

NextSeq 550Dx -laitteen viiteopas

Laitteen viiteopas



Tämä asiakirja ja sen sisältö ovat Illumina, Inc:n ja sen tytäryhtiöiden ("Illumina") omaisuutta, ja ne on tarkoitettu ainoastaan Illuminan asiakkaiden sopimuskäyttöön tässä kuvattujen tuotteiden käyttöön liittyen eikä mihinkään muuhun tarkoitukseen. Tätä asiakirjaa ja sen sisältöä ei saa käyttää tai jakaa missään muussa tarkoituksessa ja/tai välittää, paljastaa tai jäljentää millään muulla tavoin ilman Illuminalta ennakkoon saatua kirjallista lupaa. Illumina ei tällä asiakirjalla luovuta mitään käyttöoikeuksia sen patenti-, tavaramerkki-, tekijänoikeus- tai tapaoikeuksien nojalla eikä vastaavien kolmansien osapuolten oikeuksien nojalla.

Tässä kuvattuja tuotteita saa käyttää vain pätevä ja asianmukaisesti koulutettu henkilökunta noudattamalla täsmällisesti tässä asiakirjassa annettuja ohjeita, jotta tuotteiden asianmukainen ja turvallinen käyttö voidaan taata. Asiakirjan sisältö on luettava ja ymmärrettävä kokonaisuudessaan ennen näiden tuotteiden käyttöä.

MIKÄLI TÄSSÄ ANNETTUJA OHJEITA EI LUETA JA TÄSMÄLLISESTI NOUDATETA, SEURAUKSENA VOI OLLA TUOTTEIDEN VAURIOITUMINEN, HENKILÖVAHINKOJA JOKO KÄYTTÄJILLE TAI MUILLE JA MUITA OMAISUUSVAHINKOJA, MINKÄ LISÄKSI TUOTTEITA MAHDOLLISESTI KOSKEVAT TAKUUT MITÄTÖITYVÄT.

ILLUMINA EI OLE VASTUUSSA TÄSSÄ KUVATTUJEN TUOTTEIDEN VÄÄRINKÄYTÖSTÄ (MUKAAN LUKIEN TUOTTEEN OSAT JA OHJELMISTO).

© 2021 Illumina, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

Kaikki tavaramerkit ovat Illumina, Inc:n tai niiden vastaavien omistajien omaisuutta. Tarkemmat tavaramerkkitiedot annetaan osoitteessa www.illumina.com/company/legal.html.

Versiohistoria

Asiakirja	Päivämäärä	Muutoksen kuvaus
Asiakirjanro 1000000041922 v03	Lokakuu 2021	Lisätty ilmoitus 7 päivän ajastimesta sekvensointiajojen tarkistuksiin Päivitetty sekvensoinnin työnkulku lisäämällä osa, jolla luodaan ajo Local Run Manager -ohjelmiston avulla. Muutettu stabiliteettirajaa Lisätty Infinium Methylation EPIC BeachChip-tyyppisiin Päivitetty kuvakekuvat vastaamaan käyttöliittymän muutoksia.
Asiakirjanro 1000000041922 v02	Marraskuu 2020	Päivitettiin kuva kohdassa Manuaalisen pesun suorittaminen vastaamaan uusia reagenssipesu- ja puskuripesukasetteja. Lisättiin värejä tilapalkin tietoihin.
Asiakirjanro 1000000041922 v01	Maaliskuu 2018	Lisättiin Illumina Proactive -valvontapalvelua koskevia tietoja kohtaan Järjestelmäasetusten määrittäminen.
Asiakirjanro 1000000041922 v00	Marraskuu 2017	Ensimmäinen versio.

Sisällysluettelo

Luku 1 Yleiskatsaus	1
Tietoa tästä oppaasta	1
Johdanto	1
Muut apumateriaalit	1
Laitteen osat	2
Reagenssarjan yleiskatsaus	5
Sekvensoinnissa tarvittavien tarvikkeiden yleiskatsaus	5
Luku 2 Aloittaminen	9
Laitteen käynnistäminen	9
Järjestelmäasetusten mukauttaminen	10
Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet ja laitteet	11
Luku 3 Sekvensointi	13
Johdanto	13
Sekvensoinnin työnkulku	14
Reagenssikasetin valmistelu	14
Virtauskyvetin valmistelu	15
Kirjastojen valmistelu sekvensointia varten	15
Sekvensointiajon määrittäminen	16
Ajon edistymisnäyttö	22
Automaattinen ajonjälkeinen pesu	24
Luku 4 Skannaus	25
Johdanto	25
Skannauksen työnkulku	26
DMAP-kansion lataaminen	26
BeadChipin lataaminen sovittimeen	27
Skannauksen määrittäminen	28
Skannauksen edistymisen seuranta	30
Luku 5 Huolto	33
Johdanto	33
Manuaalisen pesun suorittaminen	33
Ilmansuodattimen vaihtaminen	36
Ohjelmistopäivitykset	37
Uudelleenkäynnistys- ja sammutusvaihtoehdot	39
Liite A Vianmääritys	41
Johdanto	41
Vianmääritystiedostot	41
Automaattisen tarkistuksen virheiden ratkaiseminen	42
Käytettyjen reagenssien säiliö on täynnä	44

Uudelleenhybridisoinnin työnkulku	44
BeadChip ja skannauksen virheet	46
Mukautetut reseptit ja reseptikansiot	47
RAID-virhesanoma	48
Järjestelmäasetusten määrittäminen	48
Liite B Real-Time Analysis (Reaaliaikainen analyysi)	51
Real-Time Analysis -ohjelmiston yleiskatsaus	51
Real-Time Analysis -ohjelmiston työnkulku	52
Liite C Tuotostiedostot ja -kansiot	57
Sekvensoinnin tuotostiedostot	57
Tulostuskansion rakenne	60
Skannauksen tuotostiedostot	61
Skannauksen tuotoskansion rakenne	61
Hakemisto	63
Tekninen tuki	67

Luku 1 Yleiskatsaus

Tietoa tästä oppaasta	1
Johdanto	1
Muut apumateriaalit	1
Laitteen osat	2
Reagenssisarjan yleiskatsaus	5
Sekvensoinnissa tarvittavien tarvikkeiden yleiskatsaus	5

Tietoa tästä oppaasta

Tämä laitteen viiteopas sisältää NextSeq 550Dx -laitteen käyttöohjeet, kun laitetta käytetään tutkimustilassa.

Johdanto

Sekvensoinnin ominaisuudet

- ▶ **Suuren kapasiteetin sekvensointi** – NextSeq™ 550Dx -laite mahdollistaa DNA-kirjastojen sekvensoinnin.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** – Suorittaa kuva-analyysin ja emäksen tunnistamisen. Lisätietoja on kohdassa *Real-Time Analysis (Reaaliaikainen analyysi)* sivulla 51.
- ▶ **Laitteessa suoritettava data-analyysi** – Ajoa varten määritetyt analyysiohjelmiston analyysimoduulit voivat analysoida ajotietoja.
- ▶ **Kaksoiskäynnistys** – NextSeq 550Dx -laite sisältää erilliset kiintolevyt, jotka tukevat diagnostiikkatilaa (Dx) ja tutkimustilaa (RUO).

Array-skannauksen ominaisuudet

- ▶ **Integroitu array-skannaus ohjausohjelmistossa** – NextSeq 550Dx -laitteen avulla voit vaihtaa array-skannauksen ja suuren kapasiteetin sekvensoinnin välillä käyttäen samaa ohjausohjelmistoa.
- ▶ **Laajennettu kuvausominaisuus** – NextSeq 550Dx -laitteen kuvausjärjestelmä tukee ohjelmiston ja alustan muokkauksia, mikä mahdollistaa suurempien pintojen kuvauksen ja näin ollen BeadChip-skannauksen.
- ▶ **BeadChip-tyypit** – Yhteensopivia BeadChip-tyyppejä ovat CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC ja Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip-sovitin** – Uudelleenkäytettävän BeadChip-sovittimen avulla BeadChipin lataaminen laitteeseen on helppoa.
- ▶ **Tietoanalyysi** – Käytä BlueFuse® Multi -ohjelmistoa array-tietojen analysointiin.

Muut apumateriaalit

Seuraava dokumentaatio on ladattavissa Illuminan verkkosivustosta.

Materiaali	Kuvaus
NextSeq 550Dx -laitteen valmisteluopas (asiakirjanro 100000009869)	Sisältää teknisiä tietoja laboratoriotilasta, sähköasennuksia koskevista vaatimuksista ja ympäristökysymyksistä.
NextSeq 550Dx -laitteen turvallisuus- ja vaatimustenmukaisuusopas (asiakirjanro 100000009868)	Sisältää tietoja toiminnallisista tietoturvakysymyksistä, vaatimustenmukaisuuslausekkeista ja laitteen tuotemerkinnöistä.
RFID-lukijan yhdenmukaisuusohje (asiakirjanro 100000030332)	Sisältää tietoja laitteen RFID-lukijasta, vaatimustenmukaisuusilmoitukset ja turvallisuuskysymykset.
NextSeq 550Dx Research Mode -laitteen viiteopas (asiakirjanro 100000041922)	Sisältää laitteen käyttö- ja vianmääritysohjeet. Käytettäessä NextSeq 550Dx -laitetta tutkimustilassa NextSeq-ohjausohjelmiston (NCS) v3.0 kanssa.
NextSeq 550 -järjestelmän opas (asiakirjanro 15069765)	Sisältää laitteen käyttö- ja vianmääritysohjeet. Käytettäessä NextSeq 550Dx -laitetta tutkimustilassa NextSeq-ohjausohjelmiston (NCS) v3.0 kanssa.
NextSeq 550 -järjestelmän opas	Sisältää yleiskuvauksen laitteen osista, laitteen käyttöohjeet sekä huolto- ja vianmääritysohjeet.
BaseSpace-ohje	Sisältää tietoja BaseSpace™ Sequence Hubin käytöstä ja saatavilla olevista analyysivaihtoehdoista.

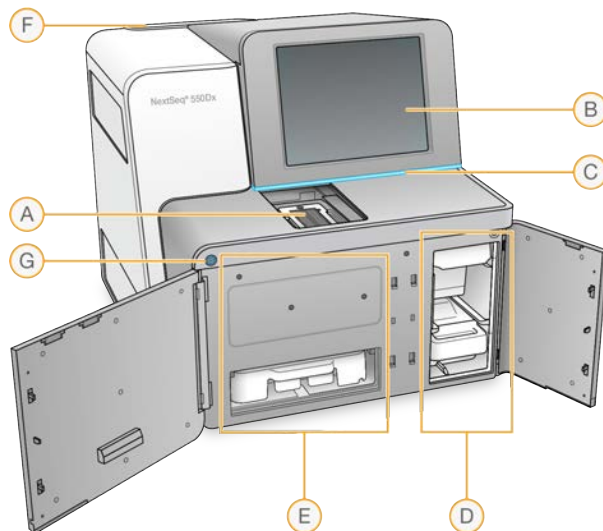
Dokumentaatio, ohjelmistolataukset, verkkokoulutus ja usein kysytyt kysymykset ovat käytettävissä [NextSeq 550Dx -laitteen tukisivuilla](#) Illuminan verkkosivuilla.

Dokumentaatio, ohjelmistolataukset, verkkokoulutus ja usein kysytyt kysymykset ovat käytettävissä [NextSeq 550Dx -laitteen tukisivuilla](#) Illuminan verkkosivuilla.

Laitteen osat

NextSeq 550Dx -laite sisältää kosketusnäyttömonitorin, tilapalkin ja neljä lokeroa.

Kuva 1 Laitteen osat



- A **Kuvausloker** – pitää virtauskyvettä paikallaan sekvensointiajon aikana.
- B **Kosketusnäyttömonitori** – sallii laiteasetusten ja käyttöönoton määrittämisen käyttöohjelmistokäyttöliittymän avulla.
- C **Tilapalkki** – ilmaisee laitteen tilan, joka voi olla jokin seuraavista: käsittely (sininen), vaatii käyttäjän toimia (oranssi), valmiina sekvensointiin (vihreä), käynnistyy (sininen ja valkoinen vaihtelevat), ei vielä käynnistetty (valkoinen) tai vaatii pesua 24 tunnin kuluessa (keltainen).
- D **Puskuriloker** – sisältää puskurikasetin ja käytettyjen reagenssien säiliön.
- E **Reagenssiloker** – sisältää reagenssikasetin.
- F **Ilmansuodatinloker** – sisältää ilmansuodattimen. Pääset käsittelemään suodatinta laitteen takaosasta.
- G **Virtapainike** – käynnistää laitteen ja laitteen tietokoneen ja katkaisee niistä virran.

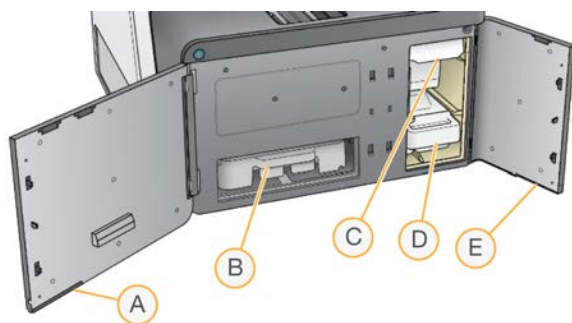
Kuvausloker

Kuvausloker sisältää alustan, joka sisältää kolme kohdistusnastaa sekvensoitavan virtauskyvetin paikalleen asettamista varten. Virtauskyvetin lataamisen jälkeen kuvauslokeron ovi sulkeutuu automaattisesti ja osat siirtyvät asemiinsa.

Reagenssi- ja puskurilokerot

Sekvensointiajon määrittäminen NextSeq 550Dx -laitteella edellyttää, että reagenssi- ja puskurilokeroihin on pääsy tarvikkeiden lataamista ja käytettyjen reagenssien säiliön tyhjentämistä varten.

Kuva 2 Reagenssi- ja puskurilokerot



- A **Reagenssilokeron ovi** – sulkee reagenssisäiliön oven oikeassa alareunassa olevalla salvalla. Reagenssiloker on tarkoitettu reagenssikasettia varten.
- B **Reagenssikasetti** – reagenssikasetti on täytetty valmiiksi kertakäyttöisellä tarvikkeella.
- C **Puskurikasetti** – puskurikasetti on täytetty valmiiksi kertakäyttöisellä tarvikkeella.
- D **Käytetty reagenssisäiliö** – käytetyt reagenssit kerätään hävittämistä varten jokaisen ajon jälkeen.
- E **Puskurilokeron ovi** – sulkee puskurisäiliön oven vasemmassa alareunassa olevalla salvalla.

Ilmansuodatinloker

Ilmansuodatinloker sisältää ilmansuodattimen, ja se sijaitsee laitteen takaosassa. Vaihda ilmansuodatin 90 päivän välein. Tietoja ilmansuodattimen vaihtamisesta on kohdassa *Ilmansuodattimen vaihtaminen* sivulla 36.

NextSeq 550Dx -ohjelmisto






Laitteen ohjelmisto sisältää integroituja sovelluksia, joiden avulla voidaan suorittaa sekvensointiajoja.

- ▶ **NextSeq-ohjausohjelmisto (NCS)** – Ohjausohjelmisto ohjaa sekvensointiajon määritysvaiheissa.

- **Real-Time Analysis (RTA) -ohjelmisto** – RTA suorittaa kuva-analyysin ja emäksen tunnistamisen ajon aikana. NextSeq 550Dx -laite käyttää RTA v2 -toteutusta, joka sisältää tärkeitä arkkitehtuuriin ja ominaisuuksiin liittyviä eroja aiempiin versioihin verrattuna. Lisätietoja on kohdassa *Real-Time Analysis (Reaaliaikainen analyysi)* sivulla 51.

Tilakuvakkeet

NCS-ohjelmiston oikeassa yläkulmassa näkyvä tilakuvake ilmoittaa kaikista olosuhteiden muutoksista asetusten määrittämisen tai ajon aikana.

Tilakuvake	Tilan nimi	Kuvaus
	Tila OK	Järjestelmän tila on normaali.
	Prosessointi	Järjestelmässä on prosessointi käynnissä.
	Varoitus	Järjestelmä on antanut varoituksen. Varoitukset eivät pysäytä ajoa tai edellytä toimia ennen jatkamista.
	Virhe	Järjestelmässä on tapahtunut virhe. Virheet edellyttävät toimia ennen ajon jatkamista.
	Tarvitaan huoltoa	Järjestelmä on antanut huomiota vaativan ilmoituksen. Lisätietoja on kyseisessä ilmoitussanomassa.

Jos olosuhteissa on tapahtunut muutos, kuvake vilkkuu. Valitsemalla kuvakkeen voit tarkastella kuvausta tilanteesta. Hyväksy sanoma valitsemalla **Acknowledge** (Hyväksyn) ja sulje valintaikkuna valitsemalla **Close** (Sulje).

HUOMAUTUS

Sanoman hyväksyminen nolaa kuvakkeen ja himmentää sanoman tekstin. Sanoma on yhä nähtävissä, kun käyttäjä valitsee kuvakkeen, mutta poistuu, kun NCS käynnistetään uudelleen.

Virtapainike

NextSeq 550Dx -laitteen etuosassa sijaitsevalla virtapainikkeella kytketään virta laitteeseen ja laitteen tietokoneeseen. Virtapainikkeella voidaan suorittaa seuraavat toimenpiteet laitteen virran tilan mukaan. Oletusarvon mukaan NextSeq 550Dx käynnistyy diagnostiikkatilaan.

Tietoja virran kytkemisestä laitteeseen ensimmäisen kerran on kohdassa *Laitteen käynnistäminen* sivulla 9.

Tietoja laitteen virran katkaisemisesta on kohdassa *Laitteen virran katkaiseminen* sivulla 39.

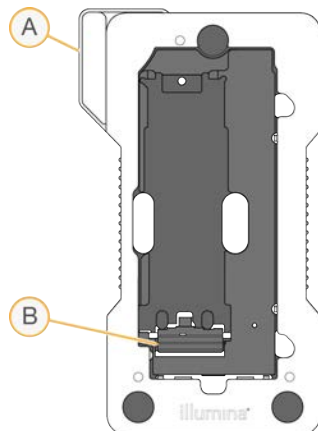
Virran tila	Toimenpide
Laitteen virta ei ole kytkettyinä	Kytke virta painamalla painiketta.
Laitteen virta on kytkettyinä.	Katkaise virta painamalla painiketta. Näyttöön tulee valintaikkuna, joka vahvistaa laitteen virran katkaisemisen.
Laitteen virta on kytkettyinä.	Voit pakottaa laitteen ja laitteen tietokoneen virran katkaisemisen painamalla virtapainiketta ja pitämällä sitä painettuna 10 sekunnin ajan. Käytä tätä menetelmää laitteen virran katkaisemiseen vain silloin, jos laite ei vastaa.

HUOMAUTUS Jos laitteesta kytketään virta sekvensointiajon aikana, ajo päättyy välittömästi. Ajon päättyminen on peruuttamaton. Ajon tarvikkeita ei voi käyttää uudelleen, eikä ajon sekvensointitietoja tallenneta.

Uudelleenkäytettävän BeadChip-sovittimen yleiskatsaus

Uudelleenkäytettävä BeadChip-sovitin sisältää BeadChipin skannauksen aikana. BeadChip pysyy pidikkeen avulla tukevasti paikallaan sovittimen syvennyksessä. BeadChip-sovitin ladataan kuvauslokeroon.

Kuva 3 Uudelleenkäytettävä BeadChip-sovitin



- A BeadChip-sovitin
- B Pidike

Reagenssarjan yleiskatsaus

Sekvensoinnissa tarvittavien tarvikkeiden yleiskatsaus

NextSeq 550Dx:n tarvitsemat sekvensointitarvikkeet toimitetaan erillisenä kertakäyttösarjana. Paketti sisältää virtauskyvetin, reagenssikasetin, puskurikasetin ja kirjaston laimennuspuskurin. Lisätietoja on seuraavien tuotteiden pakkausselosteissa: *NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssarja v2 (300 jaksoa)*, *NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssarja v2.5 (300 jaksoa)* ja *NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssarja v2.5 (75 jaksoa)*.

Virtauskyvetti, reagenssikasetti ja puskurikasetti käyttävät radiotaajuustunnistusta (RFID) tarvikeyhteensopivuuden varmistamista ja seuranta varten.

VAROITUS

NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 -sarjat vaativat NOS-version 1.3 tai uudemman, jotta v2.5-virtauskyvettikasettia voidaan käyttää laitteessa. Päivitä ohjelmisto ennen näytteiden ja tarvikkeiden valmistelua, jotta reagensseja ja/tai näytteitä ei mene hukkaan.



HUOMAUTUS

Säilytä sekvensoinnissa tarvittavia tarvikkeita laatikoissaan, kunnes olet valmis käyttämään niitä.

