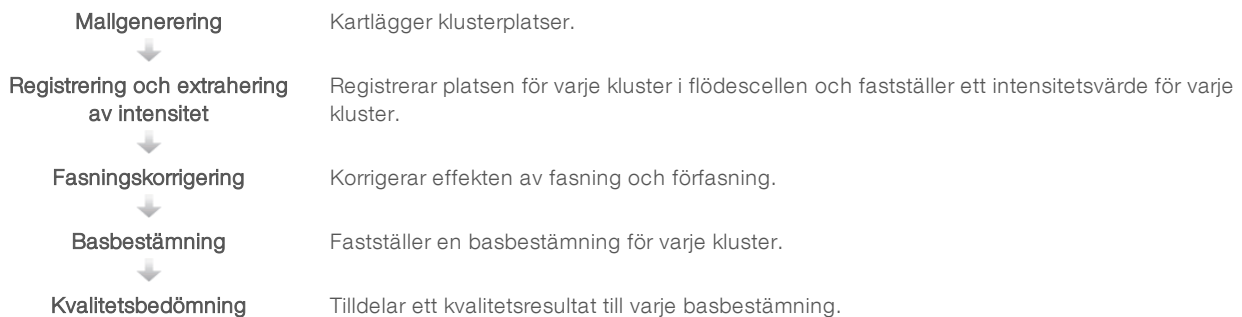
Felhantering

RTA2 skapar loggfiler och skriver dem till mappen RTALogs. Fel registreras i en felfil i formatet *.tsv.

Följande logg- och felfiler överförs till den slutgiltiga utdatadestinationen när bearbetningen har slutförts:

- ▶ *GlobalLog*.tsv sammanfattar viktiga körningshändelser.
- ▶ *Error*.tsv listar fel som inträffat under en körning.
- ▶ *WarningLog*.tsv listar varningar som inträffat under en körning.

Arbetsflöde för realtidsanalys



Mallgenerering

Det första steget i RTA-arbetsflödet är mallgenerering, som definierar positionen för varje kluster i en ruta med X- och Y-koordinater.

Mallgenerering kräver bilddata från de första fem cyklerna i körningen. Mallen genereras när den sista mallcykeln för en ruta avbildats.



OBS!

Det måste finnas minst en bas utöver G i de första **fem** cyklerna för att ett kluster ska identifieras under mallgenerering. RTA v2 kräver minst en bas utöver G i de första **två** cyklerna för alla indexsekvenser.

Mallen används som referens för efterföljande steg för registrering och extrahering av intensitet.

Klusterpositioner för hela flödescellen skrivs till klusterplatsfiler (*.locs), en fil för varje spår.

Registrering och extrahering av intensitet

Registrering och extrahering av intensitet börjar efter mallgenerering.

- ▶ Under registreringen passas de bilder som tas under varje efterföljande avbildningscykel in efter mallen.
- ▶ Under extrahering av intensitet fastställs ett intensitetsvärde för varje kluster i mallen för den aktuella bilden.

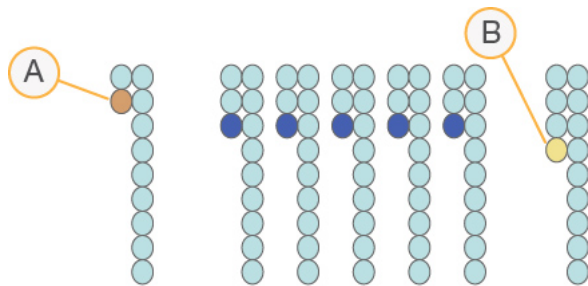
Om registreringen misslyckas för några bilder i en cykel så genereras inga basbestämningar för den plattan i den cykeln. Använd programvaran Sequencing Analysis Viewer (SAV) för att undersöka miniatyrbilderna och identifiera vilka bilder som inte klarade registreringen.

Fasningskorrigerering

Under sekvenseringsreaktionen förlängs varje DNA-sträng i ett kluster med 1 bas per cykel. Fasning och förfasning inträffar när en sträng hamnar ur fas med den aktuella inkorporeringscykeln.

- ▶ Fasning inträffar när en bas hamnar efter.
- ▶ Förfasning inträffar när en bas hamnar före.

