

NextSeq 550Dx i forskningsläge

Referensguide för instrument



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

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

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

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

© 2021 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

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

Revisionshistorik

| Dokument | Datum | Ändringsbeskrivning |
|----------------------------------|------------------|--|
| Dokumentnr 1000000041922 v03 | Oktober 2021 | En anmärkning om sjukdagartimern har lagts till i Kontroller för sekvenseringskörningar. Arbetsflödet för sekvensering har uppdaterats med ett avsnitt om att skapa en körning med hjälp av Local Run Manager. Stabilitetsgränsen har ändrats. Infinium Methylation EPIC har lagts till som en BeachChip-typ. Ikonbilder har uppdaterats i enlighet med ändringar av användargränssnittet. |
| Dokumentnr 1000000041922 v02 | November 2020 | Bilden i avsnittet Utföra en manuell tvätt har uppdaterats för att motsvara nya reagenstvättkassetter och bufferttvättkassetter. Informationen om statusfältet har uppdaterats med ytterligare färger. |
| Dokumentnr 1000000041922 v01 | Mars 2018 | Information om Illumina Proactive-övervakningstjänsten har lagts till i avsnittet Konfigurera systeminställningar. |
| Dokumentnr# 1000000041922 v00 | November 2017 | Första utgåvan. |

Innehållsförteckning

| | |
|--|----|
| Kapitel 1 Översikt | 1 |
| Om den här guiden | 1 |
| Inledning | 1 |
| Ytterligare resurser | 2 |
| Instrumentets delar | 3 |
| Översikt över reagenssatsen | 6 |
| Översikt över förbrukningsmaterial för sekvensering | 6 |
| | |
| Kapitel 2 Komma igång | 11 |
| Starta instrumentet | 11 |
| Anpassa systeminställningar | 12 |
| Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren | 13 |
| | |
| Kapitel 3 Sekvensering | 15 |
| Inledning | 15 |
| Arbetsflöde för sekvensering | 16 |
| Förbereda reagenskassetten | 16 |
| Förbereda flödescellen | 17 |
| Förbereda bibliotek för sekvensering | 17 |
| Ställa in en sekvenseringskörning | 18 |
| Övervaka körningsförloppet | 25 |
| Automatisk tvätt efter körning | 26 |
| | |
| Kapitel 4 Skanning | 27 |
| Inledning | 27 |
| Arbetsflöde vid skanning | 28 |
| Ladda ned DMAP-mappen | 28 |
| Ladda BeadChip på adaptorn | 29 |
| Konfigurera en skanning | 30 |
| Övervaka skanningsförloppet | 32 |
| | |
| Kapitel 5 Underhåll | 35 |
| Inledning | 35 |
| Utföra en manuell tvätt | 35 |
| Byta ut luftfiltret | 38 |
| Programuppdateringar | 39 |
| Alternativ för omstart och avstängning | 41 |
| | |
| Bilaga A Felsökning | 43 |
| Inledning | 43 |
| Felsökningsfiler | 43 |
| Åtgärda fel vid en automatisk kontroll | 44 |
| Behållaren för förbrukade reagenser är full | 46 |

| | |
|---|----|
| Arbetsflöde vid rehybridisering | 46 |
| BeadChip och skanningsfel | 48 |
| Anpassade recept och receptmappar | 50 |
| RAID-felmeddelande | 50 |
| Konfigurera systeminställningar | 50 |
| | |
| Bilaga B Realtidsanalys | 55 |
| Översikt över realtidsanalys | 55 |
| Arbetsflöde för realtidsanalys | 56 |
| | |
| Bilaga C Utdatafiler och -mappar | 59 |
| Utdatafiler från sekvensering | 59 |
| Mappstruktur för utdata | 61 |
| Skanna utdatafiler | 62 |
| Skanna mappstruktur för utdata | 63 |
| | |
| Index | 65 |
| | |
| Teknisk hjälp | 69 |

Kapitel 1 Översikt

| | |
|---|---|
| Om den här guiden | 1 |
| Inledning | 1 |
| Ytterligare resurser | 2 |
| Instrumentets delar | 3 |
| Översikt över reagenssatsen | 6 |
| Översikt över förbrukningsmaterial för sekvensering | 6 |

Om den här guiden

I den här referensguiden finns anvisningar om hur NextSeq 550Dx-instrumentet används i forskningsläge (RUO-läge).

Inledning

Sekvenseringsfunktioner

- ▶ **Sekvensering med hög genomströmning** – NextSeq™ 550Dx-instrumentet möjliggör sekvensering av DNA-bibliotek.
- ▶ **Realtidsanalys (Real-Time Analysis, RTA)** – Utför bildbearbetning och basbestämning. Mer information finns i avsnittet *Realtidsanalys på sidan 55*.
- ▶ **Dataanalytiskapacitet i instrumentet** – Programanalysmoduler i analysprogrammet som har angetts för körningen kan analysera körningsdata.
- ▶ **Dubbel start** – NextSeq 550Dx-instrumentet innehåller separata hårddiskar som stöder lägen för diagnos (Dx) och forskning (RUO).

Matrisskanningsfunktioner

- ▶ **Integrerad matrisskanning i kontrollprogrammet** – NextSeq 550Dx-instrumentet tillåter att du växlar mellan matrisskanning och sekvensering med hög genomströmning på samma instrument med hjälp av samma kontrollprogram.
- ▶ **Utökad avbildningskapacitet** – Avbildningssystemet i NextSeq 550Dx-instrumentet innefattar program- och stegändringar som möjliggör avbildning av ett större område för BeadChip-skanning.
- ▶ **BeadChip-typer** – Kompatibla BeadChip-typer innefattar CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC och Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip-adapter** – En återanvändbar BeadChip-adapter möjliggör enkel laddning av ett BeadChip i instrumentet.
- ▶ **Dataanalys** – Använd BlueFuse® Multi-programmet för att analysera matrisdata.

Ytterligare resurser

Följande dokument kan hämtas på Illuminas webbplats.

| Resurs | Beskrivning |
|---|---|
| <i>Förberedelseguide för NextSeq 550Dx-instrumentets plats (dokumentnr 100000009869)</i> | Specifikationer för laboratorietrymmet, elektriska krav och miljöfaktorer att ta hänsyn till. |
| <i>Säkerhets- och efterlevnadsguide för NextSeq 550Dx-instrument (dokumentnr 100000009868)</i> | Information om driftsäkerhet, efterlevnad och instrumentmärkning. |
| <i>RFID Reader Compliance Guide (Efterlevnadsguide för RFID-läsare) (dokumentnr 100000030332)</i> | Information om RFID-läsaren i instrumentet, efterlevnads-certifieringar och säkerhetsåtgärder. |
| <i>Referensguide för NextSeq 550Dx-instrument i forskningsläge (dokumentnr 100000041922)</i> | Innehåller instrumentets användningsanvisningar och felsökningsprocedurer. Använd den här guiden när NextSeq 550Dx-instrumentet används i forskningsläge med NextSeq-kontrollprogram (NCS) v3.0. |
| <i>NextSeq 550 System Guide (Systemguide för NextSeq 550) (dokumentnr 15069765)</i> | Innehåller instrumentets användningsanvisningar och felsökningsprocedurer. Använd den här guiden när NextSeq 550Dx-instrumentet används i forskningsläge med NextSeq-kontrollprogram (NCS) v4.0 eller senare. |
| <i>NextSeq 550 System Guide (Systemguide för NextSeq 550)</i> | Ger en översikt över instrumentkomponenter, anvisningar för användning av instrumentet samt underhålls- och felsökningsprocedurer. |
| <i>Hjälp med BaseSpace</i> | Information om hur du använder BaseSpace™-sekvenseringshubb och tillgängliga analysalternativ. |

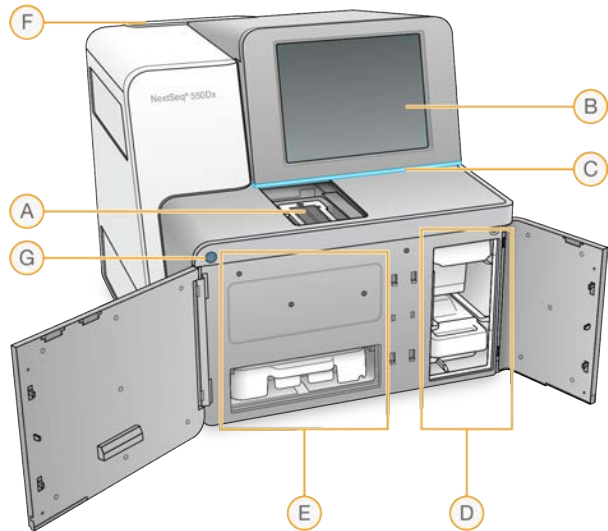
Besök [supportsidan för NextSeq 550Dx-instrumentet](#) på Illuminas webbplats för att få tillgång till dokumentation, programnedladdningar, onlineutbildning och vanliga frågor och svar.

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

Instrumentets delar

NextSeq 550Dx-instrument har en pekskärm, ett statusfält och fyra fack.

Bild 1 Instrumentets delar



- A **Avbildningsfack** – Här placeras flödescellen under en sekvenseringskörning.
- B **Pekskärm** – Gör det möjligt att konfigurera och ställa in instrumentet med operativsystemets gränssnitt.
- C **Statusfält** – Indikerar instrumentets status som bearbetar (blå), kräver uppmärksamhet (orange), redo för sekvensering (grön), initieras (växelvís blå och vit), ännu inte initierad (vit) eller kräver tvätt inom de närmaste 24 timmarna (gul).
- D **Buffertfack** – Innehåller buffertkassetten och behållaren för förbrukade reagenser.
- E **Reagensfack** – Innehåller reagenskassetten.
- F **Luftfilterfack** – Innehåller luftfiltret. Du har åtkomst till filtret på instrumentets baksida.
- G **Strömbrytare** – Slår på och stänger av instrumentet och instrumentdatorn.

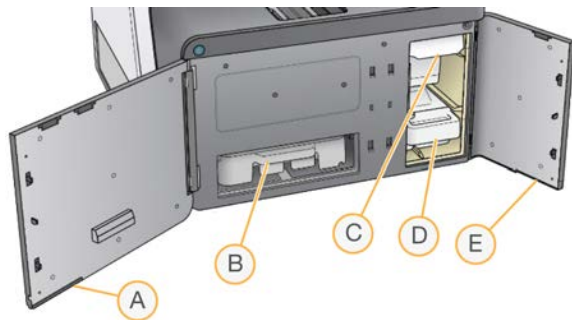
Avbildningsfack

I avbildningsfacket finns plattformen, som har tre inpassningsstift för positionering av flödescellen. Efter det att flödescellen har laddats stängs avbildningsfackets lucka automatiskt och komponenterna flyttas på plats.

Reagens- och buffertfack

Att konfigurera en sekvenseringskörning på NextSeq 550Dx-instrumentet kräver åtkomst till reagensfacket och buffertfacket för att ladda förbrukningsmaterial för körningen och tömma behållare för förbrukade reagenser.

Bild 2 Reagens- och buffertfack



- A **Reagensfackets lucka** – Stänger reagensfacket med en hake under dörrens nedre högra hörn. Reagensfacket innehåller reagenskassetten.
- B **Reagenskassetten** – Reagenskassetten är en förfylld engångsprodukt.
- C **Buffertkassetten** – Buffertkassetten är en förfylld engångsprodukt.
- D **Behållaren för förbrukade reagenser** – Förbrukade reagenser samlas in för kassering efter varje körning.
- E **Buffertfackets lucka** – Stänger buffertfacket med en hake under dörrens nedre vänstra hörn.

Luftfilterfacket

Luftfilterfacket sitter på instrumentets baksida och innehåller luftfiltret. Byt ut luftfiltret var 90:e dag. Information om hur du byter ut filtret finns i [Byta ut luftfiltret på sidan 38](#).





NextSeq 550Dx-programmet


Instrumentprogrammet innehåller integrerade applikationer som utför sekvenskörningar.

- ▶ **NextSeq Control Software (NCS)** – Kontrollprogrammet guidar dig genom stegen att konfigurera en sekvenseringskörning.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** – RTA utför bildanalyser och basbestämning under körningen. NextSeq 550Dx-instrumentet använder RTA v2, vilket innefattar viktiga arkitektur- och funktionskillnader från tidigare versioner. Mer information finns i avsnittet [Realtidsanalys på sidan 55](#).

Statusikoner

En statusikon i det övre högra hörnet av NCS visar statusändringar under körningskonfigurationen eller under körningen.

| Statusikon | Statusnamn | Beskrivning |
|---|------------------------|---|
|  | Status OK | Systemet är normalt. |
|  | Processing (Bearbetar) | Systemet bearbetar. |
|  | Warning (Varning) | En varning har utlöst. Varningar stoppar inte en körning eller behöver åtgärdas innan körningen kan återupptas. |
|  | Error (Fel) | Ett fel har inträffat. Fel måste åtgärdas innan körningen kan återupptas. |

| Statusikon | Statusnamn | Beskrivning |
|---|-----------------------------------|--|
|  | Service Needed (Service krävs) | Ett händelse som måste åtgärdas har inträffat. Se meddelandet för mer information. |

Ikonen blinkar när en status ändras. Välj ikonen för att se en beskrivning av tillståndet. Välj **Acknowledge** (Bekräfta) för att bekräfta meddelandet och **Close** (Stäng) för att stänga dialogrutan.

OBS!

Ikonen återställs när du bekräftar meddelandet och meddelandet tonas ned. Användaren kan fortfarande visa meddelandet genom att välja ikonen, men det försvinner när NCS startas om.

Strömbrytare

Strömbrytaren på framsidan av NextSeq 550Dx slår på strömmen till instrumentet och instrumentdatorn. Strömbrytaren utför nedanstående åtgärder beroende på instrumentets strömläge. Som standard startar NextSeq 550Dx i diagnosläge.

Information om hur du startar instrumentet för första gången finns i [Starta instrumentet på sidan 11](#).

Information om hur du stänger av instrumentet finns i [Stänga av instrumentet på sidan 41](#).

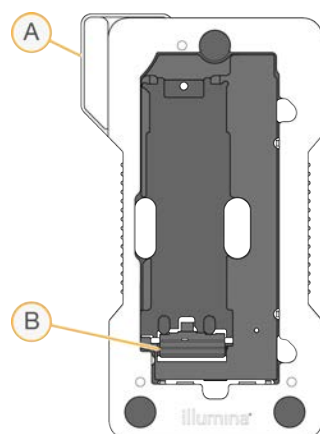
| Strömläge | Åtgärd |
|--------------------------|---|
| Instrumentet är avstängt | Tryck på knappen för att slå på strömmen. |
| Instrumentet är på | Tryck på knappen för att stänga av strömmen. En dialogruta visas på skärmen för att bekräfta att instrumentet stängs av. |
| Instrumentet är på | Håll strömbrytaren intryckt i 10 sekunder för att tillämpa en hård avstängning av instrumentet och instrumentdatorn. Använd endast den här metoden för att stänga av instrumentet om instrumentet inte svarar. |

OBS! Om du stänger av instrumentet under en sekvenseringskörning avslutas körningen omedelbart. Att avsluta en körning är en definitiv handling. Körningens förbrukningsmaterial kan inte återanvändas och sekvenseringsdata från körningen sparas inte.