Sarjojen yhteensopivuusmerkinnät

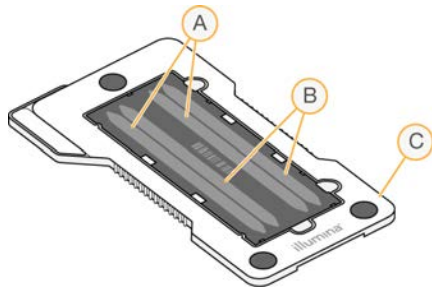
Sarjojen osat on varustettu värikoodatuin tunnuksin, joilla ilmaistaan virtauskyvettien ja reagenssikasettien yhteensopivuus. Käytä aina yhteensopivia reagenssikasetteja ja virtauskyvettejä. Puskurikasetti on yleinen tarvike.

Jokainen virtauskyvetti ja reagenssikasetti on merkitty merkinnällä **High** (Suurteho) tai **Mid** (Keskiteho). Tarkista aina merkinnät, kun valmistelet tarvikkeet ajoa varten.

Sarjan tyyppi	Tunnuksen merkintä
Suurtehosarjan osat	
Keskitehosarjan osat	

Virtauskyvetin yleiskatsaus

Kuva 4 Virtauskyvettikasetti



- A Kaistapari A – kaistat 1 ja 3
- B Kaistapari B – kaistat 2 ja 4
- C Virtauskyvettikasetin kehys

Virtauskyvetti on lasipohjainen alusta, jolle klusterit luodaan ja jolla sekvensointireaktio suoritetaan. Virtauskyvetti sijaitsee virtauskyvettikasetissa.

Virtauskyvetti sisältää neljä kaistaa, jotka kuvataan pareittain.

- ▶ Kaistat 1 ja 3 (kaistapari A) kuvataan yhtä aikaa.
- ▶ Kaistat 2 ja 4 (kaistapari B) kuvataan sen jälkeen, kun kaistaparin A kuvaus on valmis.

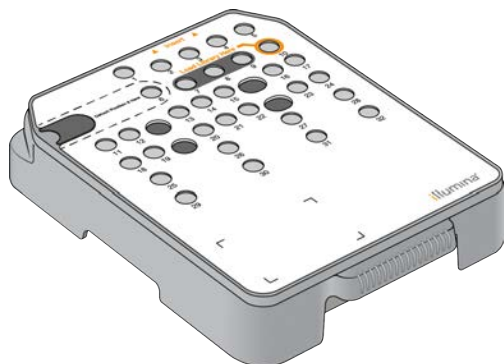
Vaikka virtauskyvetissä on neljä kaistaa, siinä sekvensoidaan vain yksi kirjasto tai poolattujen kirjastojen sarja. Kirjastot ladataan reagenssikasettiin yhdestä säiliöstä ja siirretään automaattisesti virtauskyvetin kaikkiin neljään kaistaan.

Kukin kaista kuvataan pienillä kuvausalueilla, joita kutsutaan ruuduiksi. Lisätietoja on kohdassa [Virtauskyvetin ruudut sivulla 57](#).

Reagenssikasetin yleiskatsaus

Reagenssikasetti on kertakäyttöinen tarvike, joka sisältää RFID-seurannan ja foliolla sinetöidyt säiliöt, joissa on valmiiksi reagensseja klusterointia ja sekvensointia varten.

Kuva 5 Reagenssikasetti



Reagenssikasetti sisältää määrätyn säiliön valmisteltujen kirjastojen lataamista varten. Ajon alettua kirjastot siirretään automaattisesti säiliöstä virtauskyvetiin.

Useita säiliöitä on varattu automaattista ajonjälkeistä pesua varten. Pesuliuos pumpataan puskurikasetista varattuihin säiliöihin järjestelmän läpi ja sen jälkeen käytettyjen reagenssien säiliöön.

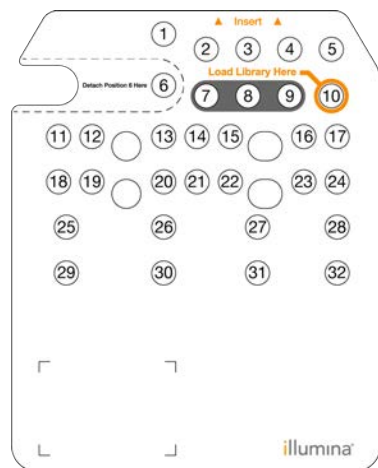


VAROITUS

Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilösuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

Varatut säiliöt

Kuva 6 Numeroidut säiliöt



Sijainti	Kuvaus
7, 8 ja 9	Varattu valinnaisille mukautetuille alukkeille
10	Lataa kirjastot

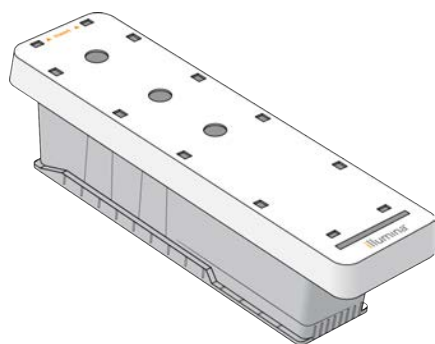
Irrotettava säiliö sijainnissa 6

Formamidia sisältävässä esitäytetyn reagenssikasetin sijainnissa 6 on denaturointireagenssia. Jotta käytettyjen reagenssien hävittäminen olisi ajon jälkeen helppoa, sijainnissa 6 sijaitseva säiliö on irrotettava. Lisätietoja on kohdassa [Sijainnissa 6 sijaitsevan käytetyn säiliön irrottaminen sivulla 20](#).

Puskurikasetin yleiskatsaus

Puskurikasetti on kertakäyttöinen tarvike, jossa on kolme säiliötä, joissa on valmiina puskurit ja pesuliuos. Puskurikasetin sisältö riittää yhden virtauskyvetin sekvensointiin.

Kuva 7 Puskurikasetti



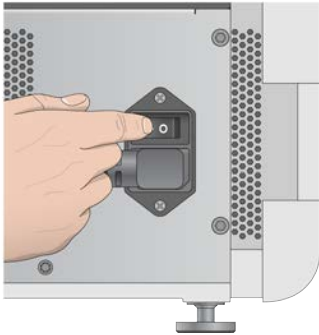
Luku 2 Aloittaminen

Laitteen käynnistäminen	9
Järjestelmäasetusten mukauttaminen	10
Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet ja laitteet	11

Laitteen käynnistäminen

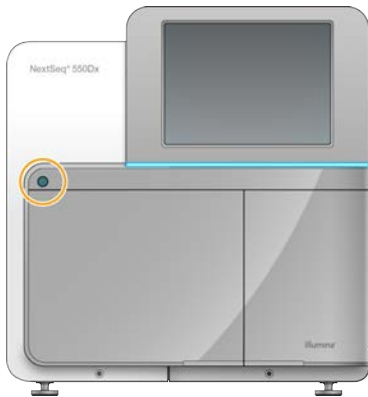
Käännä virtakytkin asentoon I (käynnissä).

Kuva 8 Virtakytkin sijaitsee laitteen takaosassa



- 1 Paina reagenssilokeron yläpuolella sijaitsevaa virtapainiketta. Virtapainike kytkee laitteeseen virran ja käynnistää laitteeseen integroidun tietokoneen ja ohjelmiston.

Kuva 9 Virtapainike sijaitsee laitteen etuosassa



- 2 Odota, kunnes käyttöjärjestelmä on latautunut.
NextSeq-käyttöohjelmisto (NCS) käynnistyy ja alustaa järjestelmän automaattisesti. Kun alustusvaihe on päättynyt, näkyviin tulee aloitusnäyttö.
- 3 Kirjoita Local Run Manager -käyttäjänimesi ja -salasanasi.
Lisätietoja salasanoista on kohdassa *Käyttäjien salasanat* sivulla 1. Lisätietoja tilin luomisesta Local Run Managerissa on kohdassa *Hallinta-asetukset ja -tehtävät* sivulla 1.
- 4 Valitse **Login** (Sisäänkirjaus).
Näkyviin tulee aloitusnäyttö, joka sisältää Sequence (Sekvensoi)-, Local Run Manager-, Manage Instrument (Laitteen hallinta)- ja Perform Wash (Suorita pesu) -kuvakkeet.

Laitteen tilailmaisimet

NextSeq 550Dx -laitteen oletustila on diagnostiikkatila. Laitteen tila ilmenee NCS-näytöstä seuraavasti:

Tila	Aloitusnäyttö	Väripalkki	Tilakuvakkeen suunta
Diagnostiikkatila	Welcome to NextSeqDx (Tervetuloa käyttämään NextSeqDx-ohjelmistoa)	Sininen	Vaaka
Tutkimustila	Welcome to NextSeq (Tervetuloa käyttämään NextSeq-ohjelmistoa)	Oranssi	Pysty

Järjestelmäasetusten mukauttaminen

Käyttöohjelmisto sisältää mukautettavat järjestelmäasetukset mm. laitteen tunnistamista, ääntä ja tuotoskansion sijaintia varten. Verkkoasetusten muuttamista käsitellään kohdassa *Järjestelmäasetusten määrittäminen* sivulla 48.

Mukauttamisvaihtoehdot:

- ▶ Laitteen tunnistamisen (avatarin tai kutsumanimen) mukauttaminen
- ▶ Syöttövaihtoehdon ja ääni-ilmaisimien määrittäminen
- ▶ Ajon käyttöönottoasetusten määrittäminen
- ▶ Sammutusvaihtoehdot
- ▶ Laitteen ajoa edeltävän tarkistuksen jälkeisen käynnistyksen määrittäminen
- ▶ Laitteen suorituskykytietojen lähettäminen Illuminaan
- ▶ Ajojen tuotoskansion määrittäminen

Laitteen avatarin tai kutsumanimen mukauttaminen

- 1 Valitse aloitusnäytössä **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
- 2 Valitse **System Customization** (Järjestelmän mukauttaminen).
- 3 Voit määrittää laitteelle haluamasi kuvan valitsemalla **Browse** (Selaa) ja etsimällä haluamasi kuvan.
- 4 Kirjoita Nick Name (Kutsumanimi) -kenttään nimi, jonka haluat antaa laitteelle.
- 5 Tallenna asetukset ja poistu näytöstä valitsemalla **Save** (Tallenna).
Kuva ja nimi näkyvät jokaisen näytön vasemmassa yläkulmassa.

Näppäimistön ja ääni-ilmaisimien määrittäminen

- 1 Valitse aloitusnäytössä **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
- 2 Valitse **System Customization** (Järjestelmän mukauttaminen).
- 3 Valitse **Use on-screen keyboard** (Käytä näyttönäppäimistöä) -valintaruutu, jos haluat ottaa käyttöön näyttönäppäimistön laitesyötteiden kirjoittamista varten.
- 4 Valitse **Play audio** (Toista äänet) -valintaruutu, jos haluat ottaa ääni-ilmaisimet käyttöön seuraaville tapahtumille.
 - ▶ laitetta käynnistettäessä
 - ▶ kun ajo on aloitettu
 - ▶ kun tietyt virheet ilmenevät
 - ▶ kun käyttäjän toimia edellytetään

- ▶ kun ajo on päättynyt.

5 Tallenna asetukset ja poistu näytöstä valitsemalla **Save** (Tallenna).

Ajon käyttöönottoasetusten määrittäminen

- 1 Valitse Manage Instrument (Laitteen hallinta) -näytössä **System Customization** (Järjestelmän mukauttaminen).
- 2 Valitse **Use Advanced Load Consumables** (Käytä edistynyttä tarvikkeiden latausta) -valintaruutu, jos haluat, että kaikki ajon tarvikkeet ladataan samasta näytöstä.
- 3 Valitse **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Ohita ajoa edeltävän tarkistuksen vahvistus) -valintaruutu, jos haluat, että sekvensointi alkaa automaattisesti onnistuneen automaattisen tarkistuksen jälkeen.
- 4 Tallenna asetukset ja poistu näytöstä valitsemalla **Save** (Tallenna).

Automaattisen tyhjentämisen määrittäminen

- 1 Valitse Manage Instrument (Laitteen hallinta) -näytössä **System Customization** (Järjestelmän mukauttaminen).
- 2 Valitse **Purge Consumables at End of Run** (Tyhjennä tarvikkeet ajon lopussa) -valintaruutu, jos haluat, että käyttämättömät reagenssit tyhjennetään reagenssikasetista käytettyjen reagenssien säiliöön automaattisesti jokaisen ajon jälkeen.

HUOMAUTUS Tarvikkeiden tyhjentäminen automaattisesti pidentää työnkulun aikaa.

3 Tallenna asetukset ja poistu näytöstä valitsemalla **Save** (Tallenna).

Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet ja laitteet

NextSeq 550Dx -laitteen yhteydessä käytetään seuraavia tarvikkeita ja laitteita. Seuraavia tarvikkeita ja välineitä käytetään tarvikkeiden valmistelussa, sekvensoinnissa ja laitteen huollossa. Lisätietoja on *NextSeq 550 -järjestelmäoppaassa*.

Tarvikkeet sekvensointia varten

Tarvike	Toimittaja	Tarkoitus
Alkoholiliinat, 70-prosenttinen isopropanoli tai etanoli, 70-prosenttinen	VWR, tuotenro 95041-714 (tai vastaava) Yleinen laboratoriotuottaja	Virtauskyvetin puhdistamiseen ja yleiskäyttöön
Laboratorioliina, vähän nukkaava	VWR, tuotenro 21905-026 (tai vastaava)	Virtauskyvetin puhdistamiseen ja yleiskäyttöön

Tarvikkeet huoltoa ja vianmäärittystä varten

Tarvike	Toimittaja	Tarkoitus
NaOCl, 5-prosenttinen (natriumhypokloriitti)	Sigma-Aldrich, tuotenro 239305 (tai laboratoriokäyttöön tarkoitettu vastaava)	Laitteen pesu manuaalisella ajon jälkeisellä pesulla: laimennettu 0,12-prosenttiseksi
Tween 20	Sigma-Aldrich, tuotenro P7949	Laitteen pesu manuaalisilla pesuvaihtoehdoilla: laimennettu 0,05-prosenttiseksi
Vesi, laboratoriokäyttöön tarkoitettu	Yleinen laboratoriotoimittaja	Laitteen pesu (manuaalinen pesu)
Ilmansuodatin	Illumina, tuotenro 20022240	Laitteen imemän jäähdytysilman puhdistaminen

Laboriokäyttöön tarkoitettua vettä koskevat ohjeet

Käytä instrumenttitoimenpiteissä aina laboratoriokäyttöön tarkoitettua tai deionisoitua vettä. Älä koskaan käytä vesijohtovettä. Käytä vain seuraavia vesiä tai vastaavia:

- ▶ deionisoitua vettä
- ▶ Illumina PW1 -vettä
- ▶ 18 megaohmin (MΩ) vettä
- ▶ Milli-Q-vettä
- ▶ Super-Q-vettä
- ▶ molekyylibiologiaan tarkoitettua vettä.

Laitteet

Laite	Toimittaja
Pakastin, -25...-15 °C, huurtumaton	Yleinen laboratoriotoimittaja
Jääkaappi, 2-8 °C	Yleinen laboratoriotoimittaja

Luku 3 Sekvensointi

Johdanto	13
Sekvensoinnin työnkulku	14
Reagenssikasetin valmistelu	14
Virtauskyvetin valmistelu	15
Kirjastojen valmistelu sekvensointia varten	15
Sekvensointiajon määrittäminen	16
Ajon edistymisnäyttö	22
Automaattinen ajonjälkeinen pesu	24

Johdanto

Jotta voit suorittaa sekvensointiajon NextSeq 550Dx -laitteella, valmistelet reagenssikasetti ja virtauskyvetin ja määrität ja aloitat sitten ajoa noudattamalla ohjelmiston kehoitteita. Klusterien luonti ja sekvensointi tapahtuu laitteessa. Ajon jälkeen laitteen pesu alkaa automaattisesti, ja pesussa käytetään osia, jotka ovat jo ladattuina laitteessa.

Klusterin luominen

Klusterin luomisen aikana yksittäiset DNA-molekyylit ovat sitoutuneina virtauskyvetin pintaan ja niitä monistetaan klusterien muodostamista varten.

Sekvensointi

Klusterit kuvataan käyttämällä kaksikanavaista sekvensointikemiaa ja kullekin fluoresoivasti merkitylle nukleotidille ominaista suodatinyhdistelmää. Kun virtauskyvetin ruutu on kuvattu, siirrytään kuvaamaan seuraava ruutu. Prosessi toistetaan jokaiselle sekvensointijaksolle. Kuvien analysoinnin jälkeen ohjelmisto suorittaa emästen tunnistamisen, suodatuksen ja laatupesteytyksen.

Analyysi

Käyttöohjelmisto siirtää ajon etenemisen aikana emästen tunnistamisen tiedostot määritettyyn toissijaiseen analyysin tuotosjaintiin.

Sekvensointiajon kesto

Sekvensointiajon kesto määräytyy suoritettujen jaksoiden määrän mukaan. Ajon enimmäispituus on 150 jaksoa readia kohden sisältävä paired-end-ajo (2 x 150) lisättynä enintään kahdeksalla jaksolla kumpaakin kahta indeksireadia kohden.

Jaksojen määrä readissa

Sekvensointiajossa readissa suoritettujen jaksoiden määrä on yksi enemmän kuin analysoitujen jaksoiden määrä. Esimerkiksi 150 jakson ajossa paired-end-ajo suorittaa ajon 151 jaksossa (2 x 151) eli yhteensä 302 jaksoa. Ajon lopussa 2 x 150 jaksoa analysoidaan. Ylimääräinen jakso on tarkoitettu phasing- ja prephasing-laskutoimituksia varten.

Sekvensoinnin työnkulku

Create Run

Luo ajo Local Run Manager -ohjelmistomodulissa. Katso ohjeet moduulia koskevasta analyysityönkulun oppaasta.



Valmistele uusi reagenssikasetti: sulata ja tarkasta.
Valmistele uusi virtauskyvetti: tuo huonelämpötilaan, poista pakkauksesta ja tarkasta.



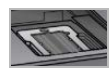
Denaturoi ja laimenna kirjasot. Katso ohjeet kirjaston valmistelutarjan pakkausselosteesta.



Lataa laimennettu kirjasto reagenssikasettiin säiliöön nro 10.



Valitse laitteen NCS-aloitusnäytöstä **Sequence** (Sekvenssi) ja ajotunnus ja käynnistä ajon asetusvaiheet. Valitse **Run** (Ajo).



Lataa virtauskyvetti.



Tyhjennä ja lataa uudelleen käytettyjen reagenssien säiliö.
Lataa puskurikasetti ja reagenssikasetti.



Tarkista ajoa edeltävän tarkistuksen tulokset. Valitse **Start** (Aloita). (Ei tarpeen, jos se on asetettu alkamaan automaattisesti määrittämissä.)



Valvo ajoa käyttöohjelmiston käyttöliittymästä tai verkossa olevalla tietokoneella käyttämällä Local Run Manager -sovellusta.



Laitteen pesu alkaa automaattisesti, kun sekvensointi on valmis.

Reagenssikasetin valmistelu

Noudata reagenssikasetin ohjeita tarkasti sekvensoinnin onnistumisen varmistamiseksi.

- 1 Ota reagenssikasetti $-25...-15$ °C:n säilytyslämpötilasta.
- 2 Valitse jokin seuraavista reagenssien sulatusmenetelmistä. Älä upota kasettia veteen. Kun kasetti on sulanut, kuivaa se ennen jatkamista seuraavaan vaiheeseen.

Lämpötila	Sulatusaika	Stabiilitteettiraja
15–30 °C:n vesihaude	60 minuuttia	Ei yli kuutta tuntia
2–8 °C	7 tuntia	Ei yli seitsemää päivää

HUOMAUTUS Jos samassa vesihauteessa on sulamassa useampi kuin yksi kasetti, käytä sulatukseen jonkin verran enemmän aikaa.

- 3 Käännä kasettia viisi kertaa, jotta reagenssit sekoittuvat.
- 4 Tarkista kasetin pohja varmistaaksesi, että reagenssit ovat sulaneet eikä niissä ole saostumia. Varmista, että asemat 29, 30, 31 ja 32 ovat sulaneet, sillä ne ovat suurimmat ja niiden sulaminen kestää kauemmin.
- 5 Napauta alustaa kevyesti, jotta ilmakuplat vähenevät. Parhaan tulokset saat siirtymällä suoraan näytteen lataamiseen ja ajon määrittämiseen.



VAROITUS

Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

Virtauskyvetin valmistelu

- 1 Ota uusi virtauskyvetin laatikko 2–8 °C:n säilytyksestä.
- 2 Ota foliopakkaus pois laatikosta ja anna sen olla huoneenlämmössä 30 minuuttia.

HUOMAUTUS Kun foliopakkaus on ehjä, virtauskyvettä voi säilyttää huoneenlämpötilassa enintään 12 tuntia. Vältä virtauskyvetin toistuvaa jäähtymistä ja lämpenemistä.