Bild 29 Fasning och förfasning



- A Avläsning med en bas som är ett exempel på fasning.
- B Avläsning med en bas som är ett exempel på förfasning.

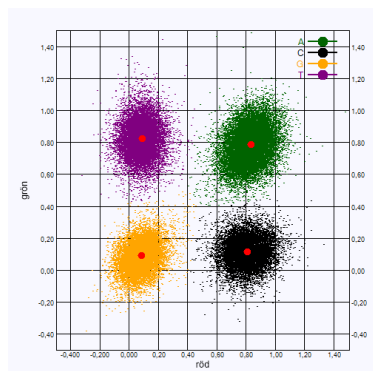
RTA2 korrigerar effekterna av fasning och förfasning så att datakvaliteten maximeras för varje cykel i körningen.

Basbestämning

Basbestämning bestämmer en bas (A, C, G eller T) för alla kluster på en specifik platta i en specifik cykel. I NextSeq 550Dx-instrumentet används tvåkanalssekvensering, som endast kräver två bilder för att koda data för fyra DNA-baser, en från den röda kanalen och en från den gröna kanalen.

Intensiteter som extraherats från en bild jämförs med en annan bild, vilket ger fyra olika populationer som motsvarar var sin nukleotid. Med hjälp av basbestämning avgörs vilken population som tillhör vilket kluster.

Bild 30 Visualisering av klusterintensiteter



Tabell 1 Basbestämningar i tvåkanalssekvensering

Bas	Röd kanal	Grön kanal	Resultat
A	1 (på)	1 (på)	Kluster som visar intensitet i både den röda och den gröna kanalen.
C	1 (på)	0 (av)	Kluster som visar intensitet enbart i den röda kanalen.
G	0 (av)	0 (av)	Kluster som inte visar intensitet på någon av de kända klusterplatserna.
T	0 (av)	1 (på)	Kluster som visar intensitet enbart i den gröna kanalen.

Passerfilter för kluster

Under körningen filtrerar RTA2 alla rådata och tar bort läsningar som inte håller kvalitetsmättet. Överlappande kluster eller kluster av låg kvalitet tas bort.

För tvåkanalsanalys använder RTA2 ett populationsbaserat system för att avgöra en basbestämningens renhet. Kluster passerar filtret (PF) när högst en basbestämning i de första 25 cyklerna har en renhet på $< 0,63$. Kluster som inte passerar filtret basbestäms inte.

Att tänka på vid indexering

Processen för basbestämning vid indexläsning skiljer sig från basbestämning vid andra läsningar.

Indexläsningar måste börja med minst en annan bas än G i någon av de första två cyklerna. Om en indexläsning börjar med två basbestämningar av G genereras inte någon signalintensitet. Signalen måste finnas i någon av de första två cyklerna för att demultiplexningen ska fungera.

För att öka demultiplexningens stabilitet bör du välja indexsekvenser som ger signal i minst en kanal, helst båda kanalerna, för varje cykel. Genom att följa den här riktlinjen undviker du indexkombinationer som resulterar i enbart G-baser i en cykel.

- ▶ Röd kanal – A eller C
- ▶ Grön kanal – A eller T

Denna process för basbestämning ser till att resultatet blir rättvisande vid analys av lågplex-prover.

Kvalitetsbedömning

Ett kvalitetsresultat, eller ett Q-resultat, mäter sannolikheten för en felaktig basbestämning. Ett högt Q-resultat indikerar att en basbestämning är av bra kvalitet och sannolikt är korrekt.

Q-resultatet är ett praktiskt sätt att mäta sannolikheten för små fel. Q-resultat skrivs som Q(X), där X är poängen. Följande tabell visar relationen mellan kvalitetsresultatet och sannolikheten för fel.

Q-resultat Q(X)	Felsannolikhet
Q40	0,0001 (1 på 10 000)
Q30	0,001 (1 på 1 000)
Q20	0,01 (1 på 100)
Q10	0,1 (1 på 10)



OBS!

Kvalitetsresultat baseras på en anpassad version av Phred-algoritmen.

Metoden beräknar en uppsättning variabler för varje basbestämning och använder sedan variablernas värden för att hitta Q-resultatet i en kvalitetstabell. Kvalitetstabeller skapas för att ge optimalt noggranna kvalitetsprognoser för körningar som skapas av en specifik konfiguration av sekvenseringsplattform och uppsättning av kemikalier.