Översikt över den återanvändbara BeadChip-adaptorn

Den återanvändbara BeadChip-adaptorn håller BeadChip på plats när skanningar utförs. BeadChip hålls fast i adaptorns försänkta fack med hjälp av en klämma. Därefter placeras BeadChip-adaptorn på plattformen i avbildningsfacket.

Bild 3 Återanvändbar BeadChip-adapter



- A BeadChip-adapter
- B Klämma

Översikt över reagenssatsen

Översikt över förbrukningsmaterial för sekvensering

Det förbrukningsmaterial för sekvensering som krävs för att köra NextSeq 550Dx tillhandahålls separat i en sats för engångsbruk. Varje sats innehåller en flödescell, en reagenskasset, en buffertkasset och biblioteksspädningsbuffert. Mer information finns i bipacksedlarna för *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cycles)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles)* eller *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)*.

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

FÖRSIKTIGHET!

NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 kit kräver NOS 1.3 eller senare för att instrumentet ska acceptera v2.5 av flödescellskassetten. Slutför programuppdateringar innan du förbereder prover och förbrukningsmaterial för att undvika att reagenser och/eller prover går till spillo.

OBS!

Förvara förbrukningsmaterialet för sekvensering i sina förpackningar tills de ska användas.

Märkning av satskompatibilitet

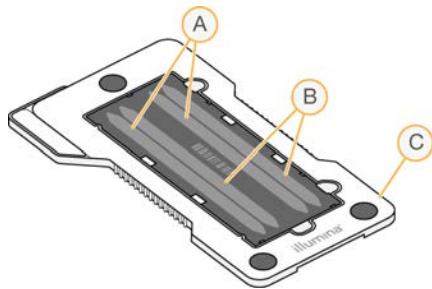
Satskomponenter är märkta med färgkodade indikatorer för att visa kompatibiliteten mellan flödesceller och reagenskassetter. Använd alltid en kompatibel reagenskasset och flödescell. Buffertkassetten är universell.

Varje flödescell och reagenskasset är märkt som **High** (Hög) eller **Mid** (Medelhög). Kontrollera alltid märkningen när du förbereder förbrukningsmaterial för en körning.

| Satstyp | Märkning |
|-------------------------------------|---|
| Satskomponenter med hög effekt |  |
| Satskomponenter med medelhög effekt |  |

Översikt över flödescellen

Bild 4 Flödescellskasset



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

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

Flödescellen har fyra spår som avbildas parvis.

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

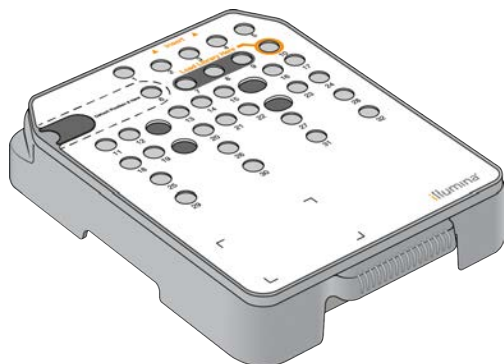
Trots att flödescellen har fyra spår sekvenseras endast ett bibliotek eller en uppsättning poolade bibliotek på flödescellen. Bibliotek laddas på reagenskassetten från en behållare och överförs automatiskt till flödescellen och alla fyra spår.

Varje spår avbildas i små avbildningsområden som kallas för plattor. Mer information finns i [Flödescellsplattor](#) på sidan 59.

Översikt över reagenskassetten

Reagenskassetten är förbrukningsmaterial för engångsbruk med RFID-spårning och folieförseglade behållare som är förfyllda med reagenser för klustring och sekvensering.

Bild 5 Reagenskassetten



Reagenskassetten innehåller en specifik behållare för laddning av förberedda bibliotek. När körningen startar överförs bibliotek automatiskt från behållaren till flödescellen.

Flera behållare är reserverade för den automatiska tvätten efter körningen. Tvättlösningen pumpas genom systemet från buffertkassetten till de reserverade behållarna och sedan till behållaren för förbrukade reagenser.

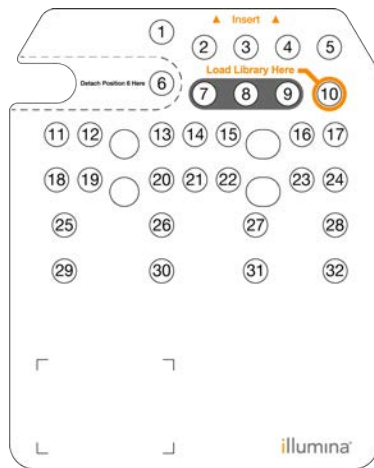


WARNING!

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

Reserverade behållare

Bild 6 Numrerade behållare



| Position | Beskrivning |
|------------|---|
| 7, 8 och 9 | Reserverade för valfria anpassade primrar |
| 10 | För laddning av bibliotek |

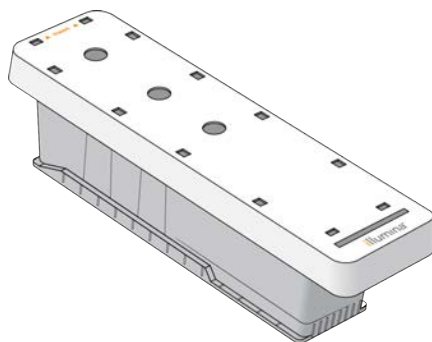
Den löstagbara behållaren i position 6

Den förfyllda reagenskassetten har ett denatureringsreagens i position 6 som innehåller formamid. Behållaren i position 6 är löstagbar för att underlätta säker kassering av oanvända reagenser efter sekvenseringskörningen. Mer information finns i [Ta bort en använd behållare från position 6](#) på sidan 22.

Översikt över buffertkassetten

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

Bild 7 Buffertkassett



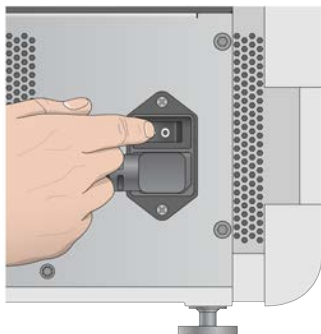
Kapitel 2 Komma igång

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

Starta instrumentet

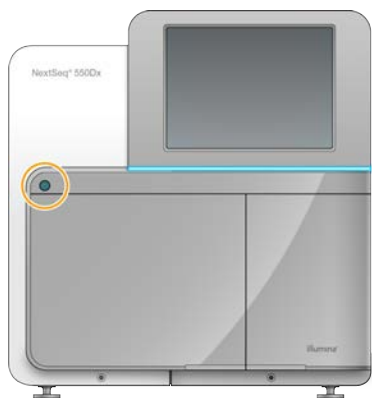
Slå på strömbrytaren till läget I (på).

Bild 8 Strömbrytaren på instrumentets baksida



- 1 Tryck på strömbrytaren ovanför reagensfacket. Strömbrytaren slår på strömmen till instrumentet och startar den integrerade instrumentdatorn och programvaran.

Bild 9 Strömbrytaren på instrumentets framsida



- 2 Vänta tills operativsystemet har laddats klart. NextSeq Control Software (NCS) startar och initierar systemet automatiskt. Startskärmen öppnas när initieringssteget har slutförts.
- 3 Ange ditt användarnamn och lösenord för Local Run Manager. Information om lösenord finns i *Användarlösenord på sidan 1*. Information om hur du skapar ett konto i Local Run Manager finns i *Inställningar och åtgärder för administratörer på sidan 1*.
- 4 Välj **Login** (Logga in). Startskärmen öppnas med ikonerna Sequence (Sekvensera), Local Run Manager, Manage Instrument (Hantera instrument) och Perform Wash (Utför tvätt).

Instrumentets lägesindikatorer

Standardläget för NextSeq 550Dx är diagnosläget. Följande indikerar instrumentets läge på NCS-skärmen.

| Läge | Startskärm | Färgfält | Statusikonriktning |
|----------------|--|----------|--------------------|
| Diagnosläge | Welcome to NextSeqDx (Välkommen till NextSeqDx) | Blå | Horisontell |
| Forskningsläge | Welcome to NextSeq (Välkommen till NextSeq) | Orange | Vertikal |

Anpassa systeminställningar

Systemprogramvaran innehåller anpassningsbara systeminställningar för instrumentidentifiering, indatalternativ, ljudinställningar och utdatamappens plats. Information om hur du ändrar nätverkskonfigurationsinställningarna finns i *Konfigurera systeminställningar* på sidan 50.

Anpassningsalternativ:

- ▶ Anpassa instrumentidentifiering (avatar och smeknamn)
- ▶ Konfigurera indatalternativ och ljud
- ▶ Ange alternativ för konfiguration av körningar
- ▶ Avstängningsalternativ
- ▶ Konfigurera instrumentstart efter kontroll före körning
- ▶ Alternativet att skicka instrumentets prestandadata till Illumina
- ▶ Ange en utdatamapp för körningar

Anpassa instrumentets avatar och smeknamn

- 1 Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument) på startskärmen.
- 2 Välj **System Customization** (Systemanpassning).
- 3 Välj en bild för instrumentet genom att välja **Browse** (Bläddra) och gå till bilden.
- 4 Ange ett önskat namn för instrumentet i fältet Nick Name (Smeknamn).
- 5 Välj **Save** (Spara) för att spara inställningarna och uppdatera skärmen. Bilden och namnet visas i det övre vänstra hörnet på varje skärm.

Ange tangentbordsalternativ och ljud

- 1 Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument) på startskärmen.
- 2 Välj **System Customization** (Systemanpassning).
- 3 Välj kryssrutan **Use on-screen keyboard** (Använd skärmtangentbordet) för att aktivera skärmtangentbordet för inmatning till instrumentet.
- 4 Välj kryssrutan **Play audio** (Spela upp ljud) för att aktivera ljud för nedanstående händelser.
 - ▶ När systemet startas
 - ▶ När en körning startas
 - ▶ När specifika fel inträffar
 - ▶ När en användaråtgärd krävs
 - ▶ När en körning har slutförts
- 5 Välj **Save** (Spara) för att spara inställningarna och uppdatera skärmen.

Ange alternativ för konfiguration av körningar

- 1 Välj **System Customization** (Systemanpassning) på skärmen Manage Instrument (Hantera instrument).
- 2 Markera kryssrutan **Use Advanced Load Consumables** (Använd avancerad laddning av förbrukningsmaterial) för att aktivera alternativet att ladda allt förbrukningsmaterial för körningen från en och samma skärm.
- 3 Markera kryssrutan **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Hoppa över bekräftelse av kontroll före körning) för att automatiskt starta sekvenseringen efter en lyckad automatisk kontroll.
- 4 Välj **Save** (Spara) för att spara inställningarna och lämna skärmen.

Ställ in alternativ för automatiskt tömning

- 1 Välj **System Customization** (Systemanpassning) på skärmen Manage Instrument (Hantera instrument).
- 2 Markera kryssrutan **Purge Consumables at End of Run** (Töm förbrukningsmaterial i slutet av körningen) för att automatiskt tömma oanvända reagens från reagenskassetten i behållaren för använda reagens efter varje körning.

OBS! Automatisk tömning av förbrukningsmaterial förlänger arbetsflödet.

- 3 Välj **Save** (Spara) för att spara inställningarna och lämna skärmen.

Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren

Nedanstående förbrukningsmaterial och utrustning används med NextSeq 550Dx-instrumentet. Följande förbrukningsmaterial och utrustning används för förberedelse av förbrukningsmaterial, sekvensering och instrumentunderhåll. Mer information finns i *NextSeq 550 System Guide* (Systemguide för NextSeq 550).

Förbrukningsmaterial för sekvensering

| Förbrukningsmaterial | Tillverkare | Användningsområde |
|---|--|--|
| Alkoholservetter, 70 % isopropyl eller etanol, 70 % | VWR, katalognr 95041-714 (eller motsvarande) Valfri leverantör av laborieutrustning | Rengöring av flödescell samt allmänna ändamål. |
| Servett för laboriebruk, luddfri | VWR, katalognr 21905-026 (eller motsvarande) | Rengöring av flödescell samt allmänna ändamål. |

Förbrukningsmaterial för underhåll och felsökning

| Förbrukningsmaterial | Tillverkare | Användningsområde |
|--------------------------------|---|--|
| NaOCl, 5 % (natriumhypoklorit) | Sigma-Aldrich, katalognr 239305 (eller likvärdig produkt av laborie kvaliteten) | Rengöring av instrumentet med hjälp av manuell tvätt efter en körning, spädd till 0,12%. |
| Tween 20 | Sigma-Aldrich, katalognr P7949 | Rengöring av instrumentet med hjälp av alternativ för manuell tvätt, spädd till 0,05 %. |

| Förbrukningsmaterial | Tillverkare | Användningsområde |
|-------------------------------|--|--|
| Vatten av laboratoriekvalitet | Valfri leverantör av laboratorieutrustning | Tvätt av instrument (manuell tvätt). |
| Luftfilter | Illumina, katalognr 20022240 | Rengöring av luften som instrumentet tar in för kylning. |

Riktlinjer för vatten av laboratoriekvalitet

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

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

Utrustning

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

Kapitel 3 Sekvensering

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

Inledning

För att utföra en sekvenseringskörning på NextSeq 550Dx-instrumentet ska du förbereda en reagenskassetten och en flödescell, och därefter följa programvarans uppmaningar för att konfigurera och starta körningen. Klustergenerering och sekvensering utförs på instrumentet. Efter körningen startar en instrumenttvätt automatiskt med komponenter som redan är laddade på instrumentet.

Klustergenerering

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

Sekvensering

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

Analys

Allteftersom körningen fortskrider överför systemprogramvaran automatiskt basbestämningsfiler (BCL) till den angivna utdataplatsen för sekundär analys.