Kirjastojen valmistelu sekvensointia varten

Denaturoi ja laimenna kirjastot 1,3 ml:n lataustilavuuteen. Käytännössä latauspitoisuus voi vaihdella kirjaston valmistelu- ja kvantifointimenetelmien mukaan. Näytekirjastojen laimennus riippuu oligonukleotidipoolien monimutkaisuudesta. Jos tarvitset ohjeita näytekirjastojen valmistelusta sekvensointia varten, mukaan lukien kirjaston laimennus ja yhdistäminen, katso käyttöohjeiden osio sovellettavasta kirjaston valmistelusarjasta. NextSeq 550Dx -laitteessa vaaditaan klusterien tiheyden optimointia.

Kirjastojen denaturointi ja laimentaminen

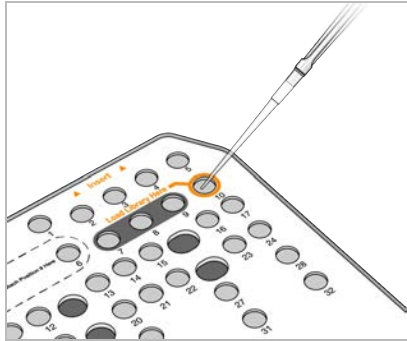
Denaturoi ja laimenna kirjastot 1,3 ml:n lataustilavuuteen ja 1,8 pM:n latauspitoisuuteen. Käytännössä latauspitoisuus voi vaihdella kirjaston valmistelu- ja kvantifointimenetelmien mukaan. Katso ohjeet kirjaston valmistelusarjan pakkausselosteesta.

Kirjastojen lataaminen reagenssikasettiin

- 1 Puhdista vähän nukkaavalla liinalla foliosinetti, joka on **Load Library Here** (Lataa kirjasto tähän) -nimisen säiliön (nro 10) päällä.
- 2 Lävistä sinetti puhtaalla 1 ml:n pipetin kärjellä.

- 3 Lataa 1,3 ml valmistettuja kirjastoja säiliöön nro 10, jossa on merkintä **Load Library Here** (Lataa kirjasto tähän). Vältä koskemasta foliosinettiä, kun annostelet kirjastot.

Kuva 10 Kirjastojen lataaminen



Sekvensointiajon määrittäminen

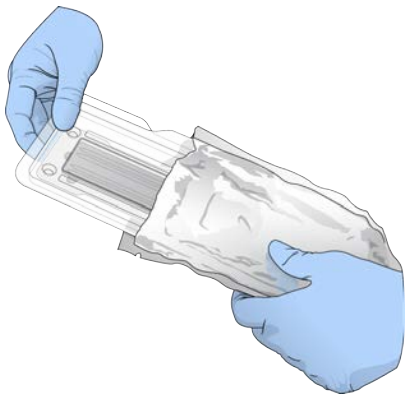
BaseSpaceen kirjautuminen

- 1 Anna BaseSpace-käyttäjänimesi ja -salasanasi.
- 2 Valitse **Next** (Seuraava).

Virtauskyvetin lataus

- 1 Poista edellisessä ajossa käytetty virtauskyvetti.
- 2 Ota virtauskyvetti pois foliopakkauksesta.

Kuva 11 Poistaminen foliopakkauksesta



- 3 Avaa läpinäkyvä muovinen saranapakkauus ja poista virtauskyvetti

Kuva 12 Poistaminen saranapakkauksesta

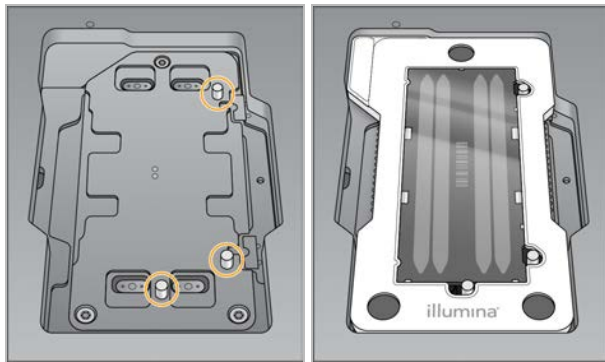


- 4 Puhdista virtauskyvetin lasipinta vähän nukkaavalla alkoholiliinalla. Kuivaa lasi vähän nukkaavalla laboratorioliiinalla.

HUOMAUTUS Varmista, että virtauskyvetin lasipinta on puhdas. Jos tarpeen, toista puhdistusvaihe.

- 5 Kohdista virtauskyvetti kohdistusnastoihin ja aseta virtauskyvetti alustalle.

Kuva 13 Virtauskyvetin lataus



- 6 Valitse **Load** (Lataa).
Ovi sulkeutuu automaattisesti, virtauskyvetin tunnus tulee näkyviin näyttöön, ja sensorit tarkistetaan.

HUOMAUTUS Pidä kätesi etäällä virtauskyvetin ovesta sen sulkeutuessa, jotta ne eivät jää väliin.

- 7 Valitse **Next** (Seuraava).

Käytettyjen reagenssien säiliön tyhjentäminen

- 1 Avaa puskurilokeron ovi käyttämällä oven vasemmassa alakulmassa olevaa salpaa.
- 2 Poista käytettyjen reagenssien säiliö ja hävitä sisältö määräysten mukaisesti.

Kuva 14 Käytettyjen reagenssien säiliön poistaminen



HUOMAUTUS Kun poistat säiliön, aseta toinen kätesi alle tueksi.

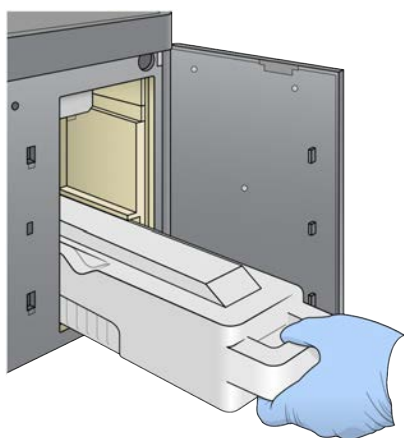


VAROITUS

Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

- 3 Liu'uta tyhjä käytettyjen reagenssien säiliö puskurilokeroon niin pitkälle kuin se menee. Kuulet naksahdusäänen, kun säiliö on paikallaan.

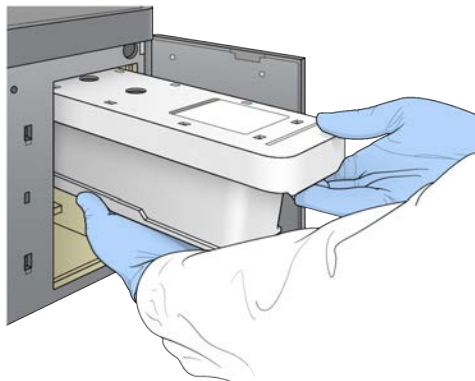
Kuva 15 Käytettyjen reagenssien säiliön lataaminen



Puskurikasetin lataaminen

- 1 Poista käytetty puskurikasetti ylälokerosta.
Puskurikasetin nostaminen ja ulos vetäminen edellyttää jonkin verran voimaa.
- 2 Liu'uta uusi puskurikasetti puskurikasettiin niin pitkälle, kunnes se pysähtyy.
Naksahdusääni ilmaisee, että kasetti on paikallaan. Näyttöön tulee puskurikasetin tunnus, ja sensori tarkistetaan.

Kuva 16 Puskurikasetin lataaminen



- 3 Sulje puskurikasetin ovi ja valitse **Next** (Seuraava).

Reagenssikasetin lataaminen

- 1 Avaa reagenssilokeron ovi käyttämällä oven oikeassa alakulmassa olevaa salpaa.
- 2 Poista käytetty reagenssikasetti reagenssilokerosta. Hävitä käytetty sisältö määräysten mukaisesti.



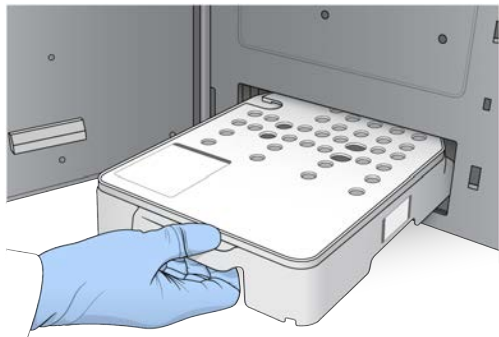
VAROITUS

Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

HUOMAUTUS Käytettyjen reagenssien hävittämisen helpottamiseksi sijainnissa 6 sijaitseva säiliö on irrotettava. Lisätietoja on kohdassa *Sijainnissa 6 sijaitsevan käytetyn säiliön irrottaminen sivulla 20*.

- 3 Liu'uta reagenssikasetti reagenssilokeroon niin pitkälle, kunnes kasetti pysähtyy, ja sulje sitten reagenssilokeron ovi.

Kuva 17 Reagenssikasetin lataaminen

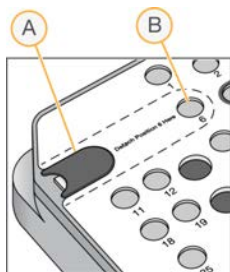


- 4 Valitse **Load** (Lataa).
Ohjelmisto siirtää kasetin paikalleen automaattisesti (~30 sekuntia), reagenssikasetin tunnus tulee näkyviin näyttöön, ja sensorit tarkistetaan.
- 5 Valitse **Next** (Seuraava).

Sijainnissa 6 sijaitsevan käytetyn säiliön irrottaminen

- 1 Kun olet poistanut **käytettyjen** reagenssien kasetin laitteesta, poista kumisuojus sijainnin 6 vieressä olevan aukon päältä.

Kuva 18 Irrotettava sijainti 6



- A Kumisuojus
- B Sijainti 6

- 2 Paina läpinäkyvää muovista painiketta ja irrota säiliö liu'uttamalla sitä vasemmalle.
- 3 Hävitä säiliö asianmukaisten määräysten mukaisesti.

Ajon parametrien määrittäminen

Run Setup (Ajon määrittäminen) -näytön vaiheet eroavat toisistaan järjestelmäkokoontilan mukaan:

- ▶ **BaseSpace tai BaseSpace Onsite** – Run Setup (Ajon määrittäminen) -näytössä näkyvät ajot, jotka on määritetty BaseSpacen Prep (Valmistelu) -välilehdessä. Jos haluamaasi ajoa ei näy Run Setup (Ajon määrittäminen) -näytössä, varmista, että ajo on merkitty sekvensoitavaksi BaseSpacessa.
- ▶ **Erillistila** – Run Setup (Ajon määrittäminen) -näyttö sisältää kentät ajon parametrien määrittämistä varten.

Käytettävissä olevan ajon valitseminen (BaseSpace-tila)


- 1 Valitse ajon nimi käytettävissä olevien ajojen luettelosta.
Selaa luetteloa ylös- ja alaspäin osoittavilla nuolilla tai kirjoita ajon nimi hakukenttään.

- 2 Valitse **Next** (Seuraava).
- 3 Vahvista ajon parametrit.
 - ▶ **Run Name** (Ajon nimi) – ajon nimi BaseSpacessa määritetyssä muodossa
 - ▶ **Library ID** (Kirjastotunnus) – poolattujen kirjastojen nimi BaseSpacessa määritetyssä muodossa
 - ▶ **Recipe** (Resepti) – reseptin nimi, joko **NextSeq High** tai **NextSeq Mid**, sen mukaan, mitä reagenssikasettia ajossa käytetään
 - ▶ **Read Type** (Readin tyyppi) – yksittäinen read tai paired-end-read
 - ▶ **Read Length** (Readin pituus) – kunkin readin jaksojen määrä
 - ▶ **[Valinnainen]** mukautetut alukkeet tilanteen mukaan.
 - ▶ **Run parameters** (Ajon parametrit) – Muuta readien määrää tai readin sisältämien jaksojen määrää.
 - ▶ **Custom primers** (Mukautetut alukkeet) – Muuta mukautettujen alukkeiden asetuksia. Lisätietoja on asiakirjassa *NextSeq mukautettujen alukkeiden ohje (asiakirjanro 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Tyhjennä tämän ajon tarvikkeet) – Muuta asetusta, joka määrittää, tyhjennetäänkö tarvikkeet automaattisesti nykyisen ajon jälkeen.
- 4 Valitse **Next** (Seuraava).

Ajon parametrien määrittäminen (Erillistila)

- 1 Anna ajolle haluamasi nimi.
- 2 **[Valinnainen]** Anna haluamasi kirjastotunnus.
- 3 Valitse readin tyyppi, joko **Single Read** (Yksittäinen read) tai **Paired End** (Paired-end-read).
- 4 Syötä sekvensointiajon kunkin readin jaksojen määrä.
 - ▶ **Read 1** – Syötä arvoksi enintään 151 jaksoa.
 - ▶ **Index 1** – Syötä jaksomäärä, jota indeksin 1 (i7) aluke edellyttää.
 - ▶ **Index 2** – Syötä jaksomäärä, jota indeksin 2 (i5) aluke edellyttää.
 - ▶ **Read 2** – Syötä arvoksi enintään 151 jaksoa. Tämä arvo on yleensä sama määrä jaksoja kuin readissa 1.

Ohjausohjelmisto vahvistaa määrittäksesi seuraavien ehtojen perusteella:





 - ▶ Jaksojen kokonaismäärä ei ylitä sallittua jaksojen enimmäismäärää.
 - ▶ Readin 1 jaksomäärä on enemmän kuin mallin luonnissa käytetyt viisi jaksoa.
 - ▶ Indeksireadin jaksomäärä ei ylitä readin 1 ja readin 2 jaksomäärää.
- 5 **[Valinnainen]** Jos käytät mukautettuja alukkeita, valitse käytettyjen alukkeiden valintaruudut. Lisätietoja on asiakirjassa *NextSeq mukautettujen alukkeiden ohje (asiakirjanro 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** – readin 1 mukautettu aluke
 - ▶ **Index 1** – indeksin 1 mukautettu aluke
 - ▶ **Index 2** – indeksin 2 mukautettu aluke
 - ▶ **Read 2** – readin 2 mukautettu aluke.
- 6 **[Valinnainen]** Voit muuttaa ajon parametreja valitsemalla **Advanced Settings**  (Lisäasetukset) -painikkeeseen.
 - ▶ Valitse avattavasta Recipe (Resepti) -luettelosta resepti. Luettelossa näkyvät vain yhteensopivat reseptit.
 - ▶ **Output folder location** (Tuotoskansion sijainti) – Muuta nykyisen ajon tuotoskansion sijainti. Siirry verkkosijaintiin valitsemalla **Browse** (Selaa).

- ▶ **Included file** (Sisällytettävä tiedosto) – Valitse tiedostot, jotka tallennetaan tuotoskansioon tarvittaessa myöhemmän tehtävää analysointia varten. Tällaisia ovat esimerkiksi manifestitiedostot ja näyteluettelot.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Tyhjennä tämän ajon tarvikkeet) – Muuta asetusta, joka määrittää, tyhjennetäänkö tarvikkeet automaattisesti nykyisen ajon jälkeen.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Käytä ajon valvontaa tässä ajossa) – Muuta asetusta, joka määrittää, käytetäänkö BaseSpace:ssa ajon valvontaa.

7 Valitse **Next** (Seuraava).

Ajoa edeltävän tarkistuksen tarkastaminen

Ohjelmisto suorittaa järjestelmän ajoa edeltävän tarkistuksen automaattisesti. Tarkistuksen aikana näyttöön tulevat seuraavat ilmaisimet:

- ▶ **Harmaa**  **valintamerkki** – tarkistusta ei ole vielä suoritettu.
- ▶ **Edistymistä ilmaiseva**  **-kuvake** – tarkistus on käynnissä
- ▶ **Vihreä**  **valintamerkki** – tarkistus on suoritettu onnistuneesti.
- ▶ **Punainen**  – tarkistus ei onnistunut. Kaikkien sellaisten kohteiden osalta, jotka eivät läpäisseet tarkistusta, edellytetään toimenpiteitä, ennen kuin voit jatkaa. Katso [Automaattisen tarkistuksen virheiden ratkaiseminen](#) sivulla 42.

Voit pysäyttää käynnissä olevan ajoa edeltävän tarkistuksen valitsemalla **Cancel** (Peruuta) -painikkeen. Voit käynnistää tarkistuksen uudelleen valitsemalla **Retry** (Yritä uudelleen) -painikkeen. Tarkistus jatkuu ensimmäisen epätäydellisen tai epäonnistuneen tarkistuksen kohdalta.

Voit tarkastella luokan jokaisen yksittäisen tarkistuksen tuloksia valitsemalla kyseisen luokan välilehden. Jos laitetta ei ole määritetty käynnistämään ajoa automaattisesti, käynnistä ajo, kun automaattinen ajoa edeltävä tarkistus on valmis.

Ajon aloittaminen

Kun automaattinen ajoa edeltävä tarkistus on tehty, valitse **Start** (Aloita). Sekvensointiajo alkaa.

Jos haluat, että järjestelmä aloittaa ajon onnistuneen tarkistuksen jälkeen automaattisesti, katso kohta [Ajon käyttöönottoasetusten määrittäminen](#) sivulla 11.



VAROITUS

Varmista, että pysyt kirjautuneena Windowsiin. Jos kirjaudut ulos Windowsista kesken sekvensointiajon, ajo pysähtyy.

HUOMAUTUS Reagenssit saavat olla käyttämättöminä laitteessa enintään 24 tuntia.

Ajon edistymisnäyttö

1 Seuraa ajon edistymistä, voimakkuuksia ja laatupeitteitä näyttöön tulevien mittaustietojen perusteella.








HUOMAUTUS Kun olet valinnut Home (Aloitus), ajon mittaustietoja ei voi enää palata katsomaan. Ajon mittaustiedot ovat kuitenkin käytettävissä BaseSpace:ssa tai erillisessä tietokoneessa Sequencing Analysis Viewer (SAV) -sovelluksessa.

Ajon mittaustiedot jaksoittain

Ajon mittaustiedot tulevat näkyviin ajon eri vaiheissa.

- ▶ Klusterien luontivaiheessa ei tule näkyviin mittaustietoja.
- ▶ Ensimmäiset viisi jaksoa on varattu mallin luonnille.
- ▶ Ajon mittaustiedot tulevat näkyviin jakson 25 jälkeen. Tietoja ovat mm. klusterien tiheys, suodattimen läpäisevät klusterit, tuotto ja laatupisteitys.

Tiedonsiirto

Tila	Local Run Manager	Tuotoskansio
Yhdistetty		
Yhdistetty ja tietoa siirretään		
Ei yhteyttä		
Ei käytössä		

Jos tiedonsiirto keskeytyy ajon aikana, tiedot tallennetaan väliaikaisesti laitteen tietokoneeseen. Kun yhteys palautuu, tiedonsiirto jatkuu automaattisesti. Jos yhteys ei ole palautunut ennen ajon loppumista, siirrä tiedot manuaalisesti laitteen tietokoneesta ennen seuraavan ajon käynnistystä.

Yleiskäyttöinen kopiopalvelu

NextSeq 550Dx sisältää Universal Copy Service -palvelun. RTA2 pyytää palvelua kopioimaan tiedostot lähdesijainnista kohdesijaintiin, ja palvelu käsittelee kopiointipyyntöjä saapumisjärjestyksessä. Jos tapahtuu poikkeus, tiedosto asetetaan uudelleen kopiointijonoon jonossa olevien tiedostojen määrän perusteella.

Sequencing Analysis Viewer -sovellus

Sequencing Analysis Viewer -ohjelmisto näyttää sekvenssoinnin mittaustiedot, jotka luodaan ajon aikana. Mittaustiedot esitetään piirroksina, kaavioina ja taulukkoina, jotka perustuvat RTA:n luomiin tietoihin ja jotka on kirjoitettu InterOp-tiedostoihin. Mittaustiedot päivittyvät ajon edetessä. Voit tarkastella päivitettyjä mittaustietoja valitsemalla **Refresh** (Päivitä) milloin tahansa ajon aikana. Lisätietoja on *Sequencing Analysis Viewerin käyttöoppaassa* (osanro 15020619).

Sequencing Analysis Viewer sisältyy laitteen tietokoneeseen asennettuihin ohjelmistoihin. Voit myös asentaa Sequencing Analysis Viewerin toiseen tietokoneeseen, joka on yhdistetty laitteen kanssa samaan verkkoon, jos haluat valvoa mittaustietoja etäyhteyden välityksellä.

Automaattinen ajonjälkeinen pesu

Kun sekvensointiajo on valmis, ohjelmisto käynnistää automaattisen ajonjälkeisen pesun käyttäen puskurikasetin sisältämää pesuliuosta ja reagenssikasetin sisältämää NaOCl-liuosta.

Automaattinen ajonjälkeinen pesu kestää noin 90 minuuttia. Kun pesu on valmis, Home (Koti) -painike muuttuu aktiiviseksi. Sekvensoinnin tulokset näkyvät näytössä pesun aikana.

Pesun jälkeen

Pesun jälkeen annostelijat jäävät ala-asentoon, jotta järjestelmään ei pääse ilmaa. Jätä kasetit paikoilleen seuraavaan ajoon saakka.