När Q-resultatet är bestämt sparas resultaten i basbestämningsfiler (*.bcl.bgzf).

Bilaga C Utdatafiler och -mappar

Utdatafiler för sekvensering	61
Mappstruktur för sekvenseringsutdata	63
Utdatafiler för skanning	64
Mappstruktur för skanningsutdata	65

Utdatafiler för sekvensering

Filtyp	Filbeskrivning, -plats och namn
Basbestämningsfiler	Varje plattbild som analyseras inkluderas i en basbestämningsfil, som aggregeras i en fil för varje spår och cykel. Den aggregerade filen innehåller basbestämningen och ett kodat kvalitetsresultat för varje kluster i det spåret. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer lagras i en mapp för varje spår. [Cykel].bcl.bgzf, där [Cykel] betecknar cykelnumret med fyra siffror. Basbestämningsfiler komprimeras till gzip-format.
Basbestämningsindexfil	För varje spår finns en binär indexfil där den ursprungliga plattbildsinformationen anges i form av ett värdepar för varje plattbild, innehållande plattbildens nummer och antal kluster för plattbild. Basbestämningsindexfiler skapas första gången en basbestämningsfil skapas för det spåret. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer lagras i en mapp för varje spår. s_[spår].bci
Klusterplatsfiler	För varje plattbild aggregeras XY-koordinaterna för varje kluster i en klusterplatsfil för respektive spår. Klusterplatsfiler är resultatet av mallgenerering. Data\Intensities\L00[X] – Filer lagras i en mapp för varje spår. s_[spår].locs
Filterfiler	Filterfilen anger om ett kluster har passerat filtren. Filterinformationen aggregeras i en filterfil för varje spår och läsning. Filterfiler genereras under cykel 26 med data från de föregående 25 cyklerna. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer lagras i en mapp för varje spår. s_[spår].filter
InterOp-filer	Binära rapporteringsfiler används i Sequencing Analysis Viewer (SAV). InterOp-filerna uppdateras kontinuerligt under körningen. InterOp-mapp
RTA-konfigurationsfil	RTA-konfigurationsfilen innehåller inställningar för körningen och skapas i början av körningen. [Rotmapp], RTAConfiguration.xml
Körningsinformationsfil	Innehåller en lista över körningens namn, antal cykler i varje läsning, om läsningen är indexerad samt antalet svep och plattbilder på flödescellen. Körningsinformationsfilen skapas i början av körningen. [Rotmapp], RunInfo.xml

Flödescellens plattor

Plattor är små avbildningsområden på flödescellen som kameran definierar som synfält. Det totala antalet plattor beror på antalet spår, stråk och ytor som avbildas på flödescellen, och hur kamerorna samverkar för att ta bilderna. Högproduktiva flödesceller har totalt 864 plattor.

Tabell 2 Flödescellens plattor

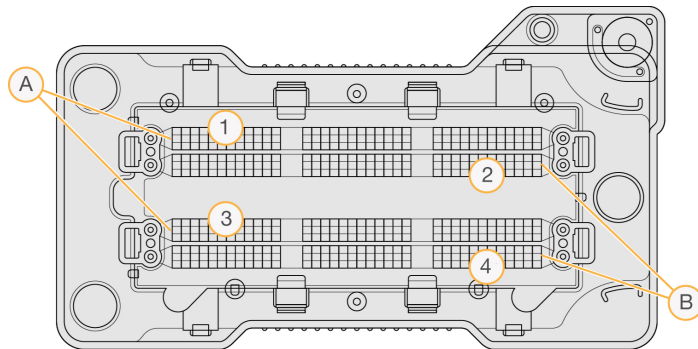
Flödescellskomponent	Högproduktiv	Beskrivning
Spår	4	Ett spår är en fysisk kanal med särskilda ingångs- och utgångsportar.
Ytor	2	Flödescellen avbildas på två ytor: över och under. Först avbildas den övre ytan på en platta, och sedan den undre ytan på samma platta. Därefter påbörjas nästa platta.