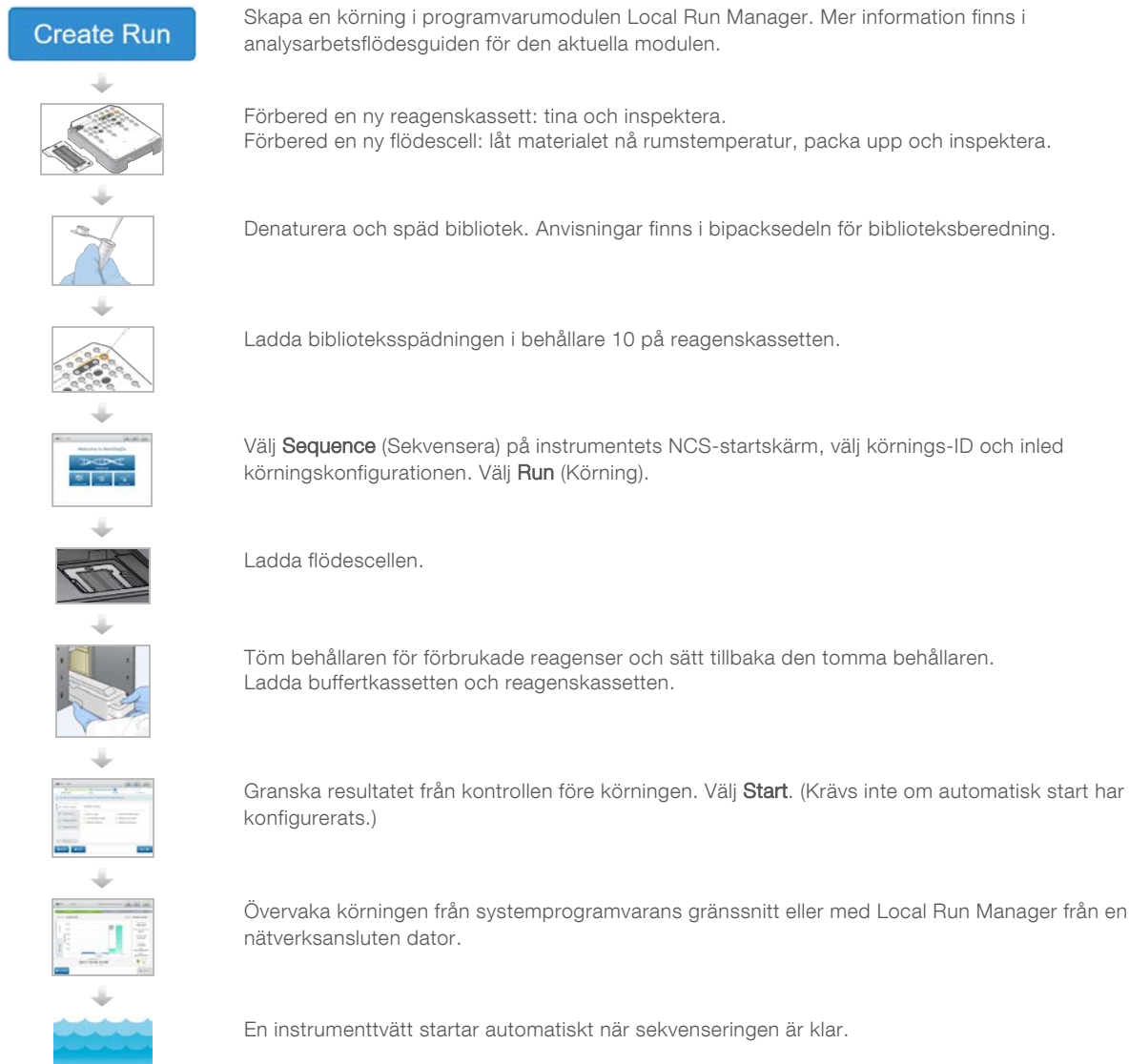
En sekvenseringskörnings varaktighet

En sekvenseringskörnings varaktighet beror på antalet cykler som utförs. Den maximala körningslängden är en paired-end-körning med 150 cykler varje avläsning (2 x 150), plus upp till 8 cykler var för 2 indexavläsningar.

Antal cykler i en avläsning

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

Arbetsflöde för sekvensering



Förbereda reagenskassetten

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

- 1 Hämta reagenskassetten från platsen där den har förvarats i -25 °C till -15 °C .
- 2 Välj en av metoderna nedan för att tina upp reagenserna. Sänk inte ned hela kassetten i någon vätska. När kassetten har tinat ska den torkas torr före nästa steg.

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

OBS! Om fler än en kassetten tinas upp i samma vattenbad ska tiden för upptining förlängas.

- 3 Blanda reagenserna genom att vända på kassetten fem gånger.
- 4 Kontrollera kassetten botten för att säkerställa att reagenserna är tinade och fria från fällningar. Kontrollera att positionerna 29, 30, 31 och 32 är tinade eftersom de är störst och tar längst tid att tina.
- 5 Knacka försiktigt kassetten i bänken för att minska mängden luftbubblor. Gå direkt vidare till att ladda provet och förbereda körningen för bästa resultat.



WARNING!

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

Förbereda flödescellen

- 1 Hämta en ny flödescellsförpackning från platsen där den har förvarats i 2 °C till 8 °C.
- 2 Ta bort foliepaketet från lådan och lägg åt sidan i rumstemperatur i 30 minuter.

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

Förbereda bibliotek för sekvensering

Denaturera och späd biblioteken till en laddningsvolym på 1,3 ml. I praktiken kan laddningskoncentrationen variera beroende på vilka metoder för beredning av bibliotek och kvantifiering som används. Spädningen av provbibliotek beror på oligonukleotidpoolernas komplexitet. Anvisningar för beredning av provbibliotek för sekvensering, inklusive spädning och poolning av bibliotek, finns i bruksanvisningens avsnitt om den aktuella biblioteksprepareringsatsen. Optimering av klustertäthet i NextSeq 550Dx krävs.

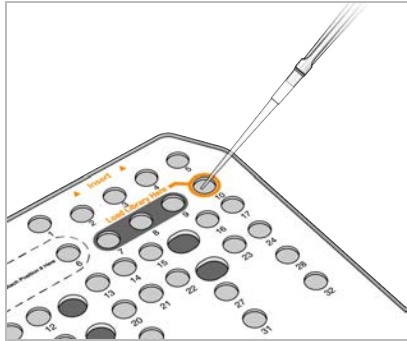
Denaturera och späda ut bibliotek

Denaturera och späd ut biblioteken till en laddningsvolym på 1,3 ml och en laddningskoncentration på 1,8 pM. I praktiken kan laddningskoncentrationen variera beroende på vilka metoder för beredning av bibliotek och kvantifiering som används. Anvisningar finns i bipacksedeln för biblioteksberedning.

Ladda bibliotek på reagenskassetten

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

Bild 10 Ladda bibliotek



Ställa in en sekvenseringskörning

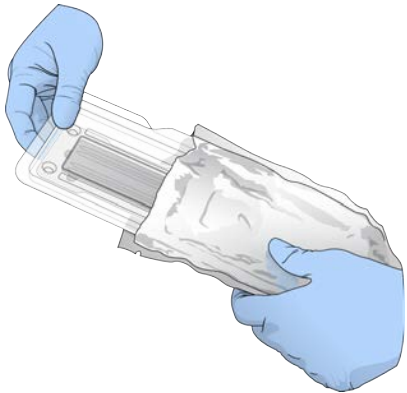
Logga in i BaseSpace

- 1 Ange ditt användarnamn och lösenord för BaseSpace.
- 2 Välj **Next** (Nästa).

Ladda flödescellen

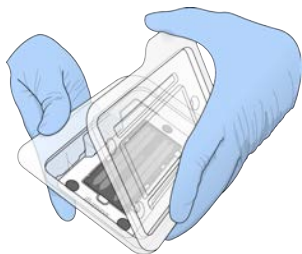
- 1 Ta ut den använda flödescellen från en tidigare körning.
- 2 Ta ut flödescellen ur folieförpackningen.

Bild 11 Avlägsna från folieförpackningen



- 3 Öppna det genomskinliga fodralet i plast och ta ut flödescellen.

Bild 12 Avlägsna från fodralet

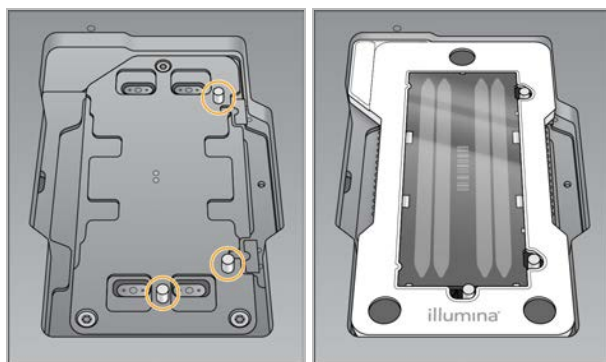


- 4 Rengör flödescellens glasyta med en luddfri alkoholservett. Torka glaset med en luddfri servett för laboratoriebruk.

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

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

Bild 13 Ladda flödescellen



- 6 Välj **Load** (Ladda).
Luckan stängs automatiskt, flödescellens ID visas på skärmen och sensorerna kontrolleras.

OBS! Håll händerna borta från flödescellsluckan medan den stängs för att undvika klämskador.

- 7 Välj **Next** (Nästa).

Tömma behållaren för förbrukade reagenser

- 1 Öppna luckan till buffertfacket med haken under dörrens nedre vänstra hörn.
- 2 Ta bort behållaren för förbrukade reagenser och kassera innehållet i enlighet med tillämpliga standarder.

Bild 14 Ta bort behållaren för förbrukade reagenser



OBS! När du tar bort behållaren ska du placera din andra hand under behållaren som stöd.



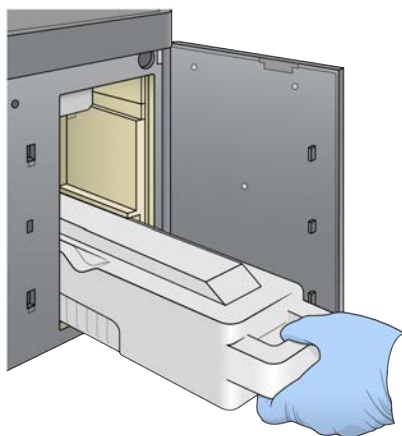
WARNING!

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser.

Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

- 3 Skjut in den tomma behållaren för förbrukade reagenser i buffertfacket tills det tar stopp. Ett hörbart klick indikerar att behållaren är på plats.

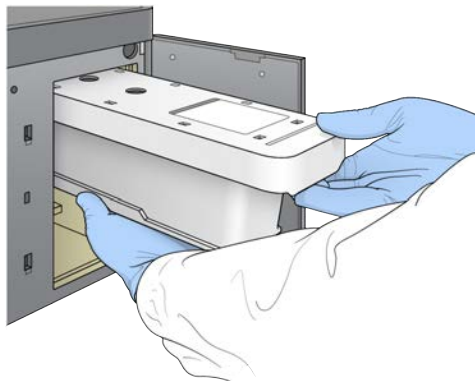
Bild 15 Ladda den tomma behållaren för förbrukade reagenser



Ladda buffertkassetten

- 1 Ta bort den använda buffertkassetten från det övre facket.
Viss kraft krävs för att lyfta och sedan dra ut buffertkassetten.
- 2 Skjut in en ny buffertkassett i buffertfacket tills den stannar.
Ett hörbart klick indikerar att kassetten är på plats, buffertkassetten ID visas på skärmen och sensorn kontrolleras.

Bild 16 Ladda buffertkassetten



- 3 Stäng buffertfackets dörr och välj **Next** (Nästa).

Ladda reagenskassetten

- 1 Öppna dörren till reagensfacket med haken under dörrens nedre högra hörn.
- 2 Ta bort den använda reagenskassetten från reagensfacket. Kassera oanvänt innehåll i enlighet med tillämpliga standarder.



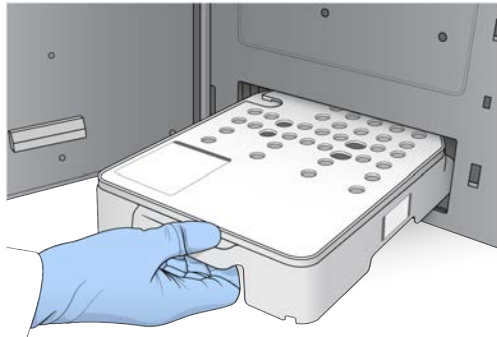
VARNING!

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

OBS! Behållaren i position 6 är löstagbar för att underlätta säker avfallshantering av oanvända reagenser. Mer information finns i *Ta bort en använd behållare från position 6* på sidan 22.

- 3 Skjut in reagenskassetten i reagensfacket tills kassetten stannar och stäng sedan luckan till reagensfacket.

Bild 17 Ladda reagenskassetten

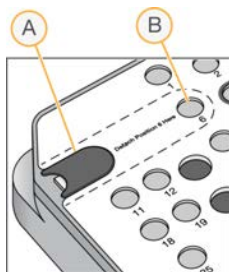


- 4 Välj **Load** (Ladda).
Programvaran flyttar automatiskt kassetten till rätt plats (~ 30 sekunder), reagenskassetten ID visas på skärmen och sensorerna kontrolleras.
- 5 Välj **Next** (Nästa).

Ta bort en använd behållare från position 6

- 1 Ta bort gummiskyddet från facket bredvid position 6 när du har tagit bort den **använda** reagenskassetten från instrumentet.

Bild 18 Den löstagbara behållaren i position 6



- A Gummiskydd
- B Position 6

- 2 Tryck ned den genomskinliga plastfliken och tryck mot vänster för att mata ut behållaren.
- 3 Kassera behållaren i enlighet med tillämpliga standarder.

Ange körningsparametrar

De här stegen på skärmen Run Setup (Körningskonfiguration) varierar beroende på systemkonfigurationen:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace eller BaseSpace Onsite) – På skärmen Run Setup (Körningskonfiguration) listas körningar som konfigurerades med fliken Prep (Beredning) för BaseSpace. Om den avsedda körningen inte visas på skärmen Run Setup (Körningskonfiguration) ska du kontrollera att körningen är markerad för sekvensering i BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (Fristående) – Skärmen Run Setup (Körningskonfiguration) innehåller fält för att ange körningsparametrar.

Välja tillgänglig körning (BaseSpace-konfiguration)

- 1 Välj ett körningsnamn i listan över tillgängliga körningar.
Använd uppåt- och nedåtpilen för att bläddra genom listan eller ange ett körningsnamn i sökfältet.
- 2 Välj **Next** (Nästa).
- 3 Bekräfta körningsparametrarna.
 - ▶ **Run Name** (Körningsnamn) – Körningsnamnet som är tilldelat i BaseSpace.
 - ▶ **Library ID** (Biblioteks-ID) – Namnet på uppsättningsbiblioteket som är tilldelat i BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (Recept) – Namn på receptet, antingen **NextSeq High** (NextSeq hög) eller **NextSeq Mid** (NextSeq medelhög), beroende på vilken reagenskasset som används för körningen.
 - ▶ **Read Type** (Avläsningstyp) – Single Read (Enkel avläsning) eller Paired End.
 - ▶ **Read Length** (Avläsningens längd) – Antal cykler för varje avläsning.
 - ▶ **[Valfritt]** Custom Primers (Anpassade primrar), om tillgängligt.
 - ▶ **Run parameters** (Körningsparametrar) – Ändra antalet avläsningar eller antalet cykler per avläsning.
 - ▶ **Custom primers** (Anpassade primrar) – Ändra inställningarna för anpassade primrar.
Mer information finns i *NextSeq Custom Primers Guide (Guide för anpassade primrar för NextSeq)* (dokumentnr 15057456).
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Töm förbrukningsmaterial för den här körningen) – Ändra inställningen till att automatiskt tömma förbrukningsmaterial efter den aktuella körningen.
- 4 Välj **Next** (Nästa).

Ange körningsparametrar (fristående konfiguration)

- 1 Ange ett valfritt, unikt körningsnamn.
- 2 **[Valfritt]** Ange valfritt biblioteks-ID.
- 3 Välj en avläsningstyp, antingen **Single Read** (Enkel avläsning) eller **Paired End**.
- 4 Ange antalet cykler för varje avläsning i sekvenseringskörningen.
 - ▶ **Read 1** (Avläsning 1) – Ange ett värde på upp till 151 cykler.
 - ▶ **Index 1** – Ange det antal cykler som krävs för Index 1-primern (i7).
 - ▶ **Index 2** – Ange det antal cykler som krävs för Index 2-primern (i5).
 - ▶ **Read 2** (Avläsning 2) – Ange ett värde på upp till 151 cykler. Det här värdet är vanligtvis samma antal cykler som för Read 1 (Avläsning 1).