Luku 4 Skannaus

Johdanto	25
Skannauksen työnkulku	26
DMAP-kansion lataaminen	26
BeadChipin lataaminen sovittimeen	27
Skannauksen määrittäminen	28
Skannauksen edistymisen seuranta	30

Johdanto

Jotta voit suorittaa skannauksen NextSeq 550Dx -laitteella, tarvitset seuraavat ajon osat:

- ▶ hybridisoitu ja värjätty BeadChip
- ▶ uudelleenkäytettävä BeadChip-sovitin
- ▶ käytettävän BeadChipin DMAP-tiedostot
- ▶ käytettävää BeadChip-tyyppiä vastaava manifestitiedosto
- ▶ käytettävää BeadChip-tyyppiä vastaava klusteritiedosto.

Tuotostiedostot luodaan skannauksen aikana ja siirretään jonoon määritettyyn tuotoskansioon siirtämistä varten.

Suorita analyysi BlueFuse Multi -ohjelmistolla, joka edellyttää, että skannauksen tiedot ovat käytettävissä genotyyppitunnistuksen GTC-tiedostomuodossa. Oletusarvoisesti NextSeq 550Dx -laite luo normalisoidut tiedot ja liittyvät genotyyppitunnistustiedot GTC-tiedostomuodossa. Halutessasi voit määrittää, että laite luo lisäksi voimakkuustietotiedostot, jotka ovat IDAT-tiedostoja. Lisätietoja on kohdassa *BeadChip-skannauksen määrytykset* sivulla 50.

Decode File Client -apuohjelma

DMAP-kansio sisältää tietoja, joiden perusteella tunnistetaan helmien sijainti BeadChipissä ja kvantifioidaan kuhunkin helmeen liittyvä signaali. DMAP-kansio on yksilöllinen kullekin BeadChip- viivakoodille.

Decode File Client -apuohjelman avulla DMAP-kansiot voidaan ladata suoraan Illuminan palvelimilta käyttäen vakioimuotoista HTTP-protokollaa.

Tietoja Decode File Client -apuohjelman käyttämisestä on [Decode File Client -apuohjelman tukisivulla](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) Illuminan verkkosivustossa (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Asenna Decode File Client -apuohjelma tietokoneeseen, josta on pääsy DMAP-kansion verkkosijaintiin.

Lisätietoja on kohdassa *DMAP-kansion lataaminen* sivulla 26.

Manifestitiedostot ja klusteritiedostot

Kunkin BeadChipin osalta ohjelmisto edellyttää manifestitiedoston ja klusteritiedoston käyttöoikeutta. Kukin manifesti- ja klusteritiedosto on BeadChip-tyyppikohtainen. Varmista, että käytät klusteritiedostoja, joiden tiedostonimessä on NS550. Nämä tiedostot ovat yhteensopivia NextSeq 550Dx -järjestelmän kanssa.

- ▶ **Manifestitiedosto** – Manifestitiedostot kuvaavat BeadChipin SNP- tai sondisisältöä. Manifestitiedostojen tiedostomuoto on *.bpm.

- ▶ **Klusteritiedostot** – Klusteritiedostot kuvaavat Illuminan genotyyppityksen array-skannauksen klusterisijainnit, ja niitä käytetään tiedon analysoinnissa genotyypin tunnistamiseksi. Klusteritiedostojen tiedostomuoto on *.egt.

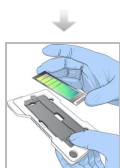
Tiedostojen sijainti määritetään BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skannauksen määrytykset) -näytössä. Valitse NCS:n Home (Aloitus) -näytössä **Manage Instrument** (Laitteen hallinta), **System Configuration** (Järjestelmän kokoonpano) ja sitten **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skannauksen määrytykset).

Kun NextSeq 550Dx -laite asennetaan, Illuminan edustaja lataa nämä tiedostot ja määrittää polun ohjausohjelmistossa. Näitä tiedostoja ei tarvitse muuttaa paitsi silloin, jos ne katoavat tai niistä on saatavilla uusi versio. Lisätietoja on kohdassa *Manifestitiedostojen ja klusteritiedostojen korvaaminen* sivulla 47.

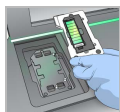
Skannauksen työnkulku

DMAP

Lataa DMAP-tiedot ja tallenna ne määritettyyn DMAP-kansiosijaintiin.



Lataa BeadChip BeadChip-sovittimeen.



Lataa BeadChip-sovitin laitteeseen.



Määritä skannauksen parametrit: DMAP-kansiosijainti ja tuotossijainti.



Tarkastele automaattisen tarkistuksen tuloksia. Valitse **Start** (Aloita).



Valvo skannausta ohjausohjelmiston käyttöliittymässä.

DMAP-kansion lataaminen

Voit käyttää DMAP-kansiota Decode File Client -apuohjelmalla tilin tai BeadChipin (oletusnäkyvä) mukaan.

DMAP-kansion käyttäminen tilin perusteella

- 1 Valitse Decode File Client -apuohjelman päävälilehdestä latausvaihtoehto:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ All BeadChips not yet downloaded (Kaikki BeadChipit, joita ei ole vielä ladattu)
 - ▶ All BeadChips (Kaikki BeadChipit)
 - ▶ BeadChips by Purchase Order (BeadChipit ostotilauksen mukaan)
 - ▶ BeadChips by barcode (BeadChipit viivakoodin mukaan)

- 2 Anna vaaditut tiedot.
- 3 Paikanna DMAP-kansio, jonka haluat ladata.
- 4 Varmista, että latauksen kohdesijainnissa on riittävästi tilaa vapaana.
- 5 Aloita lataus. Voit tarkastella latauksen tilatietoja Download Status and Log (Latauksen tila ja loki) -välilehdessä.
- 6 Tallenna DMAP-kansion määritettyyn DMAP-kansiosijaintiin.

DMAP-kansion käyttäminen BeadChipin mukaan

- 1 Tunnista BeadChipit käyttämällä kahta seuraavista vaihtoehdoista:
 - ▶ BeadChip-viivakoodi
 - ▶ BeadChip-pakkaustunnus
 - ▶ Ostotilauksen numero
 - ▶ Myyntitilauksen numero
- 2 Paikanna DMAP-kansio, jonka haluat ladata.
- 3 Varmista, että latauksen kohdesijainnissa on riittävästi tilaa vapaana.
- 4 Aloita lataus. Voit tarkastella latauksen tilatietoja Download Status and Log (Latauksen tila ja loki) -välilehdessä.
- 5 Tallenna DMAP-kansion määritettyyn DMAP-kansiosijaintiin.

BeadChipin lataaminen sovittimeen

- 1 Paina sovittimen pidekettä alas. Pidike kallistuu hiukan taaksepäin ja avautuu.
- 2 Pitele BeadChipiä reunoista ja aseta se siten, että viivakoodi sijaitsee lähellä pidikettä, ja paina sitten BeadChip paikalleen sovittimen syvennykseen.

Kuva 19 Lataa BeadChip sovittimeen



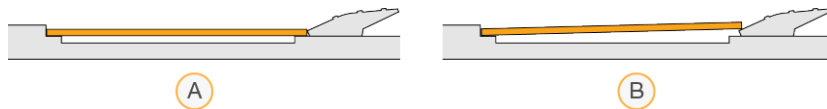
- 3 Varmista BeadChipin kummallakin puolella olevien aukkojen avulla, että BeadChip on tukevasti paikallaan sovittimessa.

Kuva 20 Varmista, että BeadChip on paikallaan



- 4 Kiinnitä BeadChip paikalleen vapauttamalla pidike varovasti.
- 5 Tarkista BeadChip myös sivulta, jotta varmistut, että sen pohja on tasaisesti sovitinpintaa vasten. Sijoita tarvittaessa BeadChip paikalleen uudelleen.

Kuva 21 Tarkista BeadChipin asento



- A Oikea asento – BeadChip on tasaisesti sovitimen pohjaa vasten, kun pidike vapautetaan.
B Virheellinen asento – BeadChip ei ole tasaisesti sovitimessa, kun pidike vapautetaan.

Skannauksen määrittäminen

- 1 Valitse aloitusnäytössä **Experiment** (Koe) ja valitse sitten **Scan** (Skannaa).
Scan (Skannaa) -komento avaa kuvauslokeron oven, vapauttaa tarvikkeet edellisestä ajosta (jos ollut) ja avaa joukon skannauksen määrittämissäytöjä. Pieni viive on normaalia.

Sekvensoinnin tarvikkeiden poistaminen

Jos laitteessa on käytettyjä sekvensoinnin tarvikkeita skannausta määrittäessäsi, ohjelmisto kehottaa poistamaan reagenssikasetin ja puskurikasetin ennen seuraavaan vaiheeseen siirtymistä.

- 1 Kehotettaessa poista aiemman sekvensointiajon käytetyt tarvikkeet.
 - a Poista reagenssikasetti reagenssilokerosta. Hävitä käytetty sisältö määräysten mukaisesti.
 - b Poista käytetty puskurikasetti puskurilokerosta.



VAROITUS

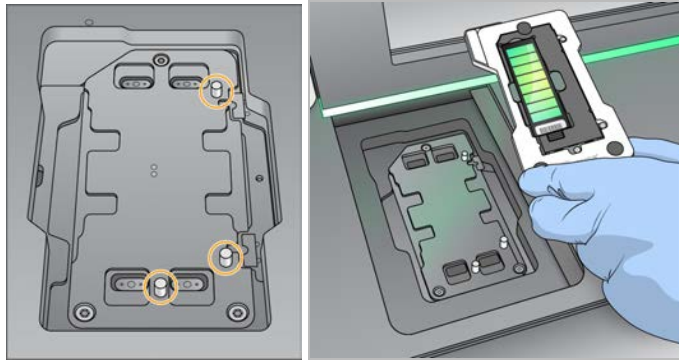
Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

- 2 Poista virtauskyvetti kuvauslokerosta.
- 3 Sulje reagenssilokeron ja puskurilokeron ovet.

BeadChip-sovittimen lataaminen

- 1 Asemoi BeadChip alustaan käyttämällä kohdistusnastoja.

Kuva 22 BeadChip-sovittimen lataaminen



- 2 Valitse **Load** (Lataa).
Ovi sulkeutuu automaattisesti, BeadChip-tunnus tulee näkyviin näyttöön, ja sensorit tarkistetaan. Pieni viive on normaalia. Jos BeadChipin viivakoodin lukeminen ei onnistu, näkyviin tulee valintaikkuna, johon voit kirjoittaa viivakoodin manuaalisesti. Katso *Ohjelmisto ei voi lukea BeadChipin viivakoodia* sivulla 46.
- 3 Valitse **Next** (Seuraava).

Skannauksen määrittäminen

- 1 Vahvista Scan Setup (Skannauksen määrittäminen) -näytössä seuraavat tiedot:
 - ▶ **Barcode** (Viivakoodi) – Ohjelmisto lukee BeadChipin viivakoodin, kun BeadChip ladataan. Jos viivakoodi on syötetty manuaalisesti, näkyvissä on muokkauksen tekemistä varten Edit (Muokkaa) -painike.
 - ▶ **Type** (Tyyppi) – BeadChipin tyyppi on valmiiksi määritetty BeadChipin viivakoodin perusteella.
 - ▶ **DMAP Location** (DMAP-sijainti) – DMAP-kansion sijainti määritetään BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skannauksen määrittäminen) -näytössä. Jos haluat muuttaa sijainnin vain nykyisessä skannauksessa, valitse **Browse** (Selaa) ja siirry haluamaasi sijaintiin.
 - ▶ **Output Location** (Tuotoskansion sijainti) – Tuotoskansion sijainti määritetään BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skannauksen määrittäminen) -näytössä. Jos haluat muuttaa sijainnin vain nykyisessä skannauksessa, valitse **Browse** (Selaa) ja siirry haluamaasi sijaintiin.
- 2 Valitse **Next** (Seuraava).

Ajoa edeltävän tarkistuksen tarkastaminen

Ohjelmisto suorittaa järjestelmän ajoa edeltävän tarkistuksen automaattisesti. Tarkistuksen aikana näyttöön tulevat seuraavat ilmaisimet:

- ▶ **Harmaa** 🚫 valintamerkki – tarkistusta ei ole vielä suoritettu.
- ▶ **Edistymistä ilmaiseva** 🔄 -kuvake – tarkistus on käynnissä
- ▶ **Vihreä** ✅ valintamerkki – tarkistus on suoritettu onnistuneesti.

- ▶ **Punainen** ✖ – tarkistus ei onnistunut. Kaikkien sellaisten kohteiden osalta, jotka eivät läpäisseet tarkistusta, edellytetään toimenpiteitä, ennen kuin voit jatkaa. Katso *Automaattisen tarkistuksen virheiden ratkaiseminen* sivulla 42.

Voit pysäyttää käynnissä olevan ajoa edeltävän tarkistuksen valitsemalla **Cancel** (Peruuta) -painikkeen. Voit käynnistää tarkistuksen uudelleen valitsemalla **Retry** (Yritä uudelleen) -painikkeen. Tarkistus jatkuu ensimmäisen epätäydellisen tai epäonnistuneen tarkistuksen kohdalta.

Voit tarkastella luokan jokaisen yksittäisen tarkistuksen tuloksia valitsemalla kyseisen luokan välilehden. Jos laitetta ei ole määritetty käynnistämään ajoa automaattisesti, käynnistä ajo, kun automaattinen ajoa edeltävä tarkistus on valmis.

Skannauksen aloittaminen

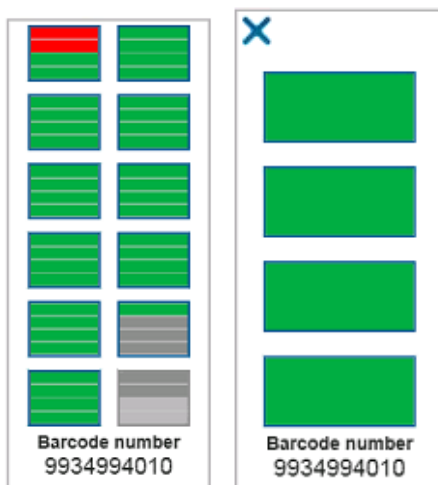
Kun automaattinen tarkistus on tehty, valitse **Start** (Aloita). Skannaus alkaa.

Jos haluat, että järjestelmä aloittaa skannauksen onnistuneen tarkistuksen jälkeen automaattisesti, katso kohta *Ajon käyttöönottoasetusten määrittäminen* sivulla 11.

Skannauksen edistymisen seuranta

- 1 Voit seurata skannauksen edistymistä BeadChipin kuvan avulla. Kuvan värit ilmaisevat skannauksen tilaa.
 - ▶ **Vaaleanharmaa** – ei skannattu
 - ▶ **Tummanharmaa** – skannattu mutta ei rekisteröity
 - ▶ **Vihreä** – skannattu ja rekisteröity onnistuneesti
 - ▶ **Punainen** – skannaus ja rekisteröinti epäonnistuivat.Jos rekisteröinti epäonnistuu, voit skannata epäonnistuneita osia sisältävät näytteet uudelleen. Katso *BeadChip-skannauksen virhe* sivulla 46.
- 2 Valitse BeadChip-kuva, jota haluat käyttää koko näytön tilan ja valitun näytteen yksityiskohtaisten tietojen välillä vaihtamiseen.
 - ▶ Koko näytön tila näyttää BeadChip-näytteet ja kaikkien näytteiden osat.
 - ▶ Yksityiskohtainen näkymä näyttää valitun näytteen osat.

Kuva 23 BeadChip-kuva: koko näytön tila ja yksityiskohtainen näkymä



HUOMAUTUS Kun skannaus päättyy, se on lopullista. Jos lopetat skannauksen, ennen kuin se on valmis, tietoja *ei* tallenneta.

Tiedonsiirto

Tiedot ovat jonossa ja odottavat siirtoa skannauksen tuotoskansioon, kun skannaus on valmis. Tiedot on väliaikaisesti tallennettu laitteen tietokoneeseen. Väliaikainen kansio poistetaan automaattisesti laitteen tietokoneesta, kun seuraava skannaus aloitetaan.

Tiedonsiirtoon kuluva aika määräytyy verkkoyhteyden mukaan. Ennen seuraavan skannauksen aloittamista varmista, että tiedot on kirjoitettu tuotoskansioon. Tarkista tämä varmistamalla, että viivakoodikansiossa on GTC-tiedostoja. Lisätietoja on kohdassa *Skannauksen tuotoskansion rakenne sivulla 61*.

Jos yhteys keskeytyy, tiedonsiirto palautuu automaattisesti, kun yhteys jälleen palautuu. Jokaisella tiedostolla on yhden tunnin ajastin tiedonsiirtojonossa, jossa se odottaa tuotoskansioon siirtämistä. Kun ajastimen aika loppuu tai jos laite käynnistetään uudelleen ennen tiedonsiirron päättymistä, tietoja ei tallenneta tuotoskansioon.

Luku 5 Huolto

Johdanto	33
Manuaalisen pesun suorittaminen	33
Ilmansuodattimen vaihtaminen	36
Ohjelmistopäivitykset	37
Uudelleenkäynnistys- ja sammutusvaihtoehdot	39

Johdanto

Huoltotoimiin kuuluvat laitteen manuaalinen pesu ja ilmansuodattimen vaihto. Tässä kohdassa selostetaan myös laitteen sammutus ja uudelleenkäynnistys.

- ▶ **Laitteen pesut** – automaattinen ajonjälkeinen pesu jokaisen sekvenssintiajon jälkeen auttaa ylläpitämään laitteen suorituskykyisenä. Manuaalista pesua kuitenkin edellytetään tietyissä tilanteissa. Katso *Manuaalisen pesun suorittaminen* sivulla 33.
- ▶ **Ilmansuodattimen vaihtaminen** – ilmansuodattimen säännöllinen vaihtaminen varmistaa, että laitteessa on riittävä ilmanvaihto.

Ennakoiva huolto

Illumina suosittelee, että ennakoiva huolto suoritetaan vuosittain. Jos sinulla ei ole palvelusopimusta, ota yhteyttä alueen yhteyspäällikköön tai Illuminan tekniseen tukeen laskutettavan ennakoivan huoltopalvelun järjestämistä varten.

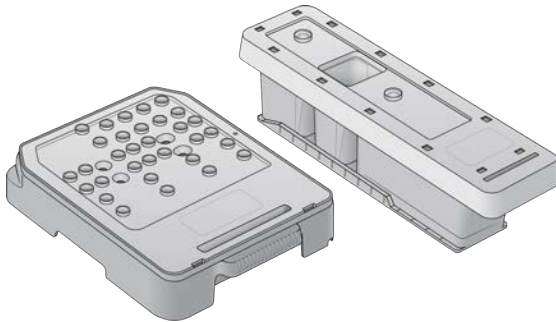
Manuaalisen pesun suorittaminen

Manuaaliset pesut käynnistetään aloitusnäytöstä. Pesuvaihtoehtoja ovat Quick Wash (Pikapesu) ja Manual Post-Run Wash (Manuaalinen ajonjälkeinen pesu).

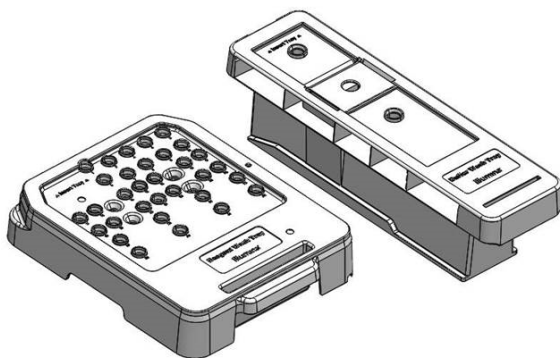
Pesutyytit	Kuvaus
Pikapesu Kesto: 20 minuuttia	Huuhtelee järjestelmän käyttäjän hankkimalla laboratorikäyttöön tarkoitettua vettä ja Tween 20:tä sisältävällä pesuliuksella (puskurin pesukasetti). <ul style="list-style-type: none">• Vaaditaan 14 päivän välein, kun laitetta ei ole käytetty ja reagenssikasetti ja puskurikasetti ovat paikoillaan.• Vaaditaan 7 päivän välein, kun laite on kuivatilassa (reagenssikasetti ja puskurikasetti on poistettu).
Manuaalinen ajonjälkeinen pesu Kesto: 90 minuuttia	Huuhtelee järjestelmän käyttäjän hankkimalla laboratorikäyttöön tarkoitettua vettä, Tween 20:tä ja 0,12-prosenttista natriumhypokloriittia sisältävällä pesuliuksella (puskurin pesukasetti). Vaaditaan, jos automaattista ajonjälkeistä pesua ei ole suoritettu.

Manuaalisessa pesussa tarvitaan reagenssien pesukasetti ja puskurin pesukasetti, jotka on toimitettu laitteen mukana, sekä käytetty virtauskyvetti. Käytettyä virtauskyvettä voidaan käyttää enintään 20 kertaa laitteen pesussa.

Kuva 24 Alkuperäistyylinen reagenssin pesukasetti ja puskurin pesukasetti



Kuva 25 Uudentyylinen reagenssin pesukasetti ja puskurin pesukasetti



Manuaalisen ajonjälkeisen pesun valmistelu

Valitse joko seuraavassa kuvattu manuaalisen ajonjälkeisen pesun valmistelu tai pikapesun valmistelu (seuraava osio). Jos aiot suorittaa manuaalisen ajonjälkeisen pesun, ohita pikapesua käsittelevä osio ja jatka kohtaan *Käytetyn virtauskyvetin ja pesukasettien lataaminen* sivulla 35.