Flödescellskomponent	Högproduktiv	Beskrivning
Stråk per spår	3	Ett stråk är en kolumn med plattor i ett spår.
Kamerasegment	3	Instrumentet använder sex kameror för att avbilda flödescellen i tre segment för varje spår.
Plattor per stråk per kamerasegment	12	En platta är det område på flödescellen som kameran ser som 1 bild.
Totalt antal plattor som avbildas	864	Det totala antalet plattor är lika med spår × ytor × stråk × kamerasegment × plattor per stråk per segment.

Spårnumrering

Spår 1 och 3, som kallas spårpar A, avbildas samtidigt. Spår 2 och 4, som kallas spårpar B, avbildas när avbildningen av spårpar A är klar.

Bild 31 Spårnumrering

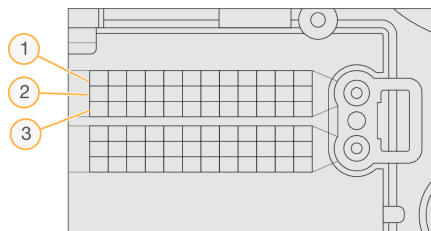


- A Spårpar A – spår 1 och 3
- B Spårpar B – spår 2 och 4

Stråknumrering

Varje stråk avbildas i tre svep. Stråken är numrerade 1–3 för högproduktiva flödesceller.

Bild 32 Stråknumrering

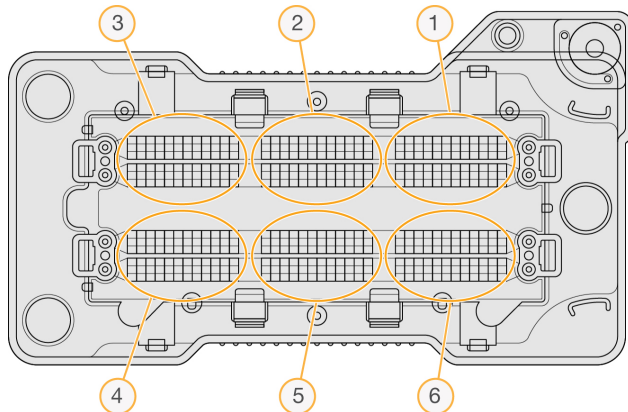


Kameranummering

NextSeq 550Dx-instrumentet använder sex kameror för att avbilda flödescellen.

Kamerorna är numrerade 1–6. Kamera 1–3: bildspår 1. Kamera 4–6: bildspår 3. När spår 1 och 3 har avbildats flyttar avbildningsmodulen längs x-axeln till bildspår 2 och 4.

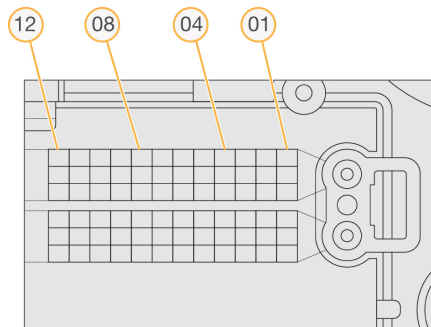
Bild 33 Kamera- och segmentnumrering (högproduktiv flödescell visas på bilden)



Plattnumrering

Det finns tolv plattor i varje stråk av varje kamerasegment. Plattorna är numrerade 01–12, oberoende av stråknummer eller kamerasegment, and anges med två siffror.

Bild 34 Plattnumrering



Det fullständiga plattnumret består av fem siffror som representerar dess plats på följande sätt:

- ▶ **Yta** – 1 representerar den övre ytan; 2 representerar den undre ytan
- ▶ **Stråk** – 1, 2 eller 3
- ▶ **Kamera** – 1, 2, 3, 4, 5 eller 6
- ▶ **Platta** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 eller 12

Exempel: Plattnummer 12508 anger den övre ytan, stråk 2, kamera 5 och platta 8.

Hela det femsiffriga plattnumret används i filnamnet i miniatyrbilder och filer för empirisk fasning. Mer information finns i [Utdatafiler för sekvensering](#) på sidan 61.

Mappstruktur för sekvenseringsutdata

Kontrollprogrammet genererar namnet för utdatamappen automatiskt.

📁 Data

📁 Intensities (intensiteter)

📁 BaseCalls (basbestämningar)

📁 L001 – Basbestämningsfiler för spår 1, aggregerade i 1 fil per cykel.

📁 L002 – Basbestämningsfiler för spår 2, aggregerade i 1 fil per cykel.