Kontrollprogrammet bekräftar dina inställningar med hjälp av följande kriterier:

 - ▶ Totalt antal cykler överskrider inte gränsen för hur många cykler som tillåts
 - ▶ Cyklerna för Read 1 (Avläsning 1) är fler än de fem cykler som användes för mallgenerering
 - ▶ Cyklerna för Index Read (Indexavläsning) överskrider inte cyklerna för Read 1 (Avläsning 1) och Read 2 (Avläsning 2)
- 5 **[Valfritt]** Om du använder anpassade primrar väljer du kryssrutan för de primrar som används.
Mer information finns i *NextSeq Custom Primers Guide (Guide för anpassade primrar för NextSeq)* (dokumentnr 15057456).
 - ▶ **Read 1** (Avläsning 1) – Anpassad primer för Read 1 (Avläsning 1).
 - ▶ **Index 1** – Anpassad primer för Index 1.
 - ▶ **Index 2** – Anpassad primer för Index 2.
 - ▶ **Read 2** (Avläsning 2) – Anpassad primer för Read 2 (Avläsning 2).

- 6 **[Valfritt]** Välj knappen **Advanced Settings**  (Avancerade inställningar) för att ändra körningsparametrarna.
 - ▶ Välj ett recept i listrutan Recipe (Recept). Endast kompatibla recept finns med i listan.
 - ▶ **Output folder location** (Utdatamappens plats) – Ändra utdatamappens plats för den aktuella körningen. Välj **Browse** (Bläddra) för att gå till en nätverksplats.
 - ▶ **Included file** (Inkluderade filer) – Välj de filer som du vill inkludera i utdatamappen och som kan vara användbara om ytterligare analyser behövs. Till exempel manifestfiler och provlistor.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Töm förbrukningsmaterial för den här körningen) – Ändra inställningen till att automatiskt tömma förbrukningsmaterial efter den aktuella körningen.
 - ▶ **Use run monitoring for this run** (Använd körningsövervakning för den här körningen) – Ändra inställningen till att använda körningsövervakning i BaseSpace.
- 7 Välj **Next** (Nästa).

Granska kontrollen före en körning

Programvaran utför en automatisk kontroll av systemet före en körning. Under kontrollen visas följande indikatorer på skärmen:

- ▶ **Grå bock**  – Kontrollen har inte utförts än.
- ▶ **Förloppsikon**  – Kontrollen pågår.
- ▶ **Grön bock**  – Kontrollen godkändes.
- ▶ **Rött**  – Kontrollen misslyckades. Det krävs en åtgärd för alla objekt som inte godkänns innan du kan fortsätta. Mer information finns i [Åtgärda fel vid en automatisk kontroll på sidan 44](#).

Välj knappen **Cancel** (Avbryt) för att stoppa en pågående automatisk kontroll före en körning. Välj knappen **Retry** (Försök igen) för att starta om kontrollen. Kontrollen återupptas vid den första ofullständiga eller misslyckade kontrollen.

Välj fliken Category (Kategori) för att visa resultaten för varje enskild kontroll inom en kategori.

Om instrumentet inte är konfigurerat för att starta körningen automatiskt ska du starta körningen när den automatiska kontrollen före en körning har slutförts.

Starta körningen

Välj **Start** (Starta) när den automatiska kontrollen före körning har slutförts. Sekvenseringskörningen startar.

Information om hur du kan konfigurera systemet för att starta körningen automatiskt efter en godkänd kontroll finns i [Ange alternativ för konfiguration av körningar på sidan 13](#).



FÖRSIKTIGHET!

Se till att du är inloggad i Windows. Körningen stoppas om du loggar ut från Windows-systemet under en sekvenseringskörning.

OBS! Reagenser får inte vara oanvända i instrumentet i mer än 24 timmar.

Övervaka körningsförloppet

1 Övervaka körningsförlopp, intensiteter och kvalitetsresultat när mått visas på skärmen.









OBS! När du har valt Home (Startsida) är det inte möjligt att gå tillbaka för att visa körningsmått. Däremot kan du komma åt körningsmått på BaseSpace eller visa dem via en fristående dator med hjälp av Sequencing Analysis Viewer (SAV).

Cykler för körningsmått

Körningsmått visas vid olika punkter i en körning.

- ▶ Under klustergenereringsstegen visas inga mått.
- ▶ De första fem cyklerna är reserverade för mallgenerering.
- ▶ Körningsmått visas efter cykel 25, inklusive klustertäthet, kluster som passerar filter, avkastning och kvalitetsresultat.

Dataöverföring

| Status | Local Run Manager | Utdatamap |
|---|---|---|
| Connected (Ansluten) |  |  |
| Connected and transferring data (Ansluten och överför data) |  |  |
| Disconnected (Frånkopplad) |  |  |
| Disabled (Inaktiverad) |  |  |

Om dataöverföringen avbryts under körningen lagras data tillfälligt på instrumentdatorn. När anslutningen återställs fortsätter dataöverföringen automatiskt. Om anslutningen inte återställs innan körningen avslutas kan du föra över data manuellt från instrumentdatorn innan du startar nästa körning.

Universal Copy Service

NextSeq 550Dx innehåller Universal Copy Service. RTA2 skickar begäranden till tjänsten att kopiera filer från en källplats till en målplats och tjänsten behandlar kopieringsbegäranden i den ordning som de tas emot. Om ett undantag inträffar placeras filen i kön för kopiering igen baserat på antalet filer i kopieringskön.

Sequencing Analysis Viewer

Programmet Sequencing Analysis Viewer visar sekvenseringsmått som genereras under körningen. Mått visas i form av diagram, grafer och tabeller baserat på data som genereras av RTA och skrivs till InterOp-filer. Måtten uppdateras under körningens förlopp. Välj **Refresh** (Uppdatera) för att visa uppdaterade mått när som helst under körningen. Mer information finns i *Sequencing Analysis Viewer User Guide (Användarguide för Sequencing Analysis Viewer)* (artikelnr 15020619).

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

Automatisk tvätt efter körning

När sekvenseringskörningen har slutförts initierar programvaran en automatisk tvätt efter körningen med den tvättlösning som finns i buffertkassetten och den NaOCl som finns i reagenskassetten.

Den automatiska tvätten efter körningen tar cirka 90 minuter. Knappen Home (Start) aktiveras när tvätten har slutförts. Sekvenseringsresultaten visas på skärmen under tvätten.

Efter tvätten

Efter tvätten förblir sugrören i det nedre läget för att förhindra att det kommer in luft i systemet. Lämna kassetterna på plats tills nästa körning.

Kapitel 4 Skanning

| | |
|-----------------------------------|----|
| Inledning | 27 |
| Arbetsflöde vid skanning | 28 |
| Ladda ned DMAP-mappen | 28 |
| Ladda BeadChip på adaptorn | 29 |
| Konfigurera en skanning | 30 |
| Övervaka skanningsförloppet | 32 |

Inledning

Följande körningskomponenter behövs för att utföra en skanning på NextSeq 550Dx-instrumentet:

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

Utdatafiler genereras under skanningen och placeras sedan i kö för överföring till den angivna utdatamappen.

Utför analyserna med hjälp av BlueFuse Multi-programmet, som kräver att skanningsdata är tillgängliga i ett filformat för genotypbestämning (GTC). Som standard genererar NextSeq 550Dx-instrumentet normaliserade data och associerade genotypbestämningar i ett GTC-filformat. Alternativt kan du konfigurera instrumentet till att generera ytterligare filer med intensitetsdata (IDAT). Mer information finns i *Konfiguration av BeadChip-skanning* på sidan 52.

Decode File Client

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

Med Decode File Client kan du ladda ned DMAP-mappar direkt från Illumina-servrar med hjälp av standard-HTTP-protokoll.

Du hittar Decode File Client på [supportsidan för Decode File Client](https://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) på Illuminas webbplats (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Installera Decode File Client på en dator med åtkomst till DMAP-mappens nätverksplats.

Mer information finns i *Ladda ned DMAP-mappen* på sidan 28.

Manifestfiler och klusterfiler

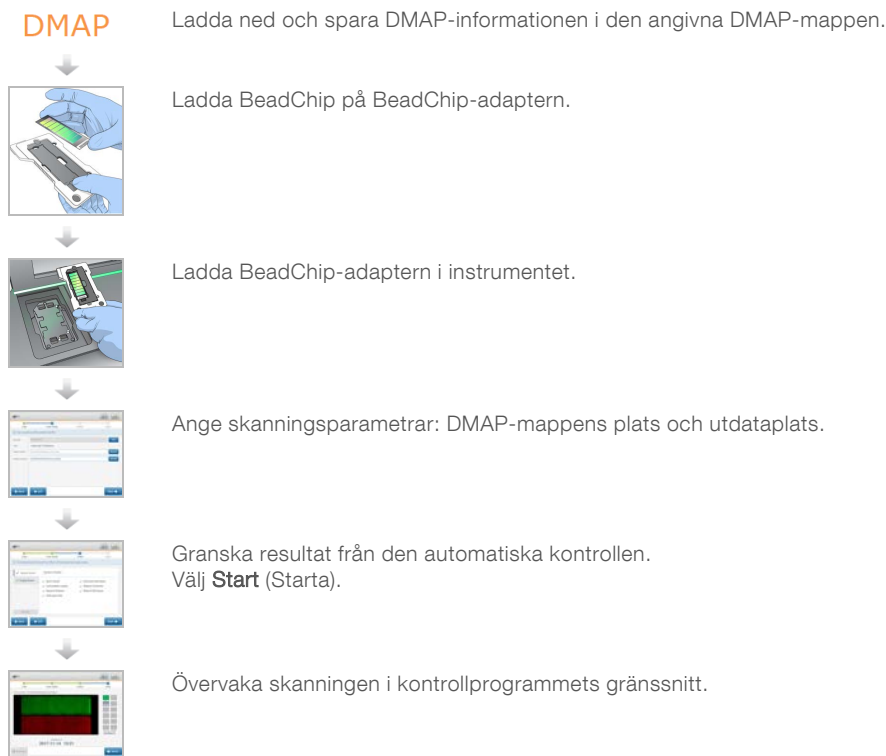
Programmet behöver åtkomst till en manifestfil och en klusterfil för varje BeadChip. Varje manifest- och klusterfil är unik för en typ av BeadChip. Var noga med att använda klusterfiler som har NS550 i filnamnet. De filerna är kompatibla med NextSeq 550Dx-systemet.

- ▶ **Manifestfil** – Manifestfiler beskriver SNP- eller sondinnehållet på ett BeadChip. Manifestfiler har filformatet *.bpm.
- ▶ **Klusterfiler** – Klusterfiler beskriver klusterpositionerna för Illumina-genotypningsmatrisen och används vid analys av data för genotypbestämningen. Klusterfiler har filformatet *.egt.

Filernas plats anges på skärmen **BeadChip Scan Configuration** (Konfiguration av BeadChip-skanning). Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument) på NCS-startskärmen, därefter **System Configuration** (Systemkonfiguration) och sist **BeadChip Scan Configuration** (Konfiguration av BeadChip-skanning).

När NextSeq 550Dx-instrumentet har installerats laddar Illumina-representanten ned filerna och anger sökvägen i kontrollprogrammet. Det finns ingen anledning till att ändra de här filerna, förutom vid förlust eller om en ny version är tillgänglig. Mer information finns i [Ersätta manifestfiler och klusterfiler på sidan 49](#).

Arbetsflöde vid skanning



Ladda ned DMAP-mappen

Du kan komma åt DMAP-mappen med hjälp av Decode File Client samt ett konto eller BeadChip (standardvy).

Åtkomst till DMAP-mappen via konto

- 1 Välj ett nedladdningsalternativ på huvudfliken i Decode File Client:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ All BeadChips not yet downloaded (Alla BeadChips har inte laddats ned än)
 - ▶ All BeadChips (Alla BeadChips)
 - ▶ BeadChips by Purchase Order (BeadChips via inköpsorder)
 - ▶ BeadChips by barcode (BeadChips via streckkod)
- 2 Ange den information som krävs.
- 3 Hitta DMAP-mappen som du vill ladda ned.
- 4 Kontrollera att du har tillräckligt med ledigt utrymme på målplatsen för nedladdningen.

- 5 Starta nedladdningen. Nedladdningens status visas på fliken Download Status and Log (Nedladdningsstatus och -logg).
- 6 Spara DMAP-mappen till den angivna DMAP-mappsökvägen.

Åtkomst till DMAP-mappen via BeadChip

- 1 Identifiera BeadChips med hjälp av två av följande alternativ:
 - ▶ BeadChip-streckkod
 - ▶ Förpacknings-ID för BeadChip
 - ▶ Inköpsordernummer
 - ▶ Försäljningsordernummer
- 2 Hitta DMAP-mappen som du vill ladda ned.
- 3 Kontrollera att du har tillräckligt med ledigt utrymme på målplatsen för nedladdningen.
- 4 Starta nedladdningen. Nedladdningens status visas på fliken Download Status and Log (Nedladdningsstatus och -logg).
- 5 Spara DMAP-mappen till den angivna DMAP-mappsökvägen.

Ladda BeadChip på adaptorn

- 1 Tryck ned adapterklämman. Klämman vinklas något bakåt och skapar en öppning.
- 2 Håll i kanterna på BeadChip, positionera BeadChip med streckkoden nära klämman och placera BeadChip i adaptorns försänkta fack.

Bild 19 Ladda BeadChip på adaptorn



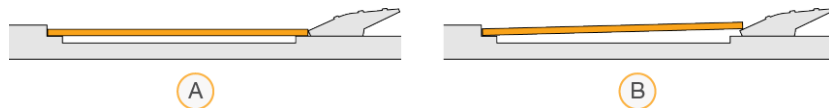
- 3 Använd öppningarna på vardera sidan av BeadChip för att kontrollera att BeadChip sitter ordentligt i adaptorns försänkta fack.

Bild 20 Placera och fäst BeadChip



- 4 Släpp försiktigt på klämman för att fästa BeadChip.
- 5 Inspektera BeadChip från sidan för att kontrollera att BeadChip sitter som det ska på adaptorn. Flytta på BeadChip vid behov.

Bild 21 Inspektera placeringen av BeadChip



- A Korrekt placering – BeadChip ligger platt på adaptorn när klämman lossas.
B Felaktig placering – BeadChip ligger inte platt när klämman lossas.

Konfigurera en skanning

- 1 Välj **Experiment** på startskärmen och därefter **Scan** (Skanna). Kommandot Scan (Skanna) får luckan till avbildningsfacket att öppnas, eventuellt förbrukningsmaterial från en tidigare körning att lossas och ett antal skärmar för skanningsinställningar att öppnas. En kort fördröjning är normalt.

Ta ut förbrukningsmaterial för sekvensering

Om använt förbrukningsmaterial för sekvensering finns kvar när du konfigurerar en skanning uppmanar programmet dig att ta ut reagenskassetten och buffertkassetten innan du fortsätter till nästa steg.