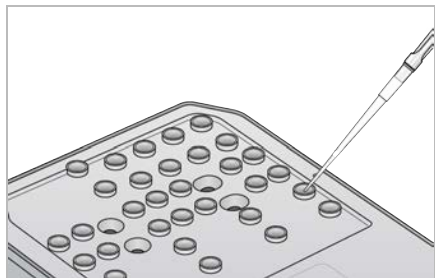
Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet	Määrä ja kuvaus
NaOCI	1 ml, laimennettu 0,12-prosenttiseksi Ladattu reagenssien pesukasettiin (sijainti: 28)
100-prosenttinen Tween 20 Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi	Käytetään 125 ml:n valmistamiseen 0,05-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta Ladattu puskurin pesukasettiin (keskisäiliö)

HUOMAUTUS Käytä aina tuoretta NaOCI-laimennosta, joka on valmistettu enintään **24 tuntia** aikaisemmin. Jos valmistat suuremman määrän kuin 1 ml, säilytä laimennosta 2–8 °C:n lämpötilassa ja käytä se 24 tunnin kuluessa. Muussa tapauksessa hävitä ylimääräinen NaOCI.

- 1 Yhdistä seuraavat määrät mikrosentrifugin putkessa, jolloin saat tuloksena 1 ml 0,12-prosenttista NaOCI-liuosta:
 - ▶ 5 % NaOCI (24 µl)
 - ▶ Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi (976 µl)
- 2 Sekoita aineet kääntämällä putkea.

- Lisää 1 ml 0,12-prosenttista natriumhypokloriittia (NaOCl) reagenssien pesukasettiin. Oikea säiliö vastaa sijaintia **28** esitetyssä kasetissa.

Kuva 26 Natriumhypokloriitin (NaOCl) lisääminen



- Yhdistä seuraavat määrät, jolloin saat tuloksena 0,05-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta:
 - Alkuperäistyylinen puskuripesukasetti
 - ▶ 100-prosenttinen Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi (125 ml)
 - ▶ Lisää 125 ml pesuliuosta puskurin pesukasetin keskimmaiseen säiliöön.
 - Uudentyylinen puskuripesukasetti
 - ▶ 100-prosenttinen Tween 20 (75 µl)
 - ▶ Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi (150 ml)
 - ▶ Lisää 150 ml pesuliuosta puskurin pesukasetin keskimmaiseen säiliöön.
- Valitse **Perform Wash** (Suorita pesu) ja valitse sitten **Manual Post-Run Wash** (Manuaalinen ajonjälkeinen pesu).

Pikapeson valmistelu

Voit valmistella pikapesun seuraavassa kuvatulla tavalla vaihtoehtona kohdassa *Manuaalisen ajonjälkeisen pesun valmistelu* sivulla 34 kuvatulle pesulle.

Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet	Määrä ja kuvaus
100-prosenttinen Tween 20 Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi	Käytetään 40 ml:n valmistamiseen 0,05-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta Ladattu puskurin pesukasettiin (keskisäiliö)

- Yhdistä seuraavat määrät, jolloin saat tuloksena 0,05-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta:
 - ▶ 100-prosenttinen Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi (40 ml)
- Lisää 40 ml pesuliuosta puskurin pesukasetin keskimmaiseen säiliöön.
- Valitse **Perform Wash** (Suorita pesu) ja valitse sitten **Quick Wash** (Pikapesu).

Käytetyn virtauskyvetin ja pesukasettien lataaminen

- Jos käytettyä virtauskyvettä ei ole laitteessa, lataa se laitteeseen. Valitse **Load** (Lataa) ja valitse sitten **Next** (Seuraava).

- 2 Poista käytettyjen reagenssien säiliö ja hävitä sisältö määräysten mukaisesti.



VAROITUS

Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

- 3 Liu'uta tyhjä käytettyjen reagenssien säiliö puskurilokeroon niin pitkälle kuin se menee.
- 4 Poista käytetty puskurikasetti edellisen ajon jäljiltä, jos sellainen on.
- 5 Lataa puskurin pesukasetti, joka sisältää pesunesteen.
- 6 Poista käytetty reagenssikasetti edellisen ajon jäljiltä, jos sellainen on.
- 7 Reagenssien pesukasetin lataaminen
- 8 Valitse **Next** (Seuraava). Pesua edeltävä tarkistus alkaa automaattisesti.

Pesun aloittaminen

- 1 Valitse **Start** (Aloita).
- 2 Kun pesu on valmis, valitse **Home** (Aloitus).

Pesun jälkeen

Pesun jälkeen annostelijat jäävät ala-asentoon, jotta järjestelmään ei pääse ilmaa. Jätä kasetit paikoilleen seuraavaan ajoon saakka.

Ilmansuodattimen vaihtaminen

Uusissa järjestelmissä on mukana kolme varailmansuodatinta. Ne on varastoitava ja niitä on käytettävä, kun instrumentista vastaanotetaan kehote suodattimen vaihtamiseksi.

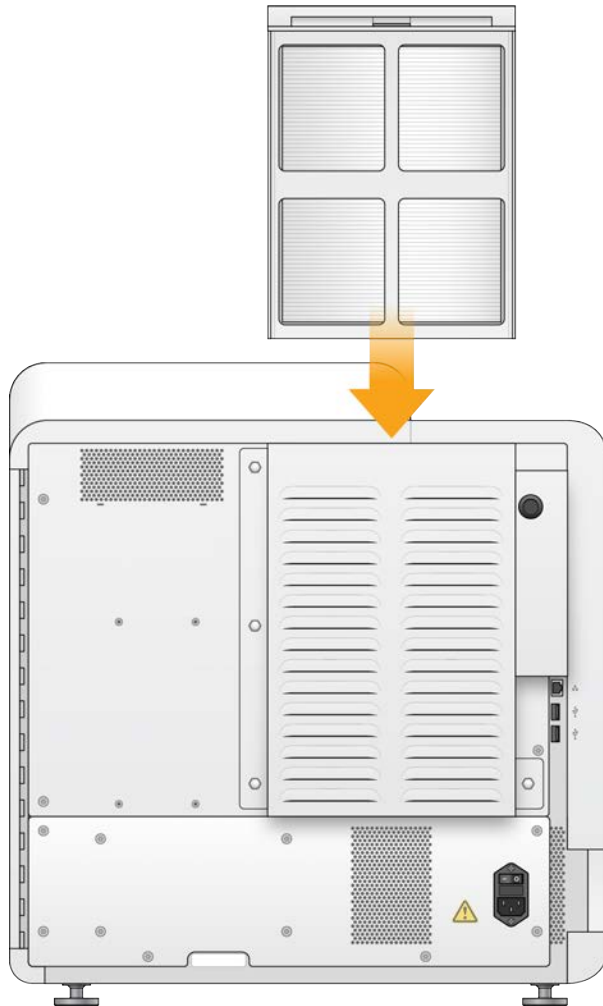
Ilmansuodatin varmistaa ilman virtauksen laitteessa. Ohjelmisto muistuttaa 90 päivän välein ilmansuodattimen vaihtamisesta. Kun näet kehotuksen, valitse **Remind in 1 day** (Muistuta yhden päivän päästä) tai noudata seuraavia ohjeita ja valitse **Filter Changed** (Suodatin vaihdettu). 90 päivän laskuri nollautuu, kun valitset **Filter Changed** (Suodatin vaihdettu).

- 1 Poista uusi ilmansuodatin pakkauksestaan ja kirjoita suodattimen kehukseen päivämäärä, jolloin asensit sen.
- 2 Vapauta suodattimen alusta painamalla alaspäin laitteen takana sijaitsevan alustan yläosaa.
- 3 Tartu suodattimen alustaan sen yläosasta ja vedä ylöspäin, jotta alusta tulee kokonaan pois laitteesta.
- 4 Poista ja hävitä vanha ilmansuodatin.
- 5 Aseta uusi ilmansuodatin alustaan.

HUOMAUTUS Ilmansuodatin ei toimi oikein, jos se on väärinpäin. Varmista, että ilmansuodatin on alustassa niin päin, että vihreä ylöspäin osoittava nuoli on näkyvässä, eikä varoitusmerkkiä näy. Nuolen tulee osoittaa suodatinalustan kahvan suuntaan.

- 6 Liu'uta suodattimen alusta laitteeseen. Paina suodattimen alustaa alaspäin, kunnes se naksahda paikalleen.

Kuva 27 Ilmansuodattimen asettaminen




Ohjelmistopäivitykset

Ohjelmistopäivitykset on niputettu System Suite -ohjelmistopaketti, joka sisältää seuraavat ohjelmistot:

- ▶ NextSeq Control Software (NCS) -ohjausohjelmisto
- ▶ NextSeq-reseptit
- ▶ RTA2
- ▶ NextSeq Service Software (NSS) -palveluohjelmisto
- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV) -sovellus
- ▶ BaseSpace-välitysohjelma

Voit asentaa ohjelmistopäivitykset automaattisesti internetyhteyden välityksellä tai manuaalisesti verkosta tai USB-sijainnista.

- ▶ **Automaattiset päivitykset** – Laitteissa, joissa on internetyhteys, ilmoituskuvake  tulee näkyviin aloitusnäytön Manage Instrument (Laitteen hallinta) -painikkeeseen, kun päivityksiä on saatavilla.
- ▶ **Manuaaliset päivitykset** – Lataa System Suite -asennusohjelma [NextSeq 550Dx -laitteen tukisivulta](#) Illuminan verkkosivustosta.

Automaattinen ohjelmistopäivitys

- 1 Valitse **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
- 2 Valitse **Software Update** (Ohjelmistopäivitys).
- 3 Valitse **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Asenna päivitys, joka on jo ladattu BaseSpacesta).
- 4 Käynnistä päivitys valitsemalla **Update** (Päivitä). Näyttöön tulee valintaikkuna komennon vahvistamista varten.
- 5 Noudata ohjatun asennustoiminnon kehoitteita:
 - a Hyväksy käyttöoikeussopimus.
 - b Tarkastele julkaisutietoja.
 - c Tarkastele päivitykseen sisältyvien ohjelmistojen luetteloa.

Kun päivitys on valmis, ohjausohjelmisto käynnistyy uudelleen automaattisesti.

HUOMAUTUS Jos päivitykseen sisältyy laiteohjelmistopäivitys, vaaditaan järjestelmän automaattinen uudelleenkäynnistys, kun laiteohjelmisto on päivitetty.

Manuaalinen ohjelmistopäivitys

- 1 Lataa System Suite -asennusohjelma Illuminan verkkosivustosta ja tallenna se verkkosijaintiin. Vaihtoehtoisesti voit kopioida ohjelmiston asennustiedoston siirrettävään USB-asemaan.
- 2 Valitse **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
- 3 Valitse **Software Update** (Ohjelmistopäivitys).
- 4 Valitse **Manually install the update from the following location** (Asenna päivitys manuaalisesti seuraavasta sijainnista).
- 5 Siirry ohjelmiston asennustiedoston sijaintiin valitsemalla **Browse** (Selaa) ja valitse sitten **Update** (Päivitä).
- 6 Noudata ohjatun asennustoiminnon kehoitteita:
 - a Hyväksy käyttöoikeussopimus.
 - b Tarkastele julkaisutietoja.
 - c Tarkastele päivitykseen sisältyvien ohjelmistojen luetteloa.

Kun päivitys on valmis, ohjausohjelmisto käynnistyy uudelleen automaattisesti.

HUOMAUTUS Jos päivitykseen sisältyy laiteohjelmistopäivitys, vaaditaan järjestelmän automaattinen uudelleenkäynnistys, kun laiteohjelmisto on päivitetty.

Uudelleenkäynnistys- ja sammutusvaihtoehdot

Voit käyttää seuraavia toimintoja Reboot / Shutdown (Käynnistä uudelleen / Sammuta) -painikkeella:

- ▶ Reboot to RUO (Käynnistä tutkimustilaan) – Laite käynnistyy tutkimustilaan.
- ▶ Restart (Käynnistä uudelleen) – Laite käynnistyy diagnostiikkatilaan.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Käynnistä tutkimustilasta diagnostiikkatilaan) – Laite käynnistyy diagnostiikkatilaan.
- ▶ Shutdown (Sammuta) – Kun virta kytketään uudelleen, laite käynnistyy diagnostiikkatilaan.
- ▶ Exit to Windows (Siirry Windowsiin) – Käyttöoikeuksien mukaan voit sulkea NCS:n ja siirtyä käyttämään Windowsin toimintoja.

Uudelleenkäynnistys diagnostiikkatilaan

Sammuta laitteesta virta ja käynnistä laite uudelleen diagnostiikkatilaan turvallisesti käyttämällä Restart (Käynnistä uudelleen) -komentoa. Diagnostiikkatila on oletusarvoinen käynnistystila.

- 1 Valitse **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
- 2 Valitse **Reboot / Shut Down** (Käynnistä uudelleen / Sammuta).
- 3 Valitse **Restart** (Käynnistä uudelleen).

Laitteen virran katkaiseminen

- 1 Valitse **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
- 2 Valitse **Reboot / Shut Down** (Käynnistä uudelleen / Sammuta).
- 3 Valitse **Shutdown** (Sammuta).
Shutdown (Sammuta) -komento sulkee ohjelmiston turvallisesti ja katkaisee laitteesta virran. Odota vähintään 60 sekuntia, ennen kuin kytket laitteeseen virran uudelleen.

HUOMAUTUS Oletusarvoisesti laite käynnistyy diagnostiikkatilaan, kun siihen kytketään virta.



VAROITUS

Älä siirrä laitetta. Laitteen virheellinen siirtäminen voi aiheuttaa optiseen kohdistukseen virheen ja vaurioittaa tietoja. Jos laite täytyy siirtää toiseen paikkaan, ota yhteys Illuminan edustajaan.

Siirtyminen Windowsiin

Exit to Windows (Siirry Windowsiin) -komennolla voit siirtyä laitteen käyttöjärjestelmään ja kaikkiin laitteen tietokoneen kansioihin. Komento sammuttaa ohjelmiston turvallisesti ja siirtää käyttäjän Windowsiin. Vain järjestelmänvalvoja voi siirtyä Windowsiin.

- 1 Valitse **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
- 2 Valitse **Reboot / Shut Down** (Käynnistä uudelleen / Sammuta).
- 3 Valitse **Exit to Windows** (Siirry Windowsiin).

Liite A Vianmääritys

Johdanto	41
Vianmääritystiedostot	41
Automaattisen tarkistuksen virheiden ratkaiseminen	42
Käytettyjen reagenssien säiliö on täynnä	44
Uudelleenhybridisoinnin työnkulku	44
BeadChip ja skannauksen virheet	46
Mukautetut reseptit ja reseptikansiot	47
RAID-virhesanoma	48
Järjestelmäasetusten määrittäminen	48

Johdanto

Ajon laatu- tai suorituskykyongelmia koskevissa kysymyksissä ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen. Katso *Tekninen tuki* sivulla 67.

Vianmääritystiedostot

Illuminan teknisen tuen edustaja saattaa pyytää ajo- tai skannauskohtaisia tiedostokopioita ongelmien vianmääritystä varten. Yleensä vianmäärityksessä käytetään seuraavia tiedostoja.

Sekvensointiaajojen tiedostojen vianmääritys

Tiedosto	Kansio	Kuvaus
Ajotietojen tiedosto (RunInfo.xml)	Pääkansio	Sisältää seuraavat tiedot: <ul style="list-style-type: none">• ajon nimi• jaksojen määrä ajossa• jaksojen määrä kussakin readissa• onko read indeksoitu read• pyyhkäisyalueiden ja ruutujen määrä virtauskyvetissä
Ajon parametritiedosto (RunParameters.xml)	Pääkansio	Sisältää tietoja ajon parametreista ja osista. Näitä tietoja ovat RFID, sarjanumero, osanumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä.
RTA-määritystiedosto (RTAConfiguration.xml)	Pääkansio	Sisältää ajon RTA-määritykset. RTAConfiguration.xml-tiedosto luodaan ajon alussa.
InterOp-tiedostot (*.bin)	InterOp	Binäärimuotoiset raportointitiedostot. InterOp-tiedostot päivittyvät koko ajon ajan.
Lokitiedostot	Lokit	Lokitiedostoissa kuvataan jokainen laitteella kunkin jakson aikana suoritettu vaihe ja yksilöidään ajossa käytetyt ohjelmisto- ja laiteohjelmistoversiot. Tiedosto [LaitteenNimi]_CurrentHardware.csv sisältää laitteen osien sarjanumerot.
Virhelokitiedostot (*ErrorLog*.txt)	RTA -lokit	RTA-virheet sisältävä loki. Virhelokitiedostot päivittyvät aina virheen ilmetessä.
Yleiset lokitiedostot (*GlobalLog*.tsv)	RTA logs	Kaikkien RTA-tapahtumien loki. Yleiset lokitiedostot päivittyvät koko ajon ajan.
Kaistalokitiedostot (*LaneLog*.txt)	RTA logs	Kirjaa RTA-käsittelytapahtumat lokiin. Kaistalokitiedostot päivittyvät koko ajon ajan.

RTA-virheet

Voit tehdä RTA-virheiden vianmäärityksen tarkistamalla ensin RTA-virhelokin, joka on tallennettu RTALogs-kansioon. Tätä tiedostoa ei ole, jos ajo on onnistunut. Sisällytä virheloki, kun raportoit ongelmista Illuminan tekniseen tukeen.

Array-skannausten tiedostojen vianmääritys

Tiedosto	Kansio	Kuvaus
Skannauksen parametritiedosto (ScanParameters.xml)	Pääkansio	Sisältää tietoja skannauksen parametreista. Tietoja ovat skannauksen päivämäärä, BeadChipin viivakoodi, klusteritiedoston sijainti ja manifestitiedoston sijainti.
Lokitiedostot	Lokit	Lokitiedostoissa kuvataan jokainen laitteella skannauksen aikana suoritettu vaihe.
Mittaustietotiedostot	[Viivakoodi]	Mittaustiedot esitetään näytteiden mittaustietoina ja osien mittaustietoina. [viivakoodi]_sample_metrics.csv – Jokaista näytettä ja kanavaa (punainen ja vihreä) kohden näytetään seuraavat tiedot: Percent Off Image (Prosenttia kuvasta), Percent Outlier (Vieraiden havaintojen prosentti), P05, P50, P95, Avg FWHM Avg (Keskim. FWHM:n keskiarvo), FWHM Stddev (FWHM-standardipoikkeama) ja Min Registration Score (Vähimmäisrekisteröintimäärä). [viivakoodi]_section_metrics.csv – Jokaista osaa ja ruutua kohden näytetään seuraavat tiedot: Laser Z-position (Laserin Z-sijainti), Through Focus Z-position (Läpitarkeyksen Z-sijainti), Red FWHM (Punainen FWHM), Green FWHM (Vihreä FWHM), Red Avg Pixel Intensity (Punainen keskiarvoinen pikselitiheys), Green Avg Pixel Intensity (Vihreä keskiarvoinen pikselitiheys), Red Registration Score (Punainen rekisteröintimäärä) ja Green Registration Score (Vihreä rekisteröintimäärä).
Uudelleenskannauksen tiedosto	[Viivakoodi]	[viivakoodi]_rescan.flowcell – Näyttää ruutujen säädetyt sijainnit uudelleenskannausta varten, kuten suuremman ruutujen päällekkäisyyden.

Automaattisen tarkistuksen virheiden ratkaiseminen

Jos automaattisen tarkistuksen aikana esiintyy virheitä, ratkaise virhe tekemällä suositellut toimenpiteet.

Sekvensointiajojen tarkistukset

Jos ajoa edeltävä tarkistus epäonnistuu, reagenssikasetin RFID ei ole lukittu ja sitä voidaan käyttää seuraavassa ajossa. Virtauskyvetin, reagenssikasetin ja puskurikasetin RFID-sirut kuitenkin lukitaan ohjausohjelmiston alustuksen ajaksi, mikä saattaa olla tarpeen virheen ratkaisemiseksi. Käyttäjän on poistettava virtauskyvetti, reagenssikasetti ja puskurikasetti laitteesta ennen järjestelmän uudelleenkäynnistystä. Lisäksi RFID-tarvikkeet lukitaan, kun foliokalvotiivistet on puhkaistu. Kun ohjelmisto on lukenut virtauskyvetin RFID-sirun, 7 tunnin ajastin käynnistyy, ennen kuin virtauskyvettä pidetään lukittuna ja käyttökelvottomana.

Järjestelmätarkistukset	Suosittelu toimenpide
Ovet suljettu	Varmista, että lokeroiden ovet ovat kiinni.
Tarvikkeet ladattu	Tarvikesensorit eivät rekisteröi. Varmista, että kaikki tarvikkeet on ladattu oikein. Palaa latausvaiheeseen valitsemalla ajon määritysnäytössä Back (Takaisin) ja toista ajon määritys.
Vaadittu ohjelmisto	Tärkeitä ohjelmiston osia puuttuu. Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.