📁 L003 – Basbestämningsfiler för spår 3, aggregerade i 1 fil per cykel.

📁 L004 – Basbestämningsfiler för spår 4, aggregerade i 1 fil per cykel.

📁 L001 – En aggregerad *.locs-fil för spår 1.

📁 L002 – En aggregerad *.locs-fil för spår 2.

📁 L003 – En aggregerad *.locs-fil för spår 3.

📁 L004 – En aggregerad *.locs-fil för spår 4.

📁 Images (bilder)

📁 Focus (fokus)

📁 L001 – Fokusbilder för spår 1.

📁 L002 – Fokusbilder för spår 2.

📁 L003 – Fokusbilder för spår 3.

📁 L004 – Fokusbilder för spår 4.

📁 InterOp – Binära filer som används av Sequencing Analysis Viewer (SAV).

📁 Logs (loggar) – Loggfiler som beskriver operativa steg.

📁 Recipe (recept) – Körningsspecifik receptfil med namn från reagenskassetten id.

📁 RTALogs – Loggfiler som beskriver analyssteg.

📄 RTAConfiguration.txt

📄 RunInfo.xml

📄 RunNotes.xml

📄 RunParameters.xml

Utdatafiler för skanning

Filtyp	Filbeskrivning, -plats och namn
GTC-filer	Genotype call-fil. En GTC-fil genereras för varje prov som skannas med BeadChip-enheten. Filnamnet inkluderar streckkoden och provet som skannats. [streckkod]_[prov].gtc
Bildfiler	Bildfiler får sitt namn efter det område som skannats på BeadChip-enheten. Namnet inkluderar streckkod, prov och sektion på BeadChip-enheten, stråk och bildkanal (röd eller grön). [streckkod]_[prov]_[sektion]_[stråk]_[kamera]_[platta]_[kanal].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Streckkod – Filnamnet börjar med BeadChip-streckkoden. • Prov – Ett område på BeadChip-enheten som är numrerat som en rad (ROX), uppifrån och ned, och en kolumn (COX), från vänster till höger. • Sektion – En numrerad rad inom ett prov. • Stråk – BeadChip avbildas som en samling överlappande plattor. Därför används bara ett stråk för att avbilda sektionen. • Kamera – Den kamera som tagit bilden. • Platta – Ett avbildningsområde som kameran definierar som synfält. • Kanal – En kanal är antingen röd eller grön.

Mapstruktur för skanningsutdata

- 📁 [Datum]_[Instrumentets namn]_[Skanningsnr]_[Streckkod]
 - 📁 [Streckkod]
 - 📁 **Config** (konfig.)
 - 📄 Effective.cfg – Registrerar konfigurationsinställningar som används under skanning.
 - 📁 **Focus** (fokus) – Innehåller bildfiler som används för att fokusera skanningen.
 - 📁 **Logs** (loggar) – Innehåller loggfiler som beskriver alla åtgärder som utförs under skanning.
 - 📁 **PreScanDiagnosticFiles** (diagnosfiler före skanning)
 - 📁 [Datum_Tid] **Barcode Scan** (strekkodsskanning)
 - 📄 ProcessedBarcode.jpg – Bild av BeadChip-strekkoden.
 - 📄 Scanning Diagnostics (skanningsdiagnostik) (loggfiler)
 - 📄 PreScanChecks.csv – Registrerar resultatet av den automatiska kontrollen.
 - 📄 GTC-filer – Genotype call-filer (1 fil per prov).
 - 📄 IDAT-filer – [Valfritt] Intensitetsdatafiler (2 filer per prov; 1 per kanal).
 - 📄 Bildfiler – Skanningsbilder för varje prov, sektion, stråk, kamera, platta och kanal.
 - 📄 [Streckkod]_sample_metrics.csv
 - 📄 [Streckkod]_section_metrics.csv
 - 📄 ScanParameters.xml