- 1 Avlägsna använt förbrukningsmaterial från en tidigare sekvenseringskörning om du uppmanas att göra det.
 - a Ta bort reagenskassetten från reagensfacket. Kassera oanvänt innehåll i enlighet med tillämpliga standarder.
 - b Ta bort den använda buffertkassetten från buffertfacket.



WARNING!

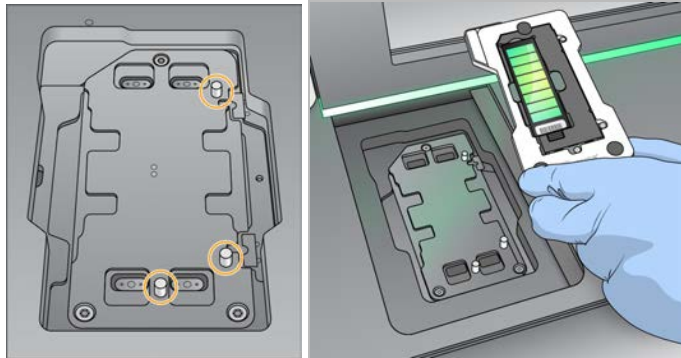
Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser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

- 2 Ta bort flödescellen från avbildningsfacket.
- 3 Stäng luckorna till reagensfacket och buffertfacket.

Ladda BeadChip-adaptorn

- 1 Använd inpassningsstiften för att placera BeadChip-adaptorn på plattformen.

Bild 22 Ladda BeadChip-adaptorn



- 2 Välj **Load** (Ladda).
Luckan stängs automatiskt, BeadChip-ID:t visas på skärmen och sensorerna kontrolleras. En kort fördröjning är normalt. Om BeadChip-streckkoden inte kan läsas av visas en dialogruta där du kan ange streckodsnumret manuellt. Se *Programmet kan inte läsa BeadChip-streckkoden* på sidan 48.
- 3 Välj **Next** (Nästa).

Skanningskonfiguration

- 1 Bekräfta följande information på skärmen Scan Setup (Skanningskonfiguration):
 - ▶ **Barcode** (Streckkod) – Programmet läser av BeadChip-streckkoden när BeadChip laddas. Om streckkoden angavs manuellt visas knappen **Edit** (Redigera) för möjlighet till ytterligare ändringar.
 - ▶ **Type** (Typ) – Fältet för BeadChip-typ fylls i automatiskt baserat på BeadChip-streckkoden.
 - ▶ **DMAP Location** (DMAP-plats) – DMAP-mappens plats anges på skärmen BeadChip Scan Configuration (Konfiguration av BeadChip-skanning). Välj **Browse** (Bläddra) och gå till rätt plats för att endast ändra plats för den aktuella skanningen.
 - ▶ **Output Location** (Utdataplatser) – Utdataplatserna anges på skärmen BeadChip Scan Configuration (Konfiguration av BeadChip-skanning). Välj **Browse** (Bläddra) och gå till önskad plats för att endast ändra plats för den aktuella skanningen.
- 2 Välj **Next** (Nästa).

Granska kontrollen före en körning

Programvaran utför en automatisk kontroll av systemet före en körning. Under kontrollen visas följande indikatorer på skärmen:

- ▶ **Grå bock** ☹ – Kontrollen har inte utförts än.
- ▶ **Förloppsikon** ⌄ – Kontrollen pågår.
- ▶ **Grön bock** ✓ – Kontrollen godkändes.
- ▶ **Rött** ✗ – Kontrollen misslyckades. Det krävs en åtgärd för alla objekt som inte godkänns innan du kan fortsätta. Mer information finns i *Åtgärda fel vid en automatisk kontroll* på sidan 44.

Välj knappen **Cancel** (Avbryt) för att stoppa en pågående automatisk kontroll före en körning. Välj knappen **Retry** (Försök igen) för att starta om kontrollen. Kontrollen återupptas vid den första ofullständiga eller misslyckade kontrollen.

Välj fliken Category (Kategori) för att visa resultaten för varje enskild kontroll inom en kategori.

Om instrumentet inte är konfigurerat för att starta körningen automatiskt ska du starta körningen när den automatiska kontrollen före en körning har slutförts.

Starta skanningen

Välj **Start** (Starta) när den automatiska kontrollen har slutförts. Skanningen börjar.

Information om hur du kan konfigurera systemet till att starta skanningen automatiskt efter en godkänd kontroll finns i [Ange alternativ för konfiguration av körningar på sidan 13](#).

Övervaka skanningsförloppet

1 Övervaka skanningsförloppet med hjälp av BeadChip-bilden. Varje färg på bilden indikerar skanningens status.

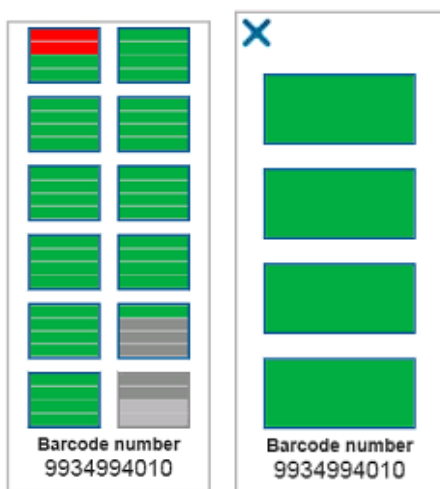
- ▶ **Ljusgrå** – Inte skannad.
- ▶ **Mörkgrå** – Skannad men inte registrerad.
- ▶ **Grön** – Skannad och lyckad registrering.
- ▶ **Röd** – Skannad och misslyckad registrering.

Om registreringen misslyckas kan du skanna om proverna som innehåller misslyckades sektioner. Se [Fel vid BeadChip-skanning på sidan 48](#).

2 Välj BeadChip-bilden för att växla mellan en fullständig vy och en detaljerad vy av ett valt prov.

- ▶ I den fullständiga vyn visas proverna på BeadChip och sektionerna inom varje prov.
- ▶ I den detaljerade vyn visas varje sektion inom det valda provet.

Bild 23 BeadChip-bild – fullständig vy och detaljerad vy



OBS! Att avsluta en skanning är en definitiv handling. Om du avslutar skanningen innan den har slutförts kommer *inga* skanningdata att sparas.

Dataöverföring

Data placeras i kö för överföring till utdatamappen när skanningen är slutförd. Data skrivs tillfälligt till instrumentdatorn. Den tillfälliga mappen tas automatiskt bort från instrumentdatorn när en efterföljande skanning startas.

Hur lång tid dataöverföringen tar varierar beroende på din nätverksanslutning. Kontrollera att alla data har skrivits till utdatamappen innan du startar en efterföljande skanning. Det gör du genom att kontrollera att det finns GTC-filer i streckkodsmappen. Mer information finns i [Skanna mappstruktur för utdata på sidan 63](#).

Om anslutningen bryts återupptas dataöverföringen automatiskt när anslutningen upprättas igen. Varje fil har en timer på en timme efter att den har placerats i kö för överföring till utdatamappen. När timern når 0 eller om instrumentet startas om innan överföringen är slutförd kommer inte data att skrivas till utdatamappen.

Kapitel 5 Underhåll

| | |
|--|----|
| Inledning | 35 |
| Utföra en manuell tvätt | 35 |
| Byta ut luftfiltret | 38 |
| Programuppdateringar | 39 |
| Alternativ för omstart och avstängning | 41 |

Inledning

Underhållsprocedurerna inkluderar manuella instrumenttvättar och byte av luftfilter. Alternativ för avstängning och omstart av instrumentet beskrivs också.

- ▶ **Instrumenttvättar** – En automatisk tvätt efter varje sekvenseringskörning säkerställer instrumentets prestanda. Under vissa förhållanden krävs dock att en manuell tvätt utförs regelbundet. Mer information finns i *Utföra en manuell tvätt på sidan 35*.
- ▶ **Luftfilterbyte** – Luftfiltret måste bytas ut regelbundet för att säkerställa ett korrekt luftflöde genom instrumentet.

Förebyggande underhåll

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

Utföra en manuell tvätt

Manuella tvättar initieras från startskärmen. Tvättalternativen inkluderar Quick Wash (Snabbtvätt) och Manual Post-Run Wash (Manuell tvätt efter körning).

| Tvätttyper | Beskrivning |
|--|--|
| Snabbtvätt Varaktighet: 20 minuter | Spolar systemet med tvättlösning av vatten av laboratoriekvalitet och Tween 20 (buffertvättkasset), som tillhandahålls av användaren. <ul style="list-style-type: none">• Krävs var fjortonde dag om instrumentet är inaktivt och reagenskassetten och buffertkassetten är laddade i instrumentet.• Krävs var sjunde dag om instrumentet är i ett torrt tillstånd (reagenskassetten och buffertkassetten är borttagna). |
| Manuell tvätt efter körning Varaktighet: 90 minuter | Spolar systemet med en användarpåfylld tvättlösning av vatten av laboratoriekvalitet och Tween 20 (buffertvättkasset) och 0,12 % natriumhypoklorit (reagenstvättkasset). Krävs om den automatiska tvätten efter en körning inte utfördes. |

För en manuell tvätt krävs reagenstvättkassetten och buffertvättkassetten som medföljer instrumentet och en använd flödescell. En använd flödescell kan användas för instrumenttvätt upp till 20 gånger.

Bild 24 Reagenstvättkassett och bufferttvättkassett i originalutförande

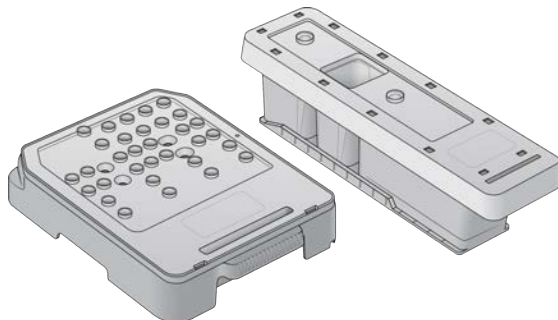
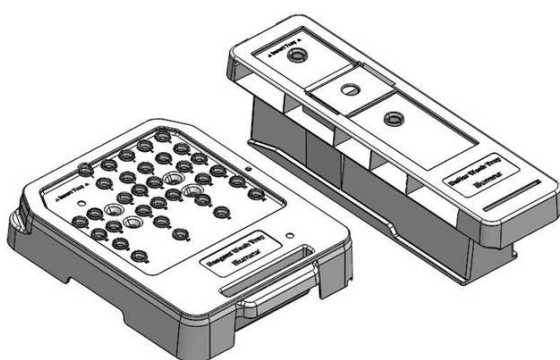


Bild 25 Ny reagenstvättkassett och bufferttvättkassett



Förbereda en manuell tvätt efter en körning

Välj om du vill förbereda en manuell tvätt efter en körning enligt beskrivningen nedan eller förbereda en snabbtvätt (nästa avsnitt). Om du vill utföra en manuell tvätt efter en körning ska du hoppa över avsnittet om snabbtvättar och gå vidare till *Ladda en använd flödescell och tvättkassetterna* på sidan 37.

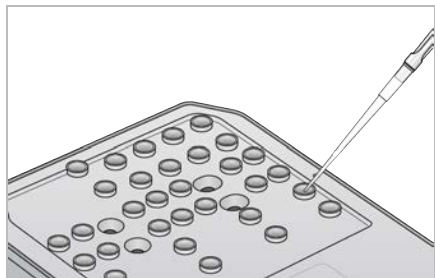
| Förbrukningsmaterial som tillhandahålls av användaren | Volym och beskrivning |
|---|--|
| NaOCl | 1 ml, spädd till 0,12 % Laddad i reagenstvättkassetten (position 28) |
| 100 % Tween 20 Vatten av laboratoriekvalitet | Används för att skapa 125 ml 0,05 % Tween 20-tvättlösning Laddad i bufferttvättkassetten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

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

- Kombinera följande volymer i ett mikrocentrifugrör för att skapa 1 ml 0,12 % NaOCl:
 - ▶ 5 % NaOCl (24 µl)
 - ▶ Vatten av laboratoriekvalitet (976 µl)
- Blanda genom att vända på röret.

- Tillför 1 ml 0,12 % NaOCl till reagenstvättkassetten. Rätt behållare motsvarar position **28** på den förfyllda kassetten.

Bild 26 Ladda NaOCl



- Kombinera följande volymer för att skapa en 0,05 % Tween 20-tvättlösning:
 Bufferttvättkassett i originalutförande
 - ▶ 100 % Tween 20 (62 µl)
 - ▶ Vatten av laboratoriekvalitet (125 ml)
 - ▶ Tillsätt 125 ml tvättlösning i mittbehållaren för bufferttvättkassetten.
 Ny bufferttvättkassett
 - ▶ 100 % Tween 20 (75 µl)
 - ▶ Vatten av laboratoriekvalitet (150 ml)
 - ▶ Tillsätt 150 ml tvättlösning i mittbehållaren för bufferttvättkassetten.
- Välj **Perform Wash** (Utför tvätt) och sedan **Manual Post-Run Wash** (Manuell tvätt efter körning).

Förbereda en snabbtvätt

Du kan förbereda för en snabbtvätt enligt beskrivningen nedan som ett alternativ till *Förbereda en manuell tvätt efter en körning* på sidan 36.

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

- Kombinera följande volymer för att skapa en 0,05 % Tween 20-tvättlösning:
 - ▶ 100 % Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Vatten av laboratoriekvalitet (40 ml)
- Tillsätt 40 ml tvättlösning i bufferttvättkassetten mittbehållare.
- Välj **Perform Wash** (Utför tvätt) och sedan **Quick Wash** (Snabbtvätt).

Ladda en använd flödescell och tvättkassetterna

- Om det inte redan finns en använd flödescell i instrumentet ska du ladda en använd flödescell. Välj **Load** (Ladda) och sedan **Next** (Nästa).

- 2 Ta bort behållaren för förbrukade reagenser och kassera innehållet i enlighet med tillämpliga standarder.



WARNING!

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

- 3 Skjut in den tomma behållaren för förbrukade reagenser i buffertfacket tills det tar stopp.
- 4 Ta bort den använda buffertkassetten från den tidigare körningen, om sådan finns.
- 5 Ladda bufferttvättkassetten som innehåller tvättlösning.
- 6 Ta bort den använda reagenskassetten från den tidigare körningen, om sådan finns.
- 7 Ladda reagenstvättkassetten.
- 8 Välj **Next** (Nästa). Förtvättskontrollen startar automatiskt.

Starta tvätten

- 1 Välj **Start**.
- 2 Välj **Home** (Startsida) när tvätten har slutförts.

Efter tvätten

Efter tvätten förblir sugrören i det nedre läget för att förhindra att det kommer in luft i systemet. Lämna kassetterna på plats tills nästa körning.

Byta ut luftfiltret

Nya system levereras med tre extra luftfilter. De ska förvaras och användas när instrumentet uppmanar att byta filtret.