Järjestelmätarkistukset	Suosittelut toimenpiteet
Laitteen levytila	Laitteen kiintolevyllä ei ole riittävästi tilaa ajoa varten. On mahdollista, että aiemman ajon tietoja ei ole siirretty. Tyhjennä ajotiedot laitteen kiintolevyiltä.
Verkkoyhteys	Verkkoyhteys on katkennut. Tarkista verkkoyhteyden tila ja fyysinen verkkoyhteys.
Verkon levytila	Verkkopalvelimen levytila on täynnä.

Lämpötila	Suosittelut toimenpiteet
Lämpötila	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Lämpötilasensorit	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Puhaltimet	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.

Kuvausjärjestelmä	Suosittelut toimenpiteet
Kuvausrajat	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Z Steps-and-Settle	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Bittivirhesuhde	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Virtauskyvetin rekisteröinti	On mahdollista, että virtauskyvettä ei ole asetettu oikein. <ul style="list-style-type: none"> • Palaa virtauskyvettivaiheeseen valitsemalla ajon määritysnäytössä Back (Takaisin). Kuvauslokeroon ovi aukeaa. • Poista virtauskyvetti ja lataa se uudelleen varmistaaksesi, että se on asetettu paikalleen oikein.

Reagenssin annostelu	Suosittelut toimenpiteet
Venttiilin toiminta	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Pumppu	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Puskurin mekanismi	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Käytettyjen reagenssien säiliö	Tyhjennä käytettyjen reagenssien säiliö ja lataa tyhjä säiliö uudelleen.

Array-skannausten tarkistukset

Järjestelmätarkistukset	Suosittelut toimenpiteet
Ovet suljettu	Varmista, että lokeroiden ovet ovat kiinni.
Tarvikkeet ladattu	Tarvikesensorit eivät rekisteröi. Varmista, että kaikki tarvikkeet on ladattu oikein. Palaa latausvaiheeseen valitsemalla ajon määritysnäytössä Back (Takaisin) ja toista ajon määritys.
Vaadittu ohjelmisto	Tärkeitä ohjelmiston osia puuttuu. Palauta kaikki ohjelmisto-osat tekemällä manuaalinen ohjelmistopäivitys.
Tarkista syötetiedostot	Varmista, että klusteritiedosto ja manifestitiedosto ovat käytössä ja että ne ovat oikeat.
Laitteen levytila	Laitteen kiintolevyllä ei ole riittävästi tilaa ajoa varten. On mahdollista, että aiemman ajon tietoja ei ole siirretty. Tyhjennä ajotiedot laitteen kiintolevyiltä.
Verkkoyhteys	Verkkoyhteys on katkennut. Tarkista verkkoyhteyden tila ja fyysinen verkkoyhteys.
Verkon levytila	BaseSpace-tili on täynnä, tai verkkopalvelimen levytila on täynnä.

Kuvausjärjestelmä	Suosittelut toimenpide
Kuvausrajat	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Z Steps-and-Settle	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Bittivirhesuhde	Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
Autom. keskittäminen	Poista BeadChip-sovitin. Varmista, että BeadChip on sovittimessa oikein, ja lataa sitten sovitin uudelleen.

Käytettyjen reagenssien säiliö on täynnä

Aloita ajo aina siten, että käytettyjen reagenssien säiliö on tyhjä.

Jos aloitat ajon tyhjentämättä käytettyjen reagenssien säiliötä, järjestelmän sensorit antavat ohjelmistolle komennon pysäyttää ajo, kun säiliö on täynnä. Järjestelmän sensorit eivät voi pysäyttää ajoa klusteroinnin, paired-end-uudelleensyntetisoinnin tai automaattisen ajon jälkeisen pesun aikana.

Kun ajo pysähtyy, näyttöön tulee valintaikkuna, jonka vaihtoehdot kehottavat nostamaan annostelijat ja tyhjentämään täyden säiliön.

Käytettyjen reagenssien säiliön tyhjentäminen

- 1 Valitse **Raise Sippers** (Nosta annostelijat).
- 2 Poista käytettyjen reagenssien säiliö ja hävitä sisältö asianmukaisesti.
- 3 Palauta tyhjä säiliö puskurilokeroon.
- 4 Valitse **Continue** (Jatka). Ajo jatkuu automaattisesti.

Uudelleenhybridisoinnin työnkulku

Uudelleenhybridisointi saatetaan vaatia, jos ensimmäisten jaksojen aikana luodut mittaustulokset osoittavat alle 2 500:n voimakkuuksia. Jotkin vähäisen monimuotoisuuden kirjastot saattavat näyttää voimakkuuksiksi alle 1 000, mikä on odotettua eikä tätä voida ratkaista uudelleenhybridisoinnilla.

HUOMAUTUS End Run (Lopeta ajo) -komento on peruuttamaton. Ajoa ei voi jatkaa, ajon tarvikkeita ei voi käyttää uudelleen, eikä ajon sekvensointitietoja tallenneta.

Kun lopetat ajon, ohjelmisto suorittaa seuraavat vaiheet, ennen kuin ajo päättyy:

- ▶ Asettaa virtauskyvetin turvalliseen tilaan.
- ▶ Poistaa virtauskyvetin RFID-lukituksen seuraavaa ajoa varten.
- ▶ Määrittää virtauskyvetille uudelleenhybridisoinnin viimeisen mahdollisen ajankohdan.
- ▶ Kirjoittaa suoritettujen jaksojen ajolokit. Viive on normaalia.
- ▶ Ohittaa automaattisen ajonjälkeisen pesun.

Kun aloitat uudelleenhybridisointiajon, ohjelmisto suorittaa seuraavat ajon suoritusvaiheet:

- ▶ Luo ajokansion yksilöllisen ajon nimen perusteella.
- ▶ Tarkistaa, ettei virtauskyvetin uudelleenhybridisoinnin viimeistä mahdollista ajankohtaa ole ohitettu.
- ▶ Valmistele reagenssien alukkeen. Viive on normaalia.
- ▶ Ohittaa klusterointivaiheen.

- ▶ Poistaa aiemman readin 1 alukkeen.
- ▶ Hybridisoi tuoreen readin 1 alukkeen.
- ▶ Jatkaa readiä 1 ja suorittaa ajon loppuun määritettyjä ajon parametreja käyttäen.

Ajon lopetuskohdat uudelleenhybridisointia varten

Myöhempi uudelleenhybridisointi on mahdollinen vain, jos ajo lopetetaan seuraavissa kohdissa:

- ▶ **Jakson 5 jälkeen** – Voimakkuudet tulevat näkyviin mallin rekisteröinnin jälkeen, mikä edellyttää viittä sekvensointijaksoa. Ajon lopettaminen jakson 1 jälkeen on turvallista, mutta suositus on lopettaa jakson 5 jälkeen. Älä lopeta ajoa klusterien luonnin aikana.
- ▶ **Read 1 tai indeksin 1 read** – Lopeta ajo *ennen* paired-end-uudelleensyntetisoinnin alkamista. Virtauskyvettä ei voi tallentaa myöhempää uudelleenhybridisointia varten sen jälkeen, kun paired-end-uudelleensyntetisointi on alkanut.

Tarvittavat tarvikkeet

Uudelleenhybridisointiajo edellyttää uutta NextSeq 550Dx -reagenssikasettia ja -puskurikasettia riippumatta siitä, milloin ajo on pysäytetty.

Nykyisen ajon lopettaminen

- 1 Valitse **End Run** (Lopeta ajo). Kun näyttöön tulee kehote vahvistaa komento, valitse **Yes** (Kyllä).
- 2 Kun näyttöön tulee kehote tallentaa virtauskyvetti, valitse **Yes** (Kyllä). Huomioi viimeinen mahdollinen uudelleenhybridisointipäivämäärä.
- 3 Poista tallennettu virtauskyvetti ja siirrä se sivuun 2–8 °C:n lämpötilaan, kunnes olet valmis määrittämään uudelleenhybridisointiajon.

HUOMAUTUS Voit säilyttää virtauskyvettä enintään seitsemän päivän ajan 2–8 °C:n lämpötilassa muovisessa saranapakkauksessa *ilman* kuivausainepakkausta. Parhaan tuloksen saat, kun tallennetun virtauskyvetin uudelleenhybridisointi tehdään kolmen päivän kuluessa.

Manuaalisen pesun suorittaminen

- 1 Valitse Home (Aloitus) -näytössä **Perform Wash** (Suorita pesu).
- 2 Valitse Wash Selection (Pesun valinta) -näytössä **Manual Post-Run Wash** (Manuaalinen ajonjälkeinen pesu). Katso *Manuaalisen pesun suorittaminen* sivulla 33.

HUOMAUTUS Jos et ole poistanut reagenssikasettia ja puskurikasettia pysäytetystä ajosta, voit käyttää niitä manuaaliseen pesuun. Muussa tapauksessa käytä manuaaliseen pesuun reagenssien pesukasettia ja puskurin pesukasettia.

Uuden ajon määrittäminen BaseSpacen Prep (Valmistelu) -välilehdessä

- 1 Jos laite on määritetty BaseSpacea tai BaseSpace Onsitea varten, määritä uusi ajo Prep (Valmistelu) -välilehdessä käyttäen alkuperäisen ajon parametreja.

VIHJE Valitse Pools (Poolit) -välilehti, valitse edellisen ajon asetuksia vastaava poolin tunnus ja anna sitten uudelle ajolle yksilöllinen nimi.

Ajon määrittäminen laitteessa

- 1 Valmistele uusi reagenssikasetti.
- 2 Jos tallennettua virtauskyvettä on pidetty säilytyslämpötilassa, anna sen saavuttaa huoneenlämpötila (15–30 minuuttia).
- 3 Puhdista ja lataa tallennettu virtauskyvetti.
- 4 Poista käytettyjen reagenssien säiliö, hävitä sisältö asianmukaisesti ja lataa sitten tyhjä säiliö uudelleen.
- 5 Lataa uusi puskurikasetti ja reagenssikasetti.
- 6 Valitse Run Setup (Ajon määrittäminen) -näytössä seuraavista vaihtoehdoista:
 - ▶ **BaseSpace tai BaseSpace Onsite** – Valitse ajo ja vahvista ajon parametrit.
 - ▶ **Standalone (Erillistila)** – Anna ajon nimi ja määritä samat parametrit kuin alkuperäisessä ajossa.
- 7 Jatka ajoa edeltävään tarkistukseen ja aloita ajo valitsemalla **Next** (Seuraava).

BeadChip ja skannauksen virheet

Ohjelmisto ei voi lukea BeadChipin viivakoodia

Kun näyttöön tulee viivakoodivirheen valintaikkuna, valitse seuraavista vaihtoehdoista:

- ▶ Valitse **Rescan** (Skannaa uudelleen). Ohjelmisto yrittää lukea viivakoodin uudelleen.
- ▶ Valitse tekstikenttä ja anna viivakoodin numero, jollaisen näet kuvassa. BeadChip-tyypin mukaan viivakoodissa voi olla enintään 12 numeroa. Valitse **Save (Tallenna)**. Viivakoodin kuva tallennetaan tuotoskansioon.
- ▶ Valitse **Cancel** (Peruuta). Kuvauslokeron ovi aukeaa BeadChip-sovittimen poistamista varten.

BeadChip-skannauksen virhe

Kuvat rekisteröidään sen jälkeen, kun ne on skannattu. Rekisteröinti tunnistaa helmet korreloimalla skannatussa kuvassa olevat sijainnit helmien määrittystietojen tai DMAP-kansion kanssa.

Osat, joiden rekisteröinti epäonnistuu, ilmaistaan punaisella BeadChip-kuvassa.

Kuva 28 BeadChip, jossa näkyy epäonnistuneita osia



Kun skannaus on valmis ja skannauksen tiedot on kirjoitettu tuotoskansioon, Rescan (Skannaa uudelleen) -painike muuttuu aktiiviseksi.

Kun Rescan (Skannaa uudelleen) on valittu, ohjelmisto suorittaa seuraavat vaiheet:

- ▶ Skannaa uudelleen näytteet, joissa on epäonnistuneita osia, käyttäen suurempaa laattojen päällekkäisyyttä.
- ▶ Luo tuotostiedostot alkuperäiseen tuotoskansioon.
- ▶ Korvaa epäonnistuneiden osien edelliset tuotostiedostot.
- ▶ Suurentaa laskurilukemaa yhdellä kutakin uudelleenskannausta kohden, mutta tekee tämän taustalla. Ohjelmisto ei nimeä tuotoskansiota uudelleen.

Uudelleenskannaus tai uuden skannauksen aloittaminen

- 1 Valitse **Rescan** (Skannaa uudelleen), jos haluat skannata näytteet, jotka sisältävät epäonnistuneita osia.
- 2 Jos skannaus edelleen epäonnistuu, lopeta skannaus.
- 3 Poista BeadChip ja sovitin ja tarkista, ettei BeadChipissä ole pölyä tai jäänteitä. Käytä kompressoitua ilmaa tai muuta paineilmaan perustuvaa pölyn ja jäänteiden poistomenetelmää.
- 4 Lataa BeadChip uudelleen ja aloita uusi skannaus.
Kun uusi skannaus on aloitettu, ohjelmisto suorittaa seuraavat vaiheet:
 - ▶ Skannaa koko BeadChipin.
 - ▶ Luo tuotostiedostot uuteen tuotoskansioon.
 - ▶ Suurentaa laskurilukemaa yhdellä viimeisimmän uudelleenskannauksen skannausmäärän perusteella.

Manifestitiedostojen ja klusteritiedostojen korvaaminen

- 1 Siirry Illuminan tukisivulle (support.illumina.com), valitse käyttämäsi BeadChip ja valitse **Downloads** (Ladattavat tiedostot) -välilehti.
- 2 Lataa korvattavat tai päivitettävät tiedostot ja kopioi tiedostot haluamaasi verkkosijaintiin.

HUOMAUTUS Varmista, että lataat NextSeq 550Dx -järjestelmän kanssa yhteensopivat manifesti- ja klusteritiedostot. Yhteensopivien tiedostojen tiedostonimessä on **NS550**.

- 3 Vain jos sijainti on muuttunut, päivitä sijainti BeadChip Scan Configuration (BeadChip-skannauksen määrytykset) -näytössä seuraavasti:
 - a Valitse NCS:n Home (Aloitus) -näytössä **Manage Instrument** (Laitteen hallinta).
 - b Valitse **System Configuration** (Järjestelmän kokoonpano).
 - c Valitse **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skannauksen määrytykset).
- 4 Valitse **Browse** (Selaa) ja siirry korvattujen tai päivitettyjen tiedostojen sijaintiin.

Mukautetut reseptit ja reseptikansiot

Älä muokkaa alkuperäisiä reseptejä. Tee aina kopio alkuperäisestä reseptistä ja anna sille uusi nimi. Jos alkuperäistä reseptiä muokataan, ohjelmiston päivitystoiminto ei enää tunnista reseptiä myöhempiä päivityksiä varten eikä uusia versioita enää asenneta.

Säilytä mukautettuja reseptejä soveltuvassa reseptikansiossa. Reseptikansiot on järjestetty seuraavasti.

 **Custom (Mukautettu)**

 **High** (Suurteho) – mukautetut reseptit, joita käytetään suurtehosarjan kanssa

 **Mid** (Keskiteho) – mukautetut sarjat, joita käytetään keskitehosarjan kanssa

 **High** (Suurteho) – mukautetut reseptit, joita käytetään suurtehosarjan kanssa

 **Mid** (Keskiteho) – alkuperäiset sarjat, joita käytetään keskitehosarjan kanssa

 **Wash** (Pesu) – sisältää manuaalisen pesun reseptin.

RAID-virhesanoma

NextSeq 550Dx -tietokoneessa on neljä kiintolevyä, kaksi diagnostiikkatilaa ja kaksi tutkimustilaa varten. Jos kiintolevy vaikuttaa alkavan rikkoutua, järjestelmä luo RAID-virhesanomaa ja ehdottaa yhteyden ottamista Illuminan tekniseen tukeen. Yleensä tällöin edellytetään kiintolevyn vaihtamista.

Voit jatkaa ajon määritysvaiheita ja normaalia käyttöä. Sanoman tarkoitus on saada käyttäjä kiinnittämään ongelmaan huomiota ja varaamaan huolto ajoissa, jotta laitteen normaaliin käyttöön ei tule keskeytyksiä. RAID-varoituksen voi kuitata vain järjestelmänvalvoja. Laitteen käyttäminen vain yhdellä kiintolevyllä voi johtaa tietojen menetykseen.

Järjestelmäasetusten määrittäminen

Järjestelmä määritetään asennuksen aikana. Jos kuitenkin muutosta edellytetään tai jos järjestelmä on määritettävä uudelleen, käytä järjestelmäasetuksia. Vain Windowsin järjestelmänvalvojan tilillä on oikeus käyttää järjestelmäasetuksia.

- ▶ **Network Configuration** (Verkon määrittäminen) – sisältää IP-osoiteasetukset, verkkotunnuspalvelimen (DNS) osoitteen, tietokoneen nimen ja verkkotunnuksen.

Verkkoasetusten määrittäminen

- 1 Valitse Manage Instrument (Laitteen hallinta) -näytössä **System Configuration** (Järjestelmän kokoonpano).
- 2 Määritä, että IP-osoite haetaan DHCP-palvelimen avulla, valitsemalla **Obtain an IP address automatically** (Hae IP-osoite automaattisesti).

HUOMAUTUS DHCP (Dynamic Host Configuration Protocol) on vakiomuotoinen verkkoprotokolla, jota IP-verkoissa käytetään verkon määrittämissä parametrien dynaamiseen jakamiseen.

Vaihtoehtoisesti voit valita **Use the following IP address** (Käytä seuraavaa IP-osoitetta), jos haluat yhdistää laitteen toiseen palvelimeen manuaalisesti seuraavassa esitetyllä tavalla. Toimipaikkakohtaiset osoitteet saat ottamalla yhteyttä verkonvalvojaan.

- ▶ Anna IP-osoite. IP-osoite on neliosainen sarja numeroita, jossa osia erottaa toisistaan piste, esimerkiksi 168.62.20.37.
 - ▶ Anna aliverkon peite, joka on IP-verkon aliosa.
 - ▶ Anna oletusarvoinen yhdyskäytävä, joka on internetiin yhteydessä olevan verkon reititin.
- 3 Määritä, että laite yhdistetään IP-osoitetta vastaavaan verkkotunnuspalvelimeen, valitsemalla **Obtain a DNS server address automatically** (Hae verkkotunnuspalvelimen (DNS) osoite automaattisesti).

Vaihtoehtoisesti voit valita **Use the following DNS server addresses** (Käytä seuraavia verkkotunnuspalvelimen (DNS) osoitteita), jos haluat yhdistää laitteen verkkotunnuspalvelimeen manuaalisesti seuraavassa esitetyllä tavalla.

- ▶ Anna haluamasi DNS-osoite. DNS-osoite on sen palvelimen nimi, jota käytetään verkkotunnusten kääntämiseen IP-osoitteiksi.
 - ▶ Anna vaihtoehtoinen DNS-osoite. Vaihtoehtoa käytetään, jos ensisijainen verkkotunnuspalvelin ei pysty kääntämään ensisijaista verkkotunnusta IP-osoitteeksi.
- 4 Jatka Computer (Tietokone) -näyttöön valitsemalla **Save** (Tallenna).

HUOMAUTUS Laitteen tietokoneen nimi määritetään laitteen tietokoneen valmistusvaiheessa. Muutokset tietokoneen nimeen voivat vaikuttaa yhteyden muodostamiseen, jolloin vaaditaan verkonvalvojan toimia.

- 5 Yhdistä laitteen tietokone hallinta-alueeseen tai työryhmään seuraavasti.
- ▶ **Laitteet, joissa on internet-yhteys** – Valitse **Member of Domain** (Hallinta-alueen jäsen) ja anna sitten kyseiseen toimipaikkasi internet-yhteyteen liittyvä verkkotunnus. Hallinta-alueen muutokset edellyttävät järjestelmävalvojan käyttäjänimeä ja salasanaa.
 - ▶ **Laitteet, joissa ei ole internet-yhteyttä** – Valitse **Member of Work Group** (Työryhmän jäsen) ja anna sitten työryhmän nimi. Työryhmän nimi on yksilöllinen toimipaikassasi.
- 6 Valitse **Save** (Tallenna).