Index

A

- adapter
 - BeadChip-orientering 31
 - sätta i BeadChip 32
 - översikt 6
- analys
 - utdatafiler 61
- analys, primär
 - signalrenhet 58
- användarnamn och lösenord 11
- arbetsflöde
 - att tänka på vid indexering 58
 - avancerat laddningsalternativ 13
 - BaseSpace-inloggning 18
 - BaseSpace-läge 23
 - BeadChip 32
 - buffertkassett 21
 - flödescell 18
 - fristående läge 23
 - förberedelse av flödescell 17
 - förbrukade reagenser 19
 - kontroll före körning 24, 33
 - körningslängd 15-16
 - körningsvärden 25
 - natriumhypoklorit 38
 - reagenskassett 21
 - sekvensering 56
 - översikt 16, 30
- att tänka på vid indexering 58
- avancerat laddningsalternativ 13
- avbildning, tvåkanalssekvensering 57
- avbildningsenhet 3

B

- basbestämning 57
 - att tänka på vid indexering 58
- basbestämningssfiler 61
- BaseSpace 1, 53
 - inloggning 18
 - överföringsikoner 26
- BaseSpace-konfiguration 23
- BeadChip
 - adapter 6, 31
 - analys 1
 - kan inte läsa streckkoden 50
 - registreringsfel 50
 - streckkodsorientering 31
 - sätta i 32

- typer 1
- BlueFuse Multi-program 1
- buffertfack 3
- buffertkassett 9, 21

C

- cykler i en läsning 15

D

- dataöverföring
 - aktivitetsikoner 26
 - skanningsdata 35
 - tjänst för körningskopiering 26
 - universell kopieringstjänst 26
- delar
 - avbildningsenhet 3
 - buffertfack 3
 - reagensfack 3
 - statusrand 3
- DMAP-mapp
 - filavkodningsklient 29
 - nedladdning 30
- dokumentation 2

E

- empirisk fasning 57

F

- fasning, förfasning 57
- fel och varningar 5
 - indatafiler 56
- fel vid kontroll före körning 46
- felsannolikhet 58
- felsökning
 - behållare med förbrukad reagens 48
 - byta ut manifest- och klusterfiler 51
 - kan inte läsa BeadChip-streckkoden 50
 - kontaktalternativ 45
 - kontroll före körning 46
 - körningsspecifika filer 45
 - registreringsfel vid skanning 50
 - skanningsspecifika filer 46
 - värden för låg kvalitet 48

- filavkodningsklient 29
 - åtkomst via BeadChip 31
 - åtkomst via konto 30
- filterfiler 61
- flödescell
 - avbildning 62
 - förpackning 17
 - inpassningsstift 18
 - plattnumrering 63
 - plattor 61
 - rehybridisering 48
 - rengöring 17
 - spårnumrering 62
 - spårpar 7
 - stråknummer 62
 - typer 1
 - översikt 7
- formamid, position 6 22
- fristående konfiguration 23
- förbrukad reagens
 - full behållare 48
- förbrukade reagenser
 - kassering 19, 39
- förbrukningsmaterial 6
 - buffertkassett 9
 - flödescell 7
 - instrumentunderhåll, förbrukningsmaterial som tillhandahålls av användaren, instrumentunderhåll förbrukningsmaterial 14
 - reagenskassett 8
 - rengöra förbrukningsmaterial 37-38
 - sekvenseringskörning, förbrukningsmaterial som tillhandahålls av användaren 13
 - vatten av laboratoriekvalitet 14
- förebyggande underhåll 37

G

GTC-filer 64

H

- hantera instrument
 - avstängning 43
 - stänga av 43
- hjälp
 - dokumentation 2

I

- ikoner
 - fel och varningar 5
 - status 5
- indatafiler, skanna
 - DMAP-mapp 29
 - DMAP-mapp, ladda ned 30
 - klusterfiler 29, 51
 - manifestfiler 29, 51
- instrument
 - avstängning 43
 - bild 12
 - konfigurationsinställningar 52
 - kortnamn 12
 - lägesindikatorer 12
 - omstart 43
 - start, strömknapp 11
 - strömknapp 5
- instrumentrengöring 37
- intensiteter 57
- InterOp-filer 45, 61

K

- kameranumerering 62
- klustergenerering 15, 25
- klusterplats
 - filer 61
 - mallgenerering 56
- kompatibilitet
 - flödescell, reagenskassett 6
 - RFID-spårning 6, 8
- komponenter
 - avbildningsenhet 3
- Konfiguration 53
- konfigurationsinställningar 52
- kontroll före körning 24, 33
- körningsinställning, avancerat alternativ 13
- körningslängd 15-16
- körningsparametrar
 - BaseSpace-läge 23
 - fristående läge 23
 - redigera parametrar 23
- körningsvärden 25