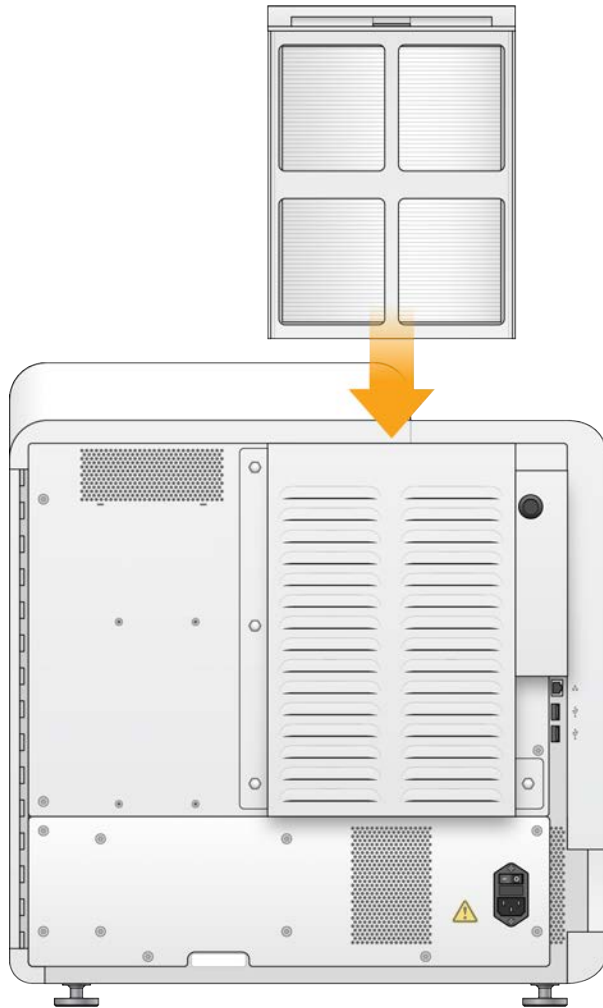
Luftfiltret säkerställer att luft flödar genom instrumentet. Programvaran visar ett meddelande om att byta luftfilter var 90:e dag. När du uppmanas att byta filtret kan du välja **Remind in 1 day** (Påminn om 1 dag) eller följa nedanstående förfarande och välja **Filter Changed** (Filter har bytts). Nedräkningen på 90 dagar återställs när du väljer **Filter Changed** (Filter har bytts).

- 1 Avlägsna det nya luftfiltret från förpackningen och skriv det datum då du installerar det på filtrets ram.
- 2 Tryck ned toppen av filterfacket på instrumentets baksida för att lossa facket.
- 3 Ta tag i den övre delen av filterfacket och dra uppåt för att lyfta ut facket helt ur instrumentet.
- 4 Ta bort och kassera det gamla luftfiltret.
- 5 Sätt i det nya luftfiltret i facket.

OBS! Luftfiltret fungerar inte korrekt om det sitter åt fel håll. Se till att sätta in luftfiltret i facket så att du kan se den gröna pilen Up (Upp) och inte kan se varningsetiketten. Pilen ska peka mot filterfackets handtag.

- 6 Skjut in filterfacket i instrumentet. Tryck ned på filterfackets övre del tills det klickar på plats.

Bild 27 Insättning av luftfilter




Programuppdateringar

Programuppdateringar finns i ett paket som kallas för programsvit, som innehåller följande program:

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

Du kan installera programuppdateringar automatiskt med hjälp av en internetanslutning eller manuellt via en nätverksplats eller USB-enhet.

- ▶ **Automatic updates** (Automatiska uppdateringar) – För instrument som är anslutna till ett nätverk med internetåtkomst visas en varningsikon  på knappen Manage Instrument (Hantera instrument) på startskärmen när en uppdatering är tillgänglig.

- ▶ **Manual updates** (Manuella uppdateringar) – Ladda ned installationsprogrammet för programsviten från [supportsidan för NextSeq 550Dx-instrumentet](#) på Illuminas webbplats.

Automatisk programuppdatering

- 1 Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument).
- 2 Välj **Software Update** (Programuppdatering).
- 3 Välj **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Installera den uppdatering som redan är nedladdad från BaseSpace).
- 4 Välj **Update** (Uppdatera) för att starta uppdateringen. En dialogruta där du kan bekräfta kommandot öppnas.
- 5 Följ uppmaningarna i installationsguiden:
 - a Godkänn licensavtalet.
 - b Läs den viktiga informationen om programversionen.
 - c Läs listan över program som ingår i uppdateringen.

Kontrollprogrammet startar automatiskt om när uppdateringen är slutförd.

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

Manuell programuppdatering

- 1 Ladda ned installationsprogrammet för programsviten från Illuminas webbplats och spara det på en nätverksplats.
Alternativt kan du kopiera programmets installationsfil till ett USB-minne.
- 2 Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument).
- 3 Välj **Software Update** (Programuppdatering).
- 4 Välj **Manually install the update from the following location** (Installera uppdateringen från följande plats manuellt).
- 5 Välj **Browse** (Bläddra) för att gå till platsen för programmets installationsfil och välj därefter **Update** (Uppdatera).
- 6 Följ uppmaningarna i installationsguiden:
 - a Godkänn licensavtalet.
 - b Läs den viktiga informationen om programversionen.
 - c Läs listan över program som ingår i uppdateringen.

Kontrollprogrammet startar automatiskt om när uppdateringen är slutförd.

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

Alternativ för omstart och avstängning

Använd följande funktioner med knappen Reboot / Shutdown (Starta om/stäng av):

- ▶ Reboot to RUO (Starta om till RUO) – Instrumentet startar i forskningsläget.
- ▶ Restart (Starta om) – Instrumentet startar i diagnosläget.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Starta om till Dx från RUO) – Instrumentet startar i diagnosläget.
- ▶ Shutdown (Stäng av) – När instrumentet slås på igen startar det i diagnosläget.
- ▶ Exit to Windows (Avsluta och gå till Windows) – Beroende på behörigheter kan du stänga NCS och visa Windows.

Starta om i diagnosläge

Använd kommandot Restart (Starta om) för att stänga av instrumentet säkert och starta om till diagnosläge. Diagnosläget är standardläget vid omstart.

- 1 Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument).
- 2 Välj **Reboot / Shutdown** (Starta om/stäng av).
- 3 Välj **Restart** (Starta om).

Stänga av instrumentet

- 1 Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument).
- 2 Välj **Reboot / Shutdown** (Starta om/stäng av).
- 3 Välj **Shutdown** (Stäng av).

Kommandot Shutdown (Stäng av) stänger av programvaran och kopplar från strömmen till instrumentet på ett säkert sätt. Vänta minst 60 sekunder innan du slår på instrumentet igen.

OBS! Som standard startar instrumentet i diagnosläget när det slås på.



FÖRSIKTIGHET!

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

Avsluta och gå till Windows

Kommandot Exit to Windows (Avsluta och gå till Windows) ger åtkomst till instrumentets operativsystem och alla mappar på instrumentdatorn. Kommandot stänger av programvaran på ett säkert sätt, samt avslutar och öppnar Windows. Endast administratörsanvändare kan avsluta och gå till Windows.

- 1 Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument).
- 2 Välj **Reboot / Shutdown** (Starta om/stäng av).
- 3 Välj **Exit to Windows** (Avsluta och gå till Windows).

Bilaga A Felsökning

| | |
|---|----|
| Inledning | 43 |
| Felsökningsfiler | 43 |
| Åtgärda fel vid en automatisk kontroll | 44 |
| Behållaren för förbrukade reagenser är full | 46 |
| Arbetsflöde vid rehybridisering | 46 |
| BeadChip och skanningsfel | 48 |
| Anpassade recept och receptmappar | 50 |
| RAID-felmeddelande | 50 |
| Konfigurera systeminställningar | 50 |

Inledning

Kontakta Illuminas tekniska support för problem med körningskvalitet eller prestanda. Mer information finns i *Teknisk hjälp* på sidan 69.

Felsökningsfiler

Illuminas tekniska support kan be om kopior av körnings- eller skannings-specifika filer för att felsöka problem. Normalt används nedanstående filer vid felsökning.

Felsökningsfiler för sekvenseringskörningar

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

RTA-fel

Om du vill felsöka RTA-fel ska du först kontrollera RTA-felloggen som sparas i mappen RTALogs (RTA-loggar). Den här filen skapas inte för godkända körningar. Skicka med felloggen när du rapporterar problem till Illuminas tekniska support.

Felsökningsfiler för matrisskanningar

| Nyckelfil | Mapp | Beskrivning |
|---|-------------|--|
| Fil med skanningssparametrar (ScanParameters.xml) | Rotmapp | Innehåller information om skanningsparametrar, som skanningsdatum, BeadChip-streckkod, plats för klusterfilen och plats för manifestfilen. |
| Loggfiler | Loggar | I loggfilerna beskrivs varje steg som utförs på instrumentet under skanningen. |
| Måttfiler | [streckkod] | Mått tillhandahålls som provmått och sektionmått. [streckkod]_sample_metrics.csv – För varje prov och kanal (röd och grön) listas Percent Off Image (Procent avvikande från bild), Percent Outliers (Procent avvikande värden), P05, P50, P95, Avg FWHM Avg (Genomsnittlig halvvärdesbredd), FWHM Stddev (Standardavvikelse för halvvärdesbredd) och Min Registration Score (Lägsta registreringsresultat). [streckkod]_section_metrics.csv – För varje sektion och platta listas Laser Z-position (Laserns Z-position), Through Focus Z-position (Fokusets Z-position), Red FWHM (Röd halvvärdesbredd), Green FWHM (Grön halvvärdesbredd), Red Avg Pixel Intensity (Genomsnittlig röd pixelintensitet), Green Avg Pixel Intensity (Genomsnittlig grön pixelintensitet), Red Registration Score (Rött registreringsresultat) och Green Registration Score (Grönt registreringsresultat). |
| Omskanningsfil | [streckkod] | [streckkod]_rescan.flowcell – Listar plattplatserna som har justerats för en omskanning, med en mer omfattande plattöverlappning. |

Åtgärda fel vid en automatisk kontroll

Om det uppstår fel under den automatiska kontrollen ska du använda nedanstående rekommenderade åtgärder för att lösa felen.

Kontroller för sekvenseringskörningar

Om en kontroll före en körning misslyckas är inte reagenskassetten RFID låst och kan användas för en efterföljande körning. Däremot kommer flödescellens, reagenskassetten och buffertkassetten RFID:n vara låsta under en kontrollprogramsinitiering, vilket kan krävas för att åtgärda ett problem. Användaren måste avlägsna flödescellen, reagenskassetten och buffertkassetten från instrumenten innan systemet startas om. Dessutom är förbrukningsmaterialens RFID:n låsta efter att folieförseglingarna har genomträngts. När programmet läser en flödescells RFID startar en timer på sju timmar innan flödescellen anses vara låst och oanvändbar.

| Systemkontroller | Rekommenderad åtgärd |
|--|---|
| Doors Closed (Luckor stängda) | Kontrollera att fackens luckor är stängda. |
| Consumables Loaded (Förbrukningsmaterial laddat) | Sensorerna för förbrukningsmaterial registrerar inget. Kontrollera att allt förbrukningsmaterial är korrekt laddat. Välj Back (Tillbaka) på skärmarna för körningsinställningar för att gå tillbaka till laddningssteget och upprepa körningsinställningen. |

| Systemkontroller | Rekommenderad åtgärd |
|---|---|
| Required Software (Obligatoriskt program) | Kritiska komponenter i programvaran saknas. Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Instrument Disk Space (Instrumentets diskutrymme) | Instrumentets hårddisk har inte tillräckligt med diskutrymme för att utföra en körning. Det är möjligt att data från en tidigare körning inte överfördes. Rensa körningsdata från instrumentets hårddisk. |
| Network Connection (Nätverksanslutning) | Nätverksanslutningen har avbrutits. Kontrollera nätverksstatusen och den fysiska nätverksanslutningen. |
| Network Disk Space (Diskutrymme i nätverket) | Nätverksservern är full. |

| Temperature (Temperatur) | Rekommenderad åtgärd |
|--|--------------------------------------|
| Temperature (Temperatur) | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Temperature Sensors (Temperatursensorer) | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Fans (Fläktar) | Kontakta Illuminas tekniska support. |

| Avbildningssystem | Rekommenderad åtgärd |
|---|--|
| Imaging Limits (Avbildningsgränser) | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Z Steps-and-Settle | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Bit Error Rate | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Flow Cell Registration (Registrering av flödescell) | Det är möjligt att flödescellen inte är korrekt placerad. <ul style="list-style-type: none"> Välj Back (Tillbaka) på skärmarna för körningsinställningar för att gå tillbaka till flödescellssteget. Avbildningsfackets dörr öppnas. Ta ut och ladda flödescellen igen för att se till att den är korrekt placerad. |

| Reagensleverans | Rekommenderad åtgärd |
|---|---|
| Valve Response (Ventilsvar) | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Pump | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Buffer Mechanism (Buffertmekanism) | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Spent Reagents Empty (Töm förbrukade reagenser) | Töm behållaren för förbrukade reagenser och sätt tillbaka den tomma behållaren. |

Kontrollera för matrisskanningar

| Systemkontroller | Rekommenderad åtgärd |
|--|--|
| Doors Closed (Luckor stängda) | Kontrollera att fackens luckor är stängda. |
| Consumables Loaded (Förbrukningsmaterial laddat) | Sensorerna för förbrukningsmaterial registrerar inget. Kontrollera att allt förbrukningsmaterial är korrekt laddat. Välj Back (Tillbaka) på skärmarna för körningsinställningar för att gå tillbaka till laddningssteget och upprepa körningsinställningen. |

| Systemkontroller | Rekommenderad åtgärd |
|---|---|
| Required Software (Obligatoriskt program) | Kritiska komponenter i programvaran saknas. Utför en manuell programuppdatering för att återställa alla programkomponenter. |
| Verifiera indatafiler | Kontrollera att sökvägen till klusterfilen och manifestfilen är korrekt och att filerna ligger där de ska. |
| Instrument Disk Space (Instrumentets diskutrymme) | Instrumentets hårddisk har inte tillräckligt med diskutrymme för att utföra en körning. Det är möjligt att data från en tidigare körning inte överfördes. Rensa körningsdata från instrumentets hårddisk. |
| Network Connection (Nätverksanslutning) | Nätverksanslutningen har avbrutits. Kontrollera nätverksstatusen och den fysiska nätverksanslutningen. |
| Network Disk Space (Diskutrymme i nätverket) | Antingen är BaseSpace-kontot fullt eller så är nätverksservern full. |

| Avbildningssystem | Rekommenderad åtgärd |
|--------------------------------------|---|
| Imaging Limits (Avbildningsgränser) | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Z Steps-and-Settle | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Bit Error Rate | Kontakta Illuminas tekniska support. |
| Auto-Center (Automatisk centrerings) | Ta ut BeadChip-adaptorn. Kontrollera att BeadChip är placerat i adaptorn och mata in adaptorn igen. |

Behållaren för förbrukade reagenser är full

Påbörja alltid en körning med en tom behållare för förbrukade reagenser.

Om du startar en körning utan att tömma behållaren för förbrukade reagenser meddelar systemsensorer programvaran att pausa körningen när behållaren är full. Systemsensorerna kan inte pausa en körning under pågående klustring, paired-end-återsyntes eller den automatiska tvätten efter körningen.

När körningen pausar öppnas en dialogruta med alternativ för att höja sugrören och tömma den fulla behållaren.