Analysoinnin asetusten määrittäminen

- 1 Valitse Manage Instrument (Laitteen hallinta) -näytössä **System Configuration** (Järjestelmän kokoonpano).
- 2 Valitse **Analysis Configuration** (Analysoinnin asetukset).
- 3 Valitse seuraavista vaihtoehdoista sijainti, johon tiedot siirretään seuraavia analyyseja varten.
- ▶ Valitsemalla **BaseSpace** voit määrittää, että sekvensointitiedot lähetetään Illumina BaseSpaceen. **[Valinnainen]** Valitse **Output Folder** (Tuotoskansio) -valintaruutu, valitse **Browse** (Selaa) ja siirry toissijaiseen verkkosijaintiin, johon haluat tallentaa BCL-tiedostot BaseSpacen lisäksi.
 - ▶ Valitse **BaseSpace Onsite**. Kirjoita Server Name (Palvelimen nimi) -kenttään BaseSpace Onsite -palvelimesi koko nimi. **[Valinnainen]** Valitse **Output Folder** (Tuotoskansio) -valintaruutu, valitse **Browse** (Selaa) ja siirry toissijaiseen verkkosijaintiin, johon haluat tallentaa BCL-tiedostot BaseSpace Onsite -palvelimen lisäksi.
 - ▶ Valitse **Standalone instrument** (Erillinen laite), jos haluat tallentaa tiedot vain verkkosijaintiin. Siirry haluamaasi verkkosijaintiin valitsemalla **Browse** (Selaa). Ohjausohjelmisto luo tuotoskansion nimen automaattisesti.
 - ▶ **[Valinnainen]** Valitse **Use Run Monitoring** (Käytä ajon valvontaa), jos haluat valvoa ajoa käyttäen BaseSpacen visualisointityökaluja. Tämä edellyttää BaseSpaceen kirjautumista ja internetyhteyttä.
- 4 Jos valitsit BaseSpace tai BaseSpace Onsite, määritä BaseSpace-parametrit seuraavasti.
- ▶ Rekisteröi laite BaseSpaceen kirjoittamalla BaseSpacen käyttäjänimi **User Name** (Käyttäjänimi) -kohtaan ja salasana **Password** (Salasana) -kohtaan.
 - ▶ Määritä rekisteröidyt käyttäjänimi ja salasana oletusarvoiksi valitsemalla **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Käytä oletusarvoisia kirjautumistietoja ja ohita BaseSpacen kirjautumisnäyttö). Tämä asetus ohittaa BaseSpace-näytön ajon määrittämisen aikana.

- Ota Illumina Proactive -valvontapalvelu käyttöön valitsemalla **Send Instrument Performance Data to Illumina (Lähetä laitteen suorituskykytiedot Illuminalle)** (Lähetä laitteen kuntotiedot Illuminalle). Asetuksen nimi ohjelmiston käyttöliittymässä saattaa poiketa tässä oppaassa esitetystä nimestä käytössä olevan NCS-version mukaan.
Kun tämä asetus on käytössä, laitteen suoritustiedot lähetetään Illuminalle. Tiedot auttavat Illuminaa vianmäärityksessä ja helpottavat mahdollisten vikojen havaitsemista, jolloin ennakoiva huolto voidaan ottaa käyttöön ja laitteen käytettävyyksensä maksimoidaan. Lisätietoja tämän palvelun hyödyistä annetaan *Illumina Proactiven teknisessä huomautuksessa (julkaisunro 1000000052503)*.
Tämä palvelu:
 - ▶ Ei lähetä sekvensointitietoja
 - ▶ Edellyttää, että laite on liitetty internetiin yhdistettyyn verkkoon
 - ▶ Palvelu on oletusarvoisesti poissa käytöstä. Voit aloittaa tämän palvelun käytön ottamalla käyttöön **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Lähetä laitteen suoritustiedot Illuminalle) -asetuksen.
- Valitse **Save** (Tallenna).

BeadChip-skannauksen määrytykset

- Valitse Manage Instrument (Laitteen hallinta) -näytössä **System Configuration** (Järjestelmän kokoonpano).
- Valitse **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip-skannauksen määrytykset).
- Määritä oletusarvoinen DMAP-kansiosijainti valitsemalla **Browse** (Selaa) ja siirtymällä haluamaasi kansioon toimipaikkasi verkossa.

HUOMAUTUS Lataa ja kopioi DMAP-sisältö tähän sijaintiin ennen jokaista skannausta. DMAP-sisältö vaaditaan jokaiselle BeadChipille, ja sisältö on BeadChip-viivakoodikohtainen.

- Määritä oletusarvoinen tuotossijainti valitsemalla **Browse** (Selaa) ja siirtymällä haluamaasi sijaintiin toimipaikkasi verkossa.
- Valitse kuvatiedostomuoto tallennettuja kuvia varten. Oletusarvoinen kuvatiedostomuoto on **JPG**.
- Valitse tuotostiedostomuoto skannauksen tiedoille. Oletusarvoinen tuotostiedostomuoto on **GTC only** (Vain GTC).
- Valitse **Save** (Tallenna).
- Määritä skannauksen määrytysnäytössä kullekin BeadChip-tyypille täydellinen manifestitiedoston ja klusteritiedoston polku. Valitse kummankin tiedostotyyppin osalta **Browse** (Selaa) ja siirry kansiosijaintiin, jossa nämä tiedostot sijaitsevat.
- [Valinnainen]** Piilota näkyvistä tarpeettomat BeadChipit valitsemalla **Hide Obsolete BeadChips** (Piilota tarpeettomat BeadChipit).
- Valitse **Save** (Tallenna).

Liite B Real-Time Analysis (Reaaliaikainen analyysi)

Real-Time Analysis -ohjelmiston yleiskatsaus	51
Real-Time Analysis -ohjelmiston työnkulku	52

Real-Time Analysis -ohjelmiston yleiskatsaus

NextSeq 550Dx -laite käyttää Real-Time Analysis (RTA) -nimisen ohjelmiston RTA2-toteutusta. RTA2:ta suoritetaan laitteen tietokoneessa, ja se erottaa kuvista voimakkuudet, suorittaa emästen tunnistamisen ja määrittää emästen tunnistamiselle laatuasteet. RTA2:n ja käyttöohjelmiston välinen tietoliikenne toteutetaan HTTP-verkkoliittymän ja jaettujen muistitiedostojen kautta. Jos RTA2 suljetaan, prosessointia ei jatketa eikä ajotietoja tallenneta.

RTA2-syötet

RTA2 vaatii seuraavat syötet prosessointia varten:

- ▶ Paikallisen järjestelmämuistin sisältämät laattakuvat
- ▶ **RunInfo.xml**, joka luodaan automaattisesti ajon alussa ja joka sisältää ajon nimen, jaksojen määrän, virtauskyvetin ruutujen määrän sekä tiedon siitä, onko read indeksoitu.
- ▶ **RTA.exe.config**, joka on ohjelmiston XML-muotoinen määrittämissä tiedosto.

RTA2 saa käyttöohjelmistolta komentoja tiedoston **RunInfo.xml** sijainnista ja siitä, onko valinnainen tuotoskansio määritetty.

RTA2-tuotostiedostot

Kummankin kanavan kuvat **siirretään** muistiin ruutuina. Ruudut ovat virtauskyvetissä olevia pieniä kameran näkökentän määrittämiä kuvausalueita. Näistä kuvista ohjelmisto tuottaa tuotoksen laadun perusteella pisteytettävänä emästen tunnistamistiedostojen ja suodatintiedostojen joukkona. Kaikki muut tiedostot ovat tukitiedostoja.

Tiedostotyyppi	Kuvaus
Emästen tunnistamistiedostot	Jokainen analysoitu ruutu sisällytetään emästen tunnistamistiedostoon (*.bcl.bgzf), joka on koottu kutakin kaistaa ja jaksoa kohden. Koottu emästen tunnistamistiedosto sisältää emästen tunnistamisen ja siihen liittyvän laatuasteityksen kaistan jokaisesta klusterista.
Suodatintiedostot	Jokainen ruutu tuottaa suodatintietoja, jotka on koottu yhteen suodatintiedostoon (*.filter) kutakin kaistaa kohden. Suodatintiedosto määrittää, läpäiseekö klusteri suodatimet.
Klusterien sijaintitiedostot	Klusterien sijaintitiedosto (*.locs) sisältää ruudun jokaisen klusterin X- ja Y-koordinaatit. Klusterien sijaintitiedosto luodaan jokaiselle kaistalle mallin luonnin aikana.
Emästen tunnistamisen indeksitiedostot	Emästen tunnistamisen indeksitiedosto (*.bci) tuotetaan jokaista kaistaa kohden, jotta alkuperäiset ruututiedot säilyvät. Indeksitiedosto sisältää jokaisen ruudun arvoparin, joka muodostuu ruudun numerosta ja kyseisen ruudun klusterien määrästä.

RTA2 sisältää reaaliaikaiset ajon laatua koskevat mittaustiedot, jotka tallennetaan InterOp-tiedostoina. InterOp-tiedostot ovat binäärimuotoisia tuotostiedostoja, jotka sisältävät ruutu-, jakso- ja read-tason mittaustiedot.

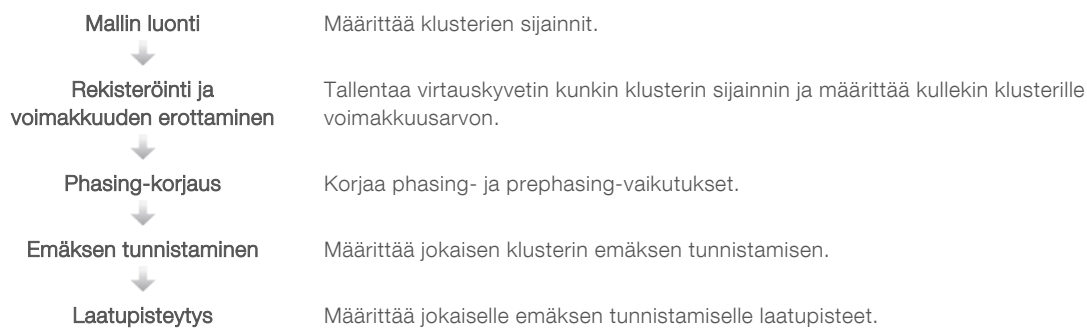
Virheiden käsittely

RTA2 luo lokitiedostot ja kirjoittaa ne RTALogs-kansioon. Virheet tallennetaan virhetiedostoon *.tsv-tiedostomuodossa.

Seuraavat loki- ja virhetiedostot siirretään lopulliseen tulostuskohteeseen prosessin lopussa:

- ▶ *GlobalLog*.tsv sisältää kaikki tärkeät ajotapahtumat.
- ▶ *LaneNLog*.tsv luettelee kaistakohtaiset prosessointitapahtumat.
- ▶ *Error*.tsv sisältää luettelon ajon aikana tapahtuneista virheistä.
- ▶ *WarningLog*.tsv sisältää luettelon ajon aikana ilmoitetuista varoituksista.

Real-Time Analysis -ohjelmiston työnkulku



Mallin luonti

RTA-työnkulun ensimmäinen vaihe on mallin luonti, jonka aikana määritetään jokaisen klusterin sijainti ruudussa X- ja Y-koordinaattien avulla.

Mallin luonti edellyttää kuvatietoja ajon viidestä ensimmäisestä jaksosta. Kun ruudun viimeinen mallijakso on kuvattu, malli on valmis.

HUOMAUTUS Jotta klusteri voidaan tunnistaa mallin luonnin aikana, **viidessä** ensimmäisessä jaksossa on oltava vähintään yksi muu kuin G-emäs. Indeksisekvensseissä RTA2 edellyttää, että **kahdessa** ensimmäisessä jaksossa on vähintään yksi muu kuin G-emäs.

Mallia käytetään myöhemmin rekisteröinnissä ja voimakkuuksien erotteluvaiheessa viitteenä. Virtauskyvetin kaikkien klusterien sijainnit kirjoitetaan klusterisijaintien tiedostoihin (*.locs), joita on yksi kutakin kaistaa kohden.

Rekisteröinti ja voimakkuuden erottaminen

Rekisteröinti ja voimakkuuden erottaminen alkavat mallin luonnin jälkeen.

- ▶ Rekisteröinti kohdistaa tuotetut kuvat kaikkiin seuraaviin kuvausjaksoihin mallin avulla.
- ▶ Voimakkuuden erottamisella määritetään mallin jokaisen klusterin voimakkuuden arvo tietyssä kuvassa.

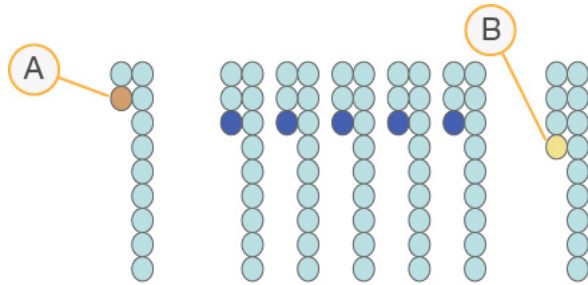
Jos rekisteröinti epäonnistuu jakson jossakin kuvassa, emäksiä ei tunnisteta kyseiselle ruudulle tässä jaksossa.

Phasing-korjaus

Sekvensointireaktion aikana jokainen klusterin DNA-juoste laajenee yhdellä emäksellä jaksoa kohden. Phasing- ja prephasing-korjaus tapahtuvat, kun juoste siirtyy epätahtiin nykyisen inkorporaatiojakson kanssa.

- ▶ Phasing-korjaus tapahtuu, kun emäs hidastuu.
- ▶ Prephasing-korjaus tapahtuu, kun emäs nopeutuu.

Kuva 29 Phasing- ja Prephasing-korjaus



- A Read emäksen kanssa, jossa phasing-korjaus
- B Read emäksen kanssa, jossa prephasing-korjaus.

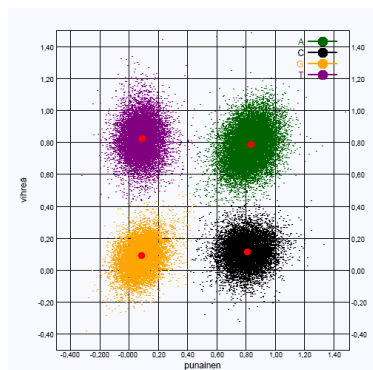
RTA2 korjaa phasing- ja prephasing-vaikutukset, mikä maksimoi tietojen laadun ajon jokaisessa jaksossa.

Emäksen tunnistaminen

Emäksen tunnistamisessa määritetään emäs (A, C, G tai T) tietyn rakenteen jokaiseen klusteriin tietyssä jaksossa. NextSeq 550Dx -laitteessa käytetään kaksikanavasekvensointia, joka edellyttää vain kahta kuvaa neljän DNA-emäksen koodaukseen, yhtä punaisesta ja yhtä vihreästä kanavasta.

Yhdestä kuvasta määritetyt voimakkuudet antavat tulokseksi toiseen kuvaan verrattuna neljä erillistä perusjoukkoa, joista jokainen vastaa nukleotidiä. Emäksen tunnistamisprosessilla määritetään, mihin perusjoukkoon kukin klusteri kuuluu.

Kuva 30 Klusterivoimakkuuden näyttö



Taulukko 1 Emästen määrittäminen kaksikanavasekvensoinnissa

Emäs	Punainen kanava	Vihreä kanava	Tulos
A	1 (käytössä)	1 (käytössä)	Klusterit, jotka näyttävät voimakkuuden sekä punaisessa että vihreässä kanavassa.
C	1 (käytössä)	0 (ei käytössä)	Klusterit, jotka näyttävät voimakkuuden vain punaisessa kanavassa.
G	0 (ei käytössä)	0 (ei käytössä)	Klusterit, jotka näyttävät voimakkuuden tunnetussa klusterisijainnissa.
T	0 (ei käytössä)	1 (käytössä)	Klusterit, jotka näyttävät voimakkuuden vain vihreässä kanavassa.

Suodattimen läpäisevät klusterit

Ajon aikana RTA2 suodattaa raakatiedot poistaakseen readit, jotka eivät ylitä tiedonlaatuksennystä. Päällekkäiset ja huonolaatuiset klusterit poistetaan.

Kaksikanava-analysissä RTA2 määrittää emäksen tunnistamisen puhtauden perusjoukkoon perustuvan järjestelmän avulla. Klusterit läpäisevät suodattimen, kun enintään yhden emäksen tunnistamisen puhtaus ensimmäisissä 25 jaksossa on < 0,63. Klustereiden, jotka eivät läpäise suodatinta, emäksiä ei tunnisteta.

Indeksointia koskevia huomioitavia seikkoja

Emäksen tunnistamisen indeksin readien prosessi eroaa emäksen tunnistamisesta muiden readien aikana.

Indeksin readien täytyy alkaa vähintään yhdellä emäksellä, joka on muu kuin G yhdessä kahdesta ensimmäisestä jaksosta. Mikäli indeksin read alkaa kahdella G-emäksen tunnistuksella, signaalin intensiteettiä ei luoda. Demultipleksoinnin suorituskyvyn varmistamiseksi signaalin on oltava läsnä jommassakummassa ensimmäisestä kahdesta jaksosta.

Demultipleksoinnin tehoa voidaan lisätä valitsemalla indeksin sekvenssit, jotka tuottavat signaalin vähintään yhdessä kanavassa ja mieluiten molemmissa kanavissa kaikissa jaksoissa. Tätä ohjetta noudattamalla voidaan välttää indeksiyhdistelmät, joiden tuloksena jossakin jaksossa syntyy vain G-emäksiä.

- ▶ Punainen kanava—A tai C
- ▶ Vihreä kanava—A tai T

Tällä emästen tunnistusprosessilla varmistetaan tarkkuus kompleksiltaan matalia näytteitä analysoitaessa.

Laatupisteytys

Laatupiste eli Q-piste on ennustus virheellisen emäksen tunnistamisen todennäköisyydestä. Korkeampi laatupiste osoittaa, että emäksen tunnistaminen on korkeampaa laatua ja todennäköisemmin oikein.

Q-piste on kätevä tapa pienten virhetodennäköisyyksien osoittamiseksi. Q(X) edustaa laatupisteitä, ja X ilmaisee pisteet. Seuraavassa taulukossa on esitetty laatupisteiden ja virhetodennäköisyyden välinen suhde.

Q-pisteet Q(X)	Virhetodennäköisyys
Q40	0,0001 (yksi 10 000:sta)
Q30	0,001 (yksi 1 000:sta)
Q20	0,01 (yksi 100:sta)
Q10	0,1 (yksi 10:stä)

HUOMAUTUS Laatupisteytys perustuu Phred-algoritmin muokattuun versioon.

Laatupisteytyksessä lasketaan jokaiselle emäksen tunnistamiselle ennustinjoukko ja etsitään sitten ennustinarvojen avulla Q-pisteet laatutaulukosta. Laatutaulukot luodaan optimaalisesti tarkkojen laatuennustusten saamiseksi ajoista, jotka on luotu sekvensointialustan ja kemiaversioin tietyllä määrityksellä.

Kun Q-pisteet on määritetty, tulokset tallennetaan emästen tunnistamistiedostoihin (*.bcl.bgzf).

Liite C Tuotostiedostot ja -kansiot

Sekvensoinnin tuotostiedostot	57
Tulostuskansion rakenne	60
Skannauksen tuotostiedostot	61
Skannauksen tuotoskansion rakenne	61

Sekvensoinnin tuotostiedostot

Tiedostotyyppi	Tiedoston kuvaus, sijainti ja nimi
Emästen tunnistamistiedostot	Jokainen analysoitu ruutu sisällytetään emästen tunnistamistiedostoon, joka on koottu yhdeksi tiedostoksi kutakin kaistaa ja jaksoa kohden. Koottu tiedosto sisältää emästen tunnistamisen ja koodatun laatupisteityksen kaistan jokaisesta klusterista. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Tiedostot tallennetaan yhteen kansioon kutakin kaistaa kohden. [Jakso].bcl.bgzf, jossa [jakso] edustaa nelinumeroista jaksonumeroa. Emäksen tunnistamistiedostot pakataan lohkon gzip-pakkauksen avulla.
Emästen tunnistamisen indeksitiedosto	Jokaisen kaistan osalta binäärimuotoinen indeksitiedosto sisältää alkuperäiset ruutujen arvoparit, jotka muodostuvat ruudun numerosta ja kyseisen ruudun klusterien määrästä. Emästen tunnistamisen indeksitiedostot luodaan, kun emästen tunnistamistiedosto luodaan kaistalle ensimmäistä kertaa. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Tiedostot tallennetaan yhteen kansioon kutakin kaistaa kohden. s_[kaista].bci
Klusterien sijaintitiedostot	Jokaisen ruudun osalta kunkin klusterin X- ja Y-koordinaatit kootaan yhteen klusterisijaintiin kutakin kaistaa kohden. Klusterien sijaintitiedostot ovat mallin luonnin tulos. Data\Intensities\L00[X] – Tiedostot tallennetaan yhteen kansioon kutakin kaistaa kohden. s_[kaista].locs
Suodatintiedostot	Suodatintiedosto määrittää, läpäisikö klusteri suodattimet. Suodatintiedot on koottu yhteen suodatintiedostoon kutakin kaistaa ja readia kohden. Suodatintiedostot luodaan 26 jaksossa 25 jakson tietojen perusteella. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Tiedostot tallennetaan yhteen kansioon kutakin kaistaa kohden. s_[lane].filter
InterOp-tiedostot	Binäärimuotoiset raportointitiedostot. InterOp-tiedostot päivittyvät koko ajon ajan. InterOp-kansio
RTA-määrittystiedosto	Tämä tiedosto luodaan ajon alussa, ja RTA-määrittystiedosto sisältää ajon asetukset. [Pääkansio], RTAConfiguration.xml
Ajotietojen tiedosto	Sisältää ajon nimen, kunkin readin jaksojen määrän, virtauskyvetin pyyhkäisyalueiden ja ruutujen määrän sekä tiedon siitä, onko read indeksoitu read. Ajotietojen tiedosto luodaan ajon alussa. [Pääkansio], RunInfo.xml

Virtauskyvetin ruudut

Ruudut ovat virtauskyvetissä olevia pieniä kameran näkökentän määrittämiä kuvausalueita. Ruutujen kokonaismäärä määräytyy virtauskyvetin kuvattavien kaistojen, pyyhkäisyalueiden ja pintojen määrän mukaan sekä sen mukaan, miten kamerat kuvien keräämiseksi toimivat yhdessä.