L

ljud 12

loggfiler
 GlobalLog 56
 LaneNLog 56
luftfilter 4, 40
läsningslängd 15-16

M

mallgenerering 56
mapplats 23

N

natriumhypoklorit, rengöring 38

O

omstart
 instrument 43
onlineutbildning 2

P

passerfilter (PF) 58
passerfilter för kluster 58
Phred-algoritm 58
platsfiler 61
plattnumrering 63
programvara
 automatisk uppdatering 42
 bildanalys, basbestämning, kontrollprogram 4
 initiering 11
 konfigurationsinställningar 52
 körningslängd 15-16
 manuell uppdatering 42
 på instrument 4
programvara för analys i realtid 4
programvara för realtidsanalys 1
 fasning 57

Q

Q-resultat 58

R

RAID-felmeddelande 52
reagenser
 i kitet 6

 korrekt kassering 21
reagensfack 3
reagenskassett
 behållare 28 38
 översikt 8
Real-Time Analysis-program
 resultat, RunInfo.xml 61
Real-Time Analysis-programvara
 arbetsflöde 56
rehybridisering av primer 48
rehybridisering, läsning 1 48
rengöring
 automatisk 26
 manuell rengöring, rengöring
 rengöra komponenter, rengöring
 förbrukningsmaterial som tillhandahålls
 av användaren 37
rengöring efter körning 26
renhetsfilter 58
RFID-spårning 6
riktlinjer för vatten av laboratoriekvalitet 14
RTA2
 felhantering 56
RunInfo.xml 45, 61
RUO-läge 12

S

sekvensering
 förbrukningsmaterial som tillhandahålls av
 användaren 13
 introduktion 15
sekvenseringsarbetsflöde 56
spårnumrering 62
spårpar 62
starta om 43
starta om till research-läge 12
statusmeddelanden 5
statusrand 3
stråknurering 62
strömbrytare 11
strömknapp 5
stänga av instrumentet 43
systemanvändarnamn och -lösenord 11
systeminställningar 12

T

tangentbord 12
teknisk hjälp, hjälp, teknisk, kundtjänst,
 dokumentation 71

tjänst för körningskopiering 26
tjänsten Illumina Proactive monitoring 53
tömma förbrukningsmaterial 13

U

uppdatering av programvaran 41
utdatafiler 61
utdatafiler för skanning
 GTC, IDAT 64
utdatafiler, skanna
 GTC, IDAT 64
utdatafiler,sekvensering 61

W

Windows
 avsluta 43

V

värden
 basbestämning 57
 intensitetscykler 25
 klusterdensitetscykler 25

Teknisk hjälp

Kontakta Illuminas tekniska support för all form av teknisk hjälp.

Webbplats: www.illumina.com
E-post: techsupport@illumina.com

Telefonnummer till Illuminas kundtjänst

Region	Avgiftsfritt	Lokalt
Nordamerika	+1 800-8094566	
Australien	+1 800-775688	
Belgien	+32 80077160	+32 34002973
Danmark	+45 80820183	+45 89871156
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrike	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong	800960230	
Irland	+353 1800936608	+353 016950506
Italien	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800-1115011	
Kina	400-0665835	
Nederländerna	+31 8000222493	+31 207132960
Norge	+47 800 16836	+47 21939693
Nya Zeeland	0800-451650	
Österrike	+43 800006249	+43 19286540
Schweiz	+41 565800000	+41 800200442
Singapore	+1 800-5792745	
Spanien	+34 911899417	+34 800300143
Storbritannien	+44 8000126019	+44 2073057197
Sverige	+46 850619671	+46 200883979
Taiwan	00806651752	
Tyskland	+49 8001014940	+49 8938035677
Övriga länder	+44 1799-534000	

Säkerhetsdatablad (SDS) – Finns på Illuminas webbsida på support.illumina.com/sds.html.

Produktdokumentation – Kan hämtas i PDF-format på Illuminas webbsida. Gå till support.illumina.com, välj en produkt och klicka sedan på **Dokumentation och litteratur**.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 USA
+1 800-8094566
+1 858-2024566 (utanför Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

Endast för forskningsbruk. Inte för användning i diagnostiska procedurer.

© 2018 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

illumina®