Tömma behållaren för förbrukade reagenser

- 1 Välj **Raise Sippers** (Höj sugrör).
- 2 Ta bort behållaren för förbrukade reagenser och kassera innehållet på lämpligt sätt.
- 3 Sätt tillbaka den tomma behållaren i buffertfacket.
- 4 Välj **Continue** (Fortsätt). Körningen återupptas automatiskt.

Arbetsflöde vid rehybridisering

En rehybridiseringskörning kan behövas om måtten som genereras under de första cyklerna visar intensiteter under 2 500. Vissa bibliotek med låg mångfald kan visa intensiteter under 1 000, vilket är förväntat och kan inte åtgärdas med rehybridisering.

OBS! Kommandot End Run (Avsluta körning) är en definitiv handling. Körningen kan inte återupptas, körningens förbrukningsmaterial kan inte återanvändas och sekvenseringsdata från körningen sparas inte.

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

- ▶ Försätter flödescellen i ett säkert tillstånd.
- ▶ Läser upp flödescellens RFID för en senare körning.
- ▶ Tilldelar ett utgångsdatum för rehybridisering till flödescellen.
- ▶ Skriver körningsloggarna för slutförda cykler. En fördröjning är normalt.
- ▶ Åsidosätter den automatiska tvätten efter körning.

När du startar en rehybridiseringskörning utför programmet följande steg innan körningen inleds:

- ▶ Skapar en körningsmapp baserat på ett unikt körningsnamn.
- ▶ Kontrollerar att flödescellens rehybridiseringsdatum inte har passerat.
- ▶ Primrar reagens. En fördröjning är normalt.
- ▶ Hoppar över klustersteget.
- ▶ Tar bort den tidigare primern för Read 1 (Avläsning 1).
- ▶ Hybridiserar en ny primer för Read 1 (Avläsning 1).
- ▶ Fortsätter med Read 1 (Avläsning 1) och resten av körningen baserat på angivna körningsparametrar.

Tidpunkter att avsluta en körning vid för rehybridisering

Rehybridisering vid ett senare tillfälle är endast möjligt om du avslutar körningen vid följande tidpunkter:

- ▶ **Efter cykel 5** – Intensiteter visas efter mallregistreringen, vilket kräver att de första fem sekvenseringscyklerna har slutförts. Även om det är säkert att avsluta en körning efter cykel 1 så rekommenderar vi att avsluta efter cykel 5. Avsluta inte en körning under klustergenerering.
- ▶ **Read 1 (Avläsning 1) eller Index 1 Read (Index 1-avläsning)** – Avsluta körning *innan* paired-end-återsyntes inleds. Flödescellen kan inte sparas för rehybridisering vid ett senare tillfälle efter att paired-end-återsyntes har inletts.

Nödvändigt förbrukningsmaterial

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

Avsluta den aktuella körningen

- 1 Välj **End Run** (Avsluta körning). Välj **Yes** (Ja) när du uppmanas att bekräfta kommandot.
- 2 Välj **Yes** (Ja) när du uppmanas att spara flödescellen. Kontrollera utgångsdatunet för rehybridisering.
- 3 Avlägsna den sparade flödescellen och ställ undan vid 2 °C till 8 °C tills du är redo att konfigurera rehybridiseringskörningen.

OBS! Du kan förvara flödescellen i plastfodralet *utan* torkmedelspåsen vid 2 °C till 8 °C i upp till sju dagar. Rehybridisera den sparade flödescellen inom tre dagar för bästa resultat.

Utföra en manuell tvätt

- 1 Välj **Perform Wash** (Utför tvätt) på startskärmen.
- 2 Välj **Manual Post-Run Wash** (Manuell tvätt efter körning) på skärmen Wash Selection (Val av tvätt). Mer information finns i *Utföra en manuell tvätt* på sidan 35.

OBS! Om du inte har tagit bort reagenskassetten och buffertkassetten från den stoppade körningen kan du använda dem för den manuella tvätten. Annars utför du den manuella tvätten med reagenstvättkassetten och buffertvättkassetten.

Konfigurera en ny körning på fliken Prep (Beredning) för BaseSpace

- 1 Om instrumentet är konfigurerat för BaseSpace eller BaseSpace Onsite konfigurerar du en ny körning på fliken Prep (Beredning) med hjälp av samma parametrar som i originalkörningen.

SPETS Klicka på fliken Pools (Uppsättningar), välj lämpligt Pool ID (Uppsättnings-ID) för att behålla de tidigare körningsinställningarna och ge sedan den nya körningen ett unikt namn.

Konfigurera en körning på instrumentet

- 1 Förbered en ny reagenskassett.
- 2 Om den sparade flödescellen har förvarats ska du låta den nå rumstemperatur (15–30 minuter).
- 3 Rengör och ladda den sparade flödescellen.
- 4 Ta bort behållaren för förbrukade reagenser, kassera innehållet på lämpligt sätt och sätt tillbaka den tomma behållaren.
- 5 Ladda den nya buffertkassetten och reagenskassetten.
- 6 Välj bland följande alternativ på skärmen Run Setup (Körningskonfiguration):
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace eller BaseSpace Onsite) – Välj körningen och bekräfta körningsparametrarna.
 - ▶ **Standalone** (Fristående) – Ange namnet på körningen och välj samma parametrar som originalkörningen.
- 7 Välj **Next** (Nästa) för att gå vidare till kontrollen före körning och starta körningen.

BeadChip och skanningsfel

Programmet kan inte läsa BeadChip-streckkoden

Välj ett av följande alternativ när dialogrutan om streckkodsfel visas:

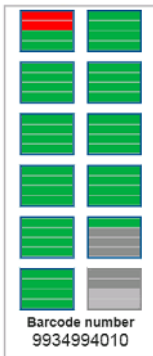
- ▶ Välj **Rescan** (Skanna om). Programmet försöker läsa streckkoden igen.
- ▶ Välj textfältet och ange streckkodens nummer så som visas på bilden. Streckkodsnummer kan bestå av upp till 12 siffror, beroende på BeadChip. Välj **Save** (Spara). Streckkods bilden sparas i utdatamappen.
- ▶ Välj **Cancel** (Avbryt). Luckan till avbildningsfacket öppnas för att du ska kunna ta ut BeadChip-adaptorn.

Fel vid BeadChip-skanning

Bilder registreras efter att de har skannats. Registreringen identifierar pärlor genom att korrelera platser på den skannade bilden med information från pärlmappen eller DMAP-mappen.

Sektioner som registreringen misslyckas för indikeras i rött på BeadChip-bilden.

Bild 28 BeadChip visar misslyckade sektioner



Knappen Rescan (Skanna om) blir aktiv när skanningen är slutförd och skanningsdata har skrivits till utdatamappen.

Programmet utför följande steg när Rescan (Skanna om) väljs:

- ▶ Skannar om prover som innehåller misslyckade sektioner med hjälp av en mer omfattande plattöverlappning.
- ▶ Genererar utdatafiler i den ursprungliga utdatamappen.
- ▶ Skriver över tidigare utdatafiler för misslyckade sektioner.
- ▶ Ökar skanningsräknaren med 1 för varje omskanning, men gör det i bakgrunden. Programmet behåller samma namn på utdatamappen.

Rescan (Skanna om) eller Start New Scan (Starta ny skanning)

- 1 Välj **Rescan** (Skanna om) för att skanna prover som innehåller misslyckade sektioner.
- 2 Avsluta skanningen om den fortsätter att misslyckas.
- 3 Avlägsna BeadChip och adaptorn och kontrollera om det finns damm eller skräp på BeadChip. Använd konserverad luft eller andra metoder med komprimerad luft för att ta bort skräpet.
- 4 Sätt i BeadChip igen och starta en ny skanning.
Programmet utför följande steg när en ny skanning startas:
 - ▶ Skannar hela BeadChip.
 - ▶ Genererar utdatafiler i en ny utdatamapp.
 - ▶ Ökar skanningräknaren med 1 baserat på skanningsantalet vid den senaste omskanningen.

Ersätta manifestfiler och klusterfiler

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

OBS! Var noga med att välja manifest- och klusterfiler som är kompatibla med NextSeq 550Dx-instrumentsystemet. Kompatibla filer har **NS550** i filnamnet.

- 3 Det är endast om platsen har ändrats som du ska uppdatera platsen på skärmen BeadChip Scan Configuration (Konfiguration av BeadChip-skanning) enligt följande:
 - a Välj **Manage Instrument** (Hantera instrument) på NCS-startskärmen.
 - b Välj **System Configuration** (Systemkonfiguration).
 - c Välj **BeadChip Scan Configuration** (Konfiguration av BeadChip-skanning).
- 4 Välj **Browse** (Bläddra) och gå till platsen där de ersatta eller uppdaterade filerna är sparade.

Anpassade recept och receptmappar

Ändra inte originalrecept. Spara alltid en kopia av originalreceptet med ett nytt namn. Om ett originalrecept ändras kan programvaruuppdateraren inte längre känna igen receptet vid kommande uppdateringar och nya versioner kommer inte att installeras.

Spara anpassade recept i lämplig receptmapp. Receptmappar är organiserade enligt följande.

- 📁 **Custom (Anpassade)**
 - 📁 **High** (Höga) – Anpassade recept som används med en sats med hög effekt.
 - 📁 **Mid** (Medelhöga) – Anpassade recept som används med en sats med medelhög effekt.
- 📁 **High** (Höga) – Originalrecept som används med en sats med hög effekt.
- 📁 **Mid** (Medelhöga) – Originalrecept som används med en sats med medelhög effekt.
- 📁 **Wash** (Tvätt) – Innehåller receptet för manuell tvätt.

RAID-felmeddelande

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

Du kan fortsätta med körningskonfigurationsstegen och normal drift. Syftet med meddelandet är att schemalägga service i förväg för att undvika avbrott i den normala driften av instrumentet. RAID-varningen kan endast bekräftas av en administratör. Att använda instrumentet med endast en hårddisk kan leda till dataförlust.

Konfigurera systeminställningar

Systemet konfigureras under installationen. Om en ändring krävs eller om systemet måste omkonfigureras ska du däremot använda systemkonfigurationsalternativen. Endast ett Windows-administratörskonto har behörighet att komma åt systemkonfigurationsalternativen.

- ▶ **Network Configuration** (Nätverkskonfiguration) – Alternativ för IP-adressinställningar, adresser till en domännamnsserver (DNS), datornamn och domännamn.

Ställa in nätverkskonfigurationen

- 1 Välj **System Configuration** (Systemkonfiguration) på skärmen Manage Instrument (Hantera instrument).
- 2 Välj **Obtain an IP address automatically** (Hämta en IP-adress automatiskt) för att hämta IP-adressen med DHCP-servern.

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

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

- ▶ Ange IP-adressen. IP-adressen är en serie med fyra tal som åtskiljs av punkter, till exempel 168.62.20.37.
 - ▶ Ange nätmasken, vilket är en underavdelning i IP-nätverket.
 - ▶ Ange standardgatewayen, det vill säga routern i nätverket som ansluter till internet.
- 3 Välj **Obtain a DNS server address automatically** (Erhåll en DNS-serveradress automatiskt) för att ansluta instrumentet till den domännamnsserver som är kopplad till IP-adressen. Alternativt väljer du **Use the following DNS server addresses** (Använd nedanstående DNS-serveradresser) för att ansluta instrumentet till domännamnsservern manuellt på nedanstående sätt.
- ▶ Ange den önskade DNS-adressen. DNS-adressen är det servernamn som används för att översätta domännamn till IP-adresser.
 - ▶ Ange den alternativa DNS-adressen. Den alternativa adressen används om den valda DNS-adressen inte kan översätta ett visst domännamn till en IP-adress.
- 4 Välj **Save** (Spara) för att gå vidare till skärmen Computer (Dator).

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

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

Ställa in analyskonfiguration

- 1 Välj **System Configuration** (Systemkonfiguration) på skärmen Manage Instrument (Hantera instrument).
- 2 Välj **Analysis Configuration** (Analyskonfiguration).
- 3 Välj från följande alternativ för att ange en plats där data överförs för efterföljande analys.
 - ▶ Välj **BaseSpace** för att skicka sekvenseringsdata till Illumina BaseSpace. **[Valfritt]** Markera kryssrutan **Output Folder** (Utdata-mapp), välj **Browse** (Bläddra) och gå till en sekundär nätverksplats för att spara BCL-filer utöver BaseSpace.
 - ▶ Välj **BaseSpace Onsite**. I fältet Server Name (Servernamn) anger du den fullständiga sökvägen till din BaseSpace Onsite-server. **[Valfritt]** Markera kryssrutan **Output Folder** (Utdata-mapp), välj **Browse** (Bläddra) och gå till en sekundär nätverksplats för att spara BCL-filer utöver BaseSpace Onsite-servern.

- ▶ Välj **Standalone instrument** (Fristående instrument) för att endast spara data till en nätverksplats. Välj **Browse** (Bläddra) och gå till önskad nätverksplats. Kontrollprogrammet genererar automatiskt utdatamappens namn.
 - ▶ **[Valfritt]** Använd **Use Run Monitoring** (Använd körningsövervakning) för att övervaka körningen med hjälp av visualiseringsverktyg i BaseSpace. En BaseSpace-inloggning och internetanslutning krävs.
- 4 Om du har valt BaseSpace eller BaseSpace Onsite ska du ställa in BaseSpace-parametrarna enligt följande.
 - ▶ Ange **User Name** (Användarnamn) och **Password** (Lösenord) för BaseSpace för att registrera instrumentet med BaseSpace.
 - ▶ Välj **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Använd standardinloggning och åsidosätt BaseSpace-inloggningsskärmen) för att ställa in det registrerade användarnamnet och lösenordet som standardinloggning. Den här inställningen åsidosätter BaseSpace-skärmen under körningskonfigurationen.
- 5 Markera **Send Instrument Performance Data to Illumina (Skicka instrumentets prestandadata till Illumina)** för att aktivera övervakningstjänsten Illumina Proactive. Namnet på inställningen i programmets gränssnitt kan skilja sig från namnet i den här guiden, beroende på vilken version av NCS som används.

När inställningen är aktiverad skickas instrumentets prestandadata till Illumina. Informationen gör det enklare för Illuminas tekniska support att felsöka och upptäcka potentiella fel, vilket möjliggör förebyggande underhåll och maximerar instrumentets drifttid. Mer information om tjänstens fördelar finns i *Teknisk dokumentation för Illumina Proactive (dokumentnr 1000000052503_SWE)*.

Tjänsten:

 - ▶ skickar inte sekvenseringsdata
 - ▶ kräver att instrumentet är anslutet till ett nätverk med internetanslutning
 - ▶ är inaktiverad som standard. Aktivera inställningen **Send Instrument Performance Data to Illumina (Skicka instrumentets prestandadata till Illumina)** om du vill använda tjänsten.
- 6 Välj **Save** (Spara).

Konfiguration av BeadChip-skanning

- 1 Välj **System Configuration** (Systemkonfiguration) på skärmen Manage Instrument (Hantera instrument).
- 2 Välj **BeadChip Scan Configuration** (Konfiguration av BeadChip-skanning).
- 3 Välj **Browse** (Bläddra) och navigera till önskad mapp i ditt nätverk för att ange en standardplats för DMAP-mappen.