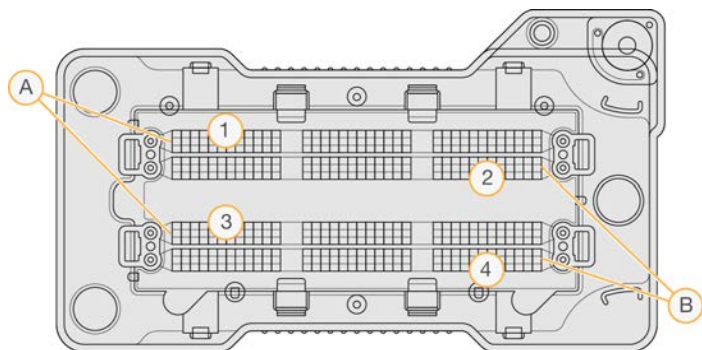
Suurtehovirtauskyveteissä on 864 ruutua.

Taulukko 2 Virtauskyvetin ruudut

Virtauskyvetin osa	Suurteho	Kuvaus
Kaistat	4	Kaista on fyysinen kanava, jossa on syöte- ja tulostusportit.
Pinnat	2	Virtauskyvetti kuvataan kahdella pinnalla, ylä- ja alapinnalla. Ensinnäkin kuvataan yläpinnan tietty ruutu ja sen jälkeen sitä vastaava alapinnan ruutu, ennen kuin siirrytään seuraavaan ruutuun.
Pyyhkäisyalueet kaistaa kohden	3	Pyyhkäisyalueet on ruutujen muodostama sarake kaistassa.
Kamerasegmentit	3	Laitte käyttää kuutta kameraa virtauskyvetin kuvaamiseen kolmena segmenttinä kutakin kaistaa kohden.
Pyyhkäisyalueen ruudut kamerasegmentissä	12	Ruutu on virtauskyvetin alue, jonka kamera näkee yhtenä kuvana.
Kuvattuja ruutuja yhteensä	864	Ruutujen kokonaismäärä = kaistat x pinnat x pyyhkäisyalueet x kamerasegmentit x pyyhkäisyalueen ruudut segmentissä.

Kaistojen numerointi

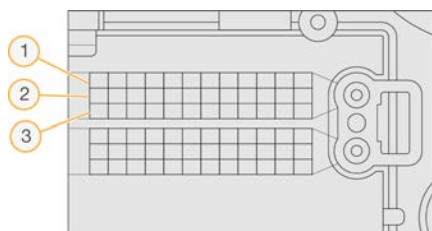
Kaistat 1 ja 3, joita kutsutaan kaistapariksi A, kuvataan yhtä aikaa. Kaistat 2 ja 4, joita kutsutaan kaistapariksi B, kuvataan sen jälkeen, kun kaistaparin A kuvaus on valmis.

Kuva 31 Kaistojen numerointi

- A Kaistapari A – kaistat 1 ja 3
- B Kaistapari B – kaistat 2 ja 4

Pyyhkäisyalueiden numerointi

Kukin ruutu kuvataan kolmena pyyhkäisyalueena. Pyyhkäisyalueet on numeroitu numeroilla 1–3 suurtehovirtauskyveteissä.

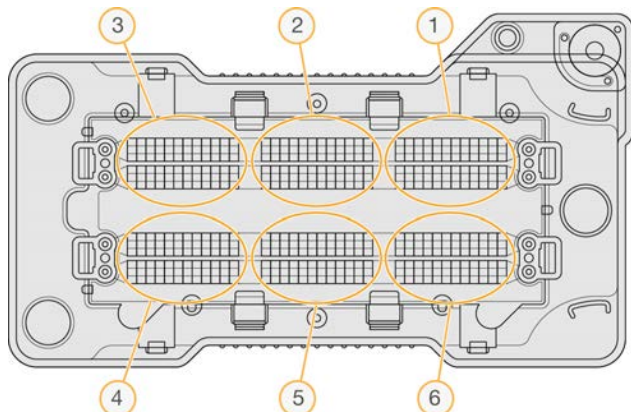
Kuva 32 Pyyhkäisyalueiden numerointi

Kameroiden numerointi

NextSeq 550Dx -laite käyttää kuutta kameraa virtauskyvetin kuvaukseen.

Kamerat on numeroitu numeroilla 1–6. Kamerat 1–3 kuvaavat kaistan 1. Kamerat 4–6 kuvaavat kaistan 3. Kun kaistat 1 ja 3 on kuvattu, kuvausmoduuli siirtyy X-akselilla kuvaamaan kaistat 2 ja 4.

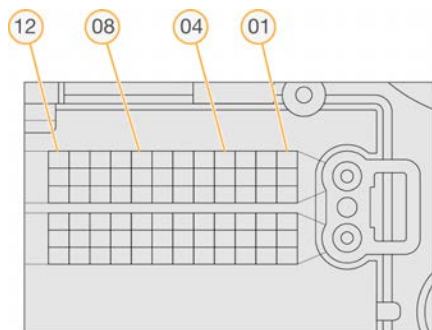
Kuva 33 Kameroiden ja segmenttien numerointi (kuvassa suurtehovirtauskyvetti)



Numerointi

Kunkin kamerasegmentin pyyhkäisyalueessa on 12 ruutua. Ruudut on numeroitu numeroilla 01–12 riippumatta pyyhkäisyalueen numerosta tai kamerasegmentistä, ja niiden numerot ovat aina kaksinumeroisia.

Kuva 34 Numerointi



Täydellisessä ruudun numerossa on viisi numeroa, jotka edustavat sijaintia seuraavasti:

- ▶ **Pinta** – 1 edustaa yläpintaa; 2 edustaa alapintaa
- ▶ **Pyyhkäisyalue** – 1, 2 tai 3
- ▶ **Kamera** – 1, 2, 3, 4, 5 tai 6
- ▶ **Ruutu** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 tai 12

Esimerkki: ruutu, jonka numero on 12508, viittaa yläpintaan, pyyhkäisyalueeseen 2, kameraan 5 ja ruutuun 8.

Täydellisiä viisinumeroisia ruutujen numeroita käytetään pikkukuvien tiedostonimissä ja empiirisissä phasing-tiedostoissa. Lisätietoja on kohdassa [Sekvensoinnin tuotostiedostot sivulla 57](#).

Tulostuskansion rakenne

Käyttöohjelmisto luo tuotuskansion nimen automaattisesti.

📁 Data (Tiedot)

📁 Intensities (Voimakkuudet)

📁 BaseCalls (Emästen tunnistaminen)

📁 L001 – kaistan 1 emästen tunnistamistiedostot, kootaan yhteen tiedostoon jaksoa kohden

📁 L002 – kaistan 2 emästen tunnistamistiedostot, kootaan yhteen tiedostoon jaksoa kohden

📁 L003 – kaistan 3 emästen tunnistamistiedostot, kootaan yhteen tiedostoon jaksoa kohden

📁 L004 – kaistan 4 emästen tunnistamistiedostot, kootaan yhteen tiedostoon jaksoa kohden

📁 L001 – kaistan 1 koottu *.locs-tiedosto

📁 L002 – kaistan 2 koottu *.locs-tiedosto

📁 L003 – kaistan 3 koottu *.locs-tiedosto

📁 L004 – kaistan 4 koottu *.locs-tiedosto

📁 Images (Kuvat)

📁 Focus (Tarkennus)

📁 L001 – kaistan 1 tarkennuskuvat

📁 L002 – kaistan 2 tarkennuskuvat

📁 L003 – kaistan 3 tarkennuskuvat

📁 L004 – kaistan 4 tarkennuskuvat

📁 InterOp – binääritiedostot.

📁 Logs (Lokit) – lokitiedostot, joissa kuvataan toiminnalliset vaiheet

📁 Recipe (Resepti) – ajokohtainen reseptitiedosto, joka on nimetty reagenssikasetin tunnuksen mukaan

📁 RTALogs (RTA-lokit) – lokitiedostot, joissa kuvataan analyysivaiheet.

📄 RTAComplete.txt

📄 RTAConfiguration.xml

📄 RunInfo.xml

📄 RunParameters.xml

Skannauksen tuotostiedostot

Tiedostotyyppi	Tiedoston kuvaus, sijainti ja nimi
GTC-tiedostot	Genotyyppitunnistuksen tiedostot. Tulee sanoista "Genotype call file". GTC-tiedosto luodaan jokaiselle BeadChipissä skannatulle näytteelle. Tiedostonimi sisältää viivakoodin ja skannatun näytteen. [viivakoodi]_[näyte].gtc
Kuvatiedostot	Kuvatiedostot nimetään skannatun BeadChipin alueen mukaan. Nimi sisältää viivakoodin, BeadChip-näytteen ja -osan, pyyhkäisyalueen ja kuvauskanavan (punainen tai vihreä). [viivakoodi]_[näyte]_[osa]_[pyyhkäisyalue]_[kamera]_[ruutu]_[kanava].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Viivakoodi – tiedostonimi alkaa BeadChipin viivakoodilla • Näyte – BeadChipin alue, joka on numeroitu riveinä (R0X) ylhäältä alas ja sarakkeina (C0X) vasemmalta oikealle • Osa – näytteen numeroitu rivi • Pyyhkäisyalue – BeadChipit kuvataan kokoelmana päällekkäisiä ruutuja. Sen vuoksi osan kuvaamiseen käytetään vain yhtä pyyhkäisyaluetta. • Kamera – kamera, jolla kuva tallennetaan • Ruutu – kameran näkökentän määrittämä kuvausalue • Kanava – kanava on joko punainen tai vihreä.

Skannauksen tuotoskansion rakenne

- 📁 [Pvm]_[Laitteen nimi]_[Skannauksen nro]_[Viivakoodi]
 - 📁 [Viivakoodi]
 - 📁 Config (Määrittäminen)
 - 📄 Effective.cfg – tallentaa skannauksen aikana käytetyt määrittämissätyt
 - 📁 Focus (Tarkennus) – sisältää skannauksen tarkentamisessa käytetyt kuvatiedostot
 - 📁 Logs (Lokit) – sisältää lokitiedostot, joihin on tallennettu ajon jokainen vaihe
 - 📁 PreScanDiagnosticFiles (Skannausta edeltävät diagnostiikkatiedostot)
 - 📁 [Pvm] Barcode Scan (Viivakoodin luku)
 - 📄 ProcessedBarcode.jpg – BeadChipin viivakoodin kuva
 - 📄 Skannauksen diagnostiikka (lokitiedostoja)
 - 📄 PreScanChecks.csv – tallentaa automaattisen tarkistuksen tulokset
 - 📄 GTC-tiedostot – genotyyppitunnistuksen tiedostot (yksi tiedosto näytettä kohden)
 - 📄 IDAT-tiedostot – [valinnainen] voimakkuustietotiedostot (kaksi tiedostoa näytettä kohden; yksi kanavaa kohden)
 - 📄 Kuvatiedostot – näytteiden, osan, pyyhkäisyalueen, kameran, ruudun ja kanavan skannauskuvat
 - 📄 [Viivakoodi]_sample_metrics.csv
 - 📄 [Viivakoodi]_section_metrics.csv
 - 📄 ScanParameters.xml

Hakemisto

A

ajoa edeltävä tarkistus 22, 29
ajoa edeltävän tarkistuksen virheet 42
ajon kesto 13-14
ajon käyttöönottoasetukset, lisäasetus 11
ajon mittaustiedot 22
ajon parametrit
 BaseSpace-tila 20
 erillistila 21
 parametrien muokkaaminen 20
ajonjälkeinen pesu 24
alukeuudelleenhybridisointi 44
analyysi
 tuotostiedostot 57
analyysi, ensisijainen
 signaalin puhtaus 54
apu, tekninen, asiakastuki 67

B

BaseSpace 49
 kirjautuminen 16
BaseSpace-määrittelyt 20
BeadChip
 analyysi 1
 lataaminen 29
 rekisteröintivirhe 46
 sovitin 5, 27
 tyypit 1
 viivakoodia ei voi lukea 46
 viivakoodin suunta 27
BlueFuse Multi -ohjelmisto 1

D

Decode File Client -apuohjelma 25
 käyttäminen BeadChipin mukaan 27
 käyttäminen tilin perusteella 26
DMAP-kansio
 Decode File Client -apuohjelma 25
 lataaminen 26
dokumentaatio 1, 67

E

edistynyt latausvaihtoehto 11
empiirinen phasing 53
emäksen tunnistaminen 53

emästen tunnistaminen
 indeksointia koskevia huomioitavia
 seikkoja 54
emästen tunnistamistiedostot 57
ennakoiva huolto 33
erillistilan määritykset 21

F

formamidi, sijainti 6 20

G

GTC-tiedostot 61

H

huolto, ennakoiva 33

I

illumina Proactive -valvontapalvelu 49
ilmansuodatin 3, 36
indeksointia koskevia huomioitavia seikkoja 54
InterOp-tiedostot 41, 57

J

jaksoja readissa 13
järjestelmäasetukset 10
järjestelmän käyttäjänimi ja salasana 9

K

kaistaparit 58
kaistojen numerointi 58
kameroiden numerointi 59
kansiosijainti 21
klusterien luonti 23
klusterin luominen 13
klusterisijainti
 mallin luonti 52
 tiedostot 57
koonpanoasetukset 48
kuvakkeet
 tila 4
 virheet ja varoitukset 4
kuvaus, kaksikanavasekvensointi 53

kuvauslokero 3
käytetyt reagenssit
 hävittäminen 17, 35
 säiliö täynnä 44
käyttäjän hankittavaksi jäävät tarvikkeet 11-12
käyttäjänimi ja salasana 9

L

laboratoriokäyttöön tarkoitettua vettä koskevat ohjeet 12
laite
 avatar 10
 kokoonpanoasetukset 48
 kutsumanimi 10
 sammuttaminen 39
 tilailmaisimet 10
 uudelleenkäynnistys 39
 virran kytkeminen 9
 virtapainike 4
laitteen hallinta
 sammuttaminen 39
laitteen huolto
 tarvikkeet 12
laitteen pesu 33
laitteen virran katkaiseminen 39

M

mallin luonti 52
mittaustiedot
 emäksen tunnistaminen 53
 klusterien tiheysjaksot 23
 voimakkuusjaksot 23
määrytykset 49

N

natriumhypokloriitti, pesu 34
näppäimistö 10

O

ohjausohjelmisto 3
ohjelmisto
 ajon kesto 13-14
 automaattinen päivitys 38
 kokoonpanoasetukset 48
 kuva-analyysi, emästen tunnistaminen 3
 käynnistys 9

laitteessa 3
 manuaalinen päivitys 38
ohjelmiston päivittäminen 37
osat
 kuvauslokero 3
 puskurilokero 3
 reagenssilokero 3
 tilapalkki 3

P

pesu
 automaattinen 24
 käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet 33
 manuaalinen pesu 33
 pesun osat 33
phasing, prephasing 53
Phred-algoritmi 54
puhtaussuodatin 54
puskurikasetti 8, 19
puskurilokero 3
pyyhkäisyalueiden numerointi 58

Q

Q-pisteet 54

R

RAID-virhesanoma 48
readin jaksojen määrä 13
readin pituus 13-14
reagenssikasetti
 säiliö 6 20
 säiliö nro 28 34
 yleiskatsaus 7
reagenssilokero 3
reagenssit
 oikea hävitystapa 19
reagenssit
 sarjat 5
Real-Time Analysis -ohjelmisto 3
 phasing 53
 tulokset 57
 työnkulku 52
RFID-seuranta 5
RunInfo.xml 41, 57
ruutujen numerointi 59

S

- sekvensoinnin työnkulku 14, 52
- sekvensointi
 - johdanto 13
 - käyttäjän hankittavaksi jäävät tarvikkeet 11
- sijaintitiedostot 57
- skannauksen tuotostiedostot
 - GTC, IDAT 61
- sovitin
 - BeadChipin lataaminen 29
 - BeadChipin suunta 27
 - yleiskatsaus 5
- suodatintiedostot 57
- suodattimen läpäisevät 54
- suodattimen läpäisevät klusterit 54
- syötetiedostot, skannaus
 - DMAP-kansio 25
 - DMAP-kansio, lataus 26
 - klusteritiedostot 25, 47
 - manifestitiedostot 25, 47

T

- tarvikkeet 5
 - laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi 12
 - laitteen huolto 12
 - pesutarvikkeet 33-34
 - puskurikasetti 8
 - reagenssikasetti 7
 - sekvensointiajot 11
 - virtauskyvetti 6
- tarvikkeiden tyhjentäminen 11
- tekninen tuki 67
- tiedonsiirto
 - tietojen skannaus 31
 - universal copy service 23
- tilailmoitukset 4
- tilapalkki 3
- tuki
 - dokumentaatio 1
- tuotostiedostot 57
- tuotostiedostot, sekvensointi 57
- tuotostiedostot, skannaus
 - GTC, IDAT 61
- tutkimustila 10
- työnkulku
 - ajoa edeltävä tarkistus 22, 29
 - ajon kesto 13-14
 - ajon mittaustiedot 22

- BaseSpace-kirjautuminen 16
- BaseSpace-tila 20
- BeadChip 29
- edistynyt latausvaihtoehto 11
- erillistila 21
- indeksointia koskevia huomioitavia seikkoja 54
- käytetyt reagenssit 17
- natriumhypokloriitti 34
- puskurikasetti 19
- reagenssikasetti 19
- sekvensointi 52
- virtauskyvetin valmistelu 15
- virtauskyvetti 16
- yleiskatsaus 14, 26

U

- Universal Copy Service 23
- uudelleenhybridisointi, read 1 44
- uudelleenkäynnistys 39
 - laite 39
- uudelleenkäynnistys tutkimustilaan 10

V

- verkkokoulutus 1
- vianmääritys
 - ajoa edeltävä tarkistus 42
 - ajokohtaiset tiedostot 41
 - alhaisen laadun mittaustulokset 44
 - ei voi lukea BeadChipin viivakoodia 46
 - korvaa manifesti- ja klusteritiedostot 47
 - käytettyjen reagenssien säiliö 44
 - skannauksen rekisteröintivirhe 46
 - skannauskohtaiset tiedostot 42
- virheet ja varoitukset 4, 52
- virhetodennäköisyys 54
- virtakytkin 9
- virtapainike 4, 9
- virtauskyvetti
 - kaistaparit 6
 - kaistojen numerointi 58
 - kohdistusnastat 16
 - kuvaus 59
 - pakkaus 15
 - puhdistaminen 15
 - pyyhkäisyalueen numero 58
 - ruudut 57
 - ruutujen numerointi 59
 - uudelleenhybridisointi 44

yleiskatsaus 6
voimakkuudet 53

W

Windows
siirtyminen 39

Y

yhteensopivuus
RFID-seuranta 5, 7
virtauskyvetti, reagenssikasetti 5

Ä

äänet 10

Tekninen tuki

Teknisissä kysymyksissä voit ottaa yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.

Verkkosivusto: www.illumina.com
Sähköposti: techsupport@illumina.com

Illuminan asiakastuen puhelinnumerot

Alue	Ilmainen	Alueellinen
Pohjois-Amerikka	+1 800 809 4566	
Alankomaat	+31 8000222493	+31 207132960
Australia	+1 800 775 688	
Belgia	+32 80077160	+32 34002973
Espanja	+34 911899417	+34 800300143
Etelä-Korea	+82 80 234 5300	
Hong Kong, Kiina	800960230	
Irlanti	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Itävalta	+43 800006249	+43 19286540
Japani	0800 111 5011	
Kiina	400 066 5835	
Norja	+47 800 16836	+47 21939693
Ranska	+33 805102193	+33 170770446
Ruotsi	+46 850619671	+46 200883979
Saksa	+49 8001014940	+49 8938035677
Singapore	+1 800 579 2745	
Suomi	+358 800918363	+358 974790110
Sveitsi	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, Kiina	00806651752	
Tanska	+45 80820183	+45 89871156
Uusi-Seelanti	0800 451 650	
Yhdistynyt kuningaskunta	+44 8000126019	+44 2073057197
Muut maat	+44 1799 534000	

Käyttöturvallisuustiedotteet (KTT) – saatavilla Illuminan verkkosivustolta osoitteesta support.illumina.com/sds.html.

Tuotedokumentaatio – ladattavissa osoitteesta support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1 800 809.ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (Pohjois-Amerikan ulkopuolella)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Vain tutkimuskäyttöön. Ei diagnostisiin toimenpiteisiin.

© 2021 Illumina, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

illumina[®]