OBS! Ladda ned och kopiera DMAP-innehållet till den här platsen innan varje skanning. DMAP-innehåll krävs för varje BeadChip och är unikt för varje BeadChip-streckkod.
- 4 Välj **Browse** (Bläddra) och navigera till önskad mapp i ditt nätverk för att ange en standardplats för utdata.
- 5 Välj ett bildfilformat för sparade bilder. Standardformatet är **JPG**.
- 6 Välj ett utdatafilformat för skanningsdata. Standardformatet är **endast GTC**.
- 7 Välj **Save** (Spara).

- 8 På skärmen Scan Map (Skanningsmapp) anger du den fullständiga sökvägen till manifestfilen och klusterfilen för varje BeadChip-typ. Välj **Browse** (Bläddra) för varje filtyp och gå till mappen som innehåller filerna.
- 9 **[Valfritt]** Välj **Hide Obsolete BeadChips** (Dölj inaktuella BeadChips) för att ta bort inaktuella BeadChips från vyn.
- 10 Välj **Save** (Spara).

Bilaga B Realtidsanalys

| | |
|--------------------------------------|----|
| Översikt över realtidsanalys | 55 |
| Arbetsflöde för realtidsanalys | 56 |

Översikt över realtidsanalys

NextSeq 550Dx-instrumentet använder RTA2-versionen av programvaran för realtidsanalys (RTA). RTA2 körs på instrumentdatorn och extraherar intensiteter från bilder, utför basbestämningar och tilldelar ett kvalitetsresultat till basbestämningen. RTA2 och systemprogramvaran kommunicerar via ett webbgränssnitt och delade minnesfiler. Om RTA2 avslutas går det inte att återuppta bearbetningen eller att spara körningsdata.

RTA2-indata

RTA2 behöver följande indata för bearbetning:

- ▶ Plattbilder från det lokala systemets minne.
- ▶ **RunInfo.xml** som skapas automatiskt när en körning påbörjas och innehåller körningsnamnet, antalet cykler, om en avläsning är indexerad och antalet plattor på flödescellen.
- ▶ **RTA.exe.config** programvarukonfigurationsfil i XML-format.

RTA2 tar emot kommandon från systemprogramvaran om sökvägen till **RunInfo.xml** och om det har angetts en utdatamapp (valfritt).

RTA2-utdatafiler

Bilder för varje kanal **sparas** i minnet som plattor. Plattor är små avbildningsområden på flödescellen som fungerar som kamerans synfält. Programvaran använder bilderna för att generera utdata som en uppsättning kvalitetsbestämda basbestämningsfiler och filterfiler. Alla andra filer är stödutdatafiler.

| Filtyp | Beskrivning |
|--------------------------|--|
| Basbestämningsfiler | Varje platta som analyseras ingår i en sammanslagen basbestämningsfil (*.bcl.bgzf) för varje spår och varje cykel. Den sammanslagna basbestämningsfilen innehåller basbestämningen och åtföljande kvalitetsresultat för varje kluster. |
| Filterfiler | Varje platta genererar filterinformation som sammanställs i en filterfil (*.filter) för varje spår. Filterfilen anger om ett kluster passerar filtret. |
| Klusterplaceringsfiler | Klusterplaceringsfiler (*.locs) innehåller X- och Y-koordinaterna för varje kluster på en platta. En klusterplaceringsfil genereras för varje spår när en mall skapas. |
| Basbestämningsindexfiler | En basbestämningsindexfil (*.bci) genereras för varje spår för att bevara den ursprungliga plattinformationen. Indexfilen innehåller två värden för varje platta – plattnumret och antalet kluster för den plattan. |

RTA2 ger realtidsmått för körningskvalitet som lagras som InterOp-filer. InterOp-filer är binära utdata som innehåller mått för plattor, cykler och avläsningsnivå.

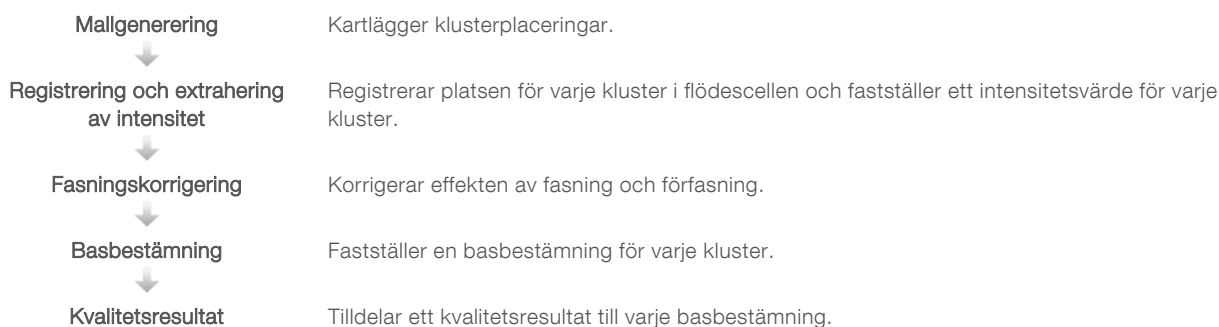
Felhantering

RTA2 skapar loggfiler och skriver dem till mappen RTALogs (RTA-loggar). Fel registreras i en felfil i filformatet *.tsv.

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

- ▶ *GlobalLog*.tsv sammanfattar viktiga körningshändelser.
- ▶ *LaneNLog*.tsv listar bearbetningshändelser för varje spår.
- ▶ *Error*.tsv listar fel som inträffat under en körning.
- ▶ *WarningLog*.tsv listar varningar som inträffat under en körning.

Arbetsflöde för realtidsanalys



Mallgenerering

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

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

OBS! Det måste finnas minst en bas utöver G i de första **5** cyklerna för att ett kluster ska identifieras under mallgenerering. För alla indexsekvenser kräver RTA2 minst en annan bas än G i de första **2** cyklerna.

Mallen används som referens för efterföljande steg för registrering och extrahering av intensitet. Klusterpositioner för hela flödescellen skrivs till klusterplatsfiler (*.locs), en fil för varje spår.

Registrering och extrahering av intensitet

Registrering och extrahering av intensitet börjar efter mallgenereringen.

- ▶ Registreringen anpassar bilder som produceras under varje efterföljande avbildningscykel efter mallen.
- ▶ Intensitetsextraktion fastställer ett intensitetsvärde för varje kluster i mallen för en specifik bild.

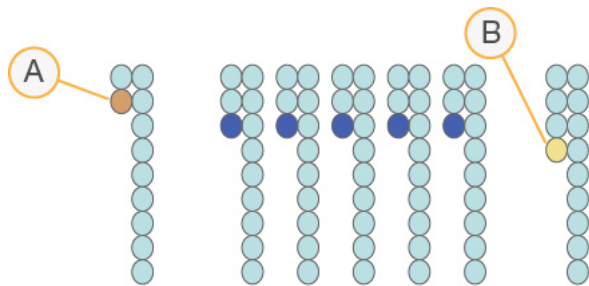
Om registreringen misslyckas för bilder i en cykel genereras inga basbestämningar för den plattan i den cykeln.

Fasningskorrigerig

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

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

Bild 29 Fasning och förfasning



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

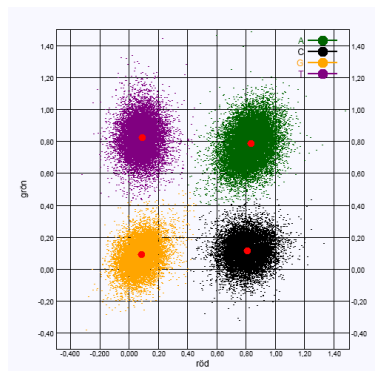
RTA2 korrigerar effekterna av fasning och förfasning så att datakvaliteten maximeras för varje cykel i körningen.

Basbestämning

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

Resultatet av de intensiteter som extraheras från en bild och jämförs mot en annan bild är fyra distinkta populationer som var och en motsvarar en nukleotid. Basbestämning bestämmer vilken population varje kluster tillhör.

Bild 30 Visualisering av klusterintensiteter



Tabell 1 Basbestämning i tvåkanalssekvensering

| Bas | Röd kanal | Grön kanal | Resultat |
|-----|-----------|------------|---|
| A | 1 (på) | 1 (på) | Kluster som visar intensitet i både röda och gröna kanaler. |
| C | 1 (på) | 0 (av) | Kluster som endast visar intensitet i den röda kanalen. |
| G | 0 (av) | 0 (av) | Kluster som inte visar någon intensitet vid en känd klusterplats. |
| T | 0 (av) | 1 (på) | Kluster som endast visar intensitet i den gröna kanalen. |

Kluster som passerar filtret

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

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

Att ta hänsyn till vid indexering

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

Indexläsningar måste börja med minst en annan bas än G i någon av de första två cyklerna.

Om en indexläsning börjar med två basbestämningar av G genereras inte någon signalintensitet.

Signalen måste finnas i någon av de första två cyklerna för att demultiplexeringen ska fungera.

Öka demultiplexeringens robusthet genom att välja indexsekvenser som ger signal i minst en kanal, helst båda kanalerna, för varje cykel. Genom att följa den här riktlinjen kan du undvika indexkombinationer som endast resulterar i G-baser i alla cykler.

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

Den här processen för basbestämning säkerställer att resultatet blir rättvisande vid analys av lågplex-prover.

Kvalitetsresultat

Ett kvalitetsresultat, eller ett Q-resultat, mäter sannolikheten för en felaktig basbestämning.

Ett högt Q-resultat indikerar att en basbestämning är av bra kvalitet och sannolikt är korrekt.

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

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

OBS! Kvalitetsresultat baseras på en anpassad version av Phred-algoritmen.

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

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

Bilaga C Utdatafiler och -mappar

| | |
|--------------------------------------|----|
| Utdatafiler från sekvensering | 59 |
| Mappstruktur för utdata | 61 |
| Skanna utdatafiler | 62 |
| Skanna mappstruktur för utdata | 63 |

Utdatafiler från sekvensering

| Filtyp | Filbeskrivning, plats och namn |
|-------------------------|--|
| Basbestämningsfiler | Varje platta som analyseras ingår i en basbestämningsfil, samlade i en fil per spår, för varje cykel. Den sammanslagna filen innehåller basbestämningen och ett kodat kvalitetsresultat för varje kluster i det spåret. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer sparas i en mapp för varje spår. [cykel].bcl.bgzf, där [cykel] representerar cykelnumret med fyra siffror. Basbestämningsfiler komprimeras till gzip-format. |
| Basbestämningsindexfil | För varje spår listar en binär indexfil den ursprungliga plattinformationen med två värden för varje platta – plattnumret och antalet kluster för den plattan. Basbestämningsindexfiler skapas första gången som en basbestämningsfil skapas för det spåret. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer sparas i en mapp för varje spår. s_[spår].bci |
| Klusterplaceringsfiler | För varje platta sammanslås XY-koordinaterna för varje kluster i en klusterplaceringsfil för varje spår. Klusterplaceringsfiler är resultatet av mallgenerering. Data\Intensities\L00[X] – Filer sparas i en mapp för varje spår. s_[spår].locs |
| Filterfiler | Filterfilen anger om ett kluster passerar filtret. Filterinformation samlas i en filterfil för varje spår och avläsning. Filterfiler genereras under cykel 26 med data från de föregående 25 cyklerna. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – Filer sparas i en mapp för varje spår. s_[spår].filter |
| InterOp-filer | Binära rapporteringsfiler. InterOp-filer uppdateras under hela körningen. InterOp-mapp |
| RTA-konfigurationsfil | RTA-konfigurationsfilen skapas i början av körningen och listar körningens inställningar. [rotmapp], RTAConfiguration.xml |
| Körningsinformationsfil | Listar körningsnamnet, antalet cykler i varje avläsning, om avläsningen är en indexavläsning och antalet strängar och plattor på flödescellen. Körningsinformationsfilen skapas i början av körningen. [rotmapp], RunInfo.xml |

Flödescellsplattor

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

Tabell 2 Flödescellsplattor

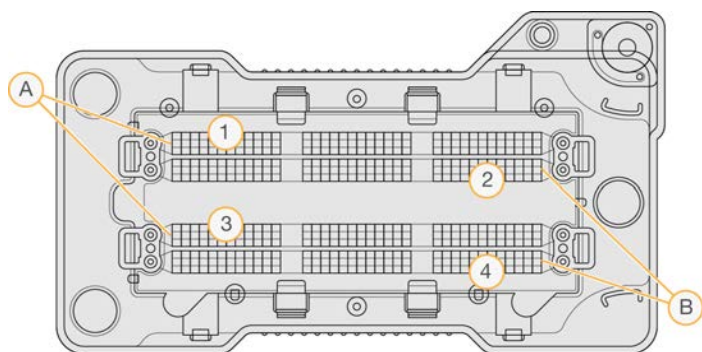
| Flödescellskomponent | Högproduktiv | Beskrivning |
|----------------------|--------------|--|
| Spår | 4 | Ett spår är en fysisk kanal med dedikerade in- och utportar. |
| Ytor | 2 | Flödescellen avbildas på två ytor, en övre och en nedre. Den övre ytan på platta 1 avbildas, sedan avbildas samma plattas nedre yta innan nästa platta avbildas. |

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

Spårnumrering

Spår 1 och 3, kallas för spårpar A, avbildas samtidigt. Spår 2 och 4, kallas för spårpar B, avbildas när avbildningen av spårpar A har slutförts.

Bild 31 Spårnumrering

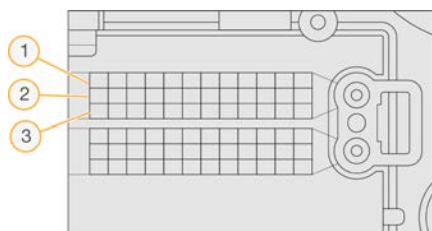


- A Spårpar A – Spår 1 och 3
- B Spårpar B – Spår 2 och 4

Strängnumrering

Varje spår avbildas i tre strängar. Strängarna är numrerade 1–3 för högproduktiva flödesceller.

Bild 32 Strängnumrering

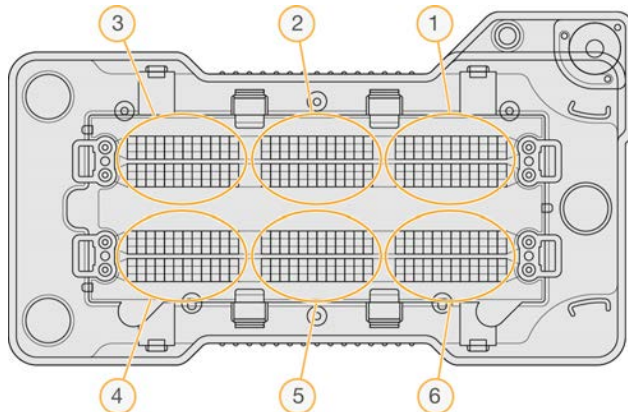


Kameranumrering

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

Kamerorna är numrerade 1–6. Kamera 1–3 för bildspår 1. Kamera 4–6 för bildspår 3. Efter det att spår 1 och 3 har avbildats rör sig avbildningsmodulen vidare på X-axeln till bildspår 2 och 4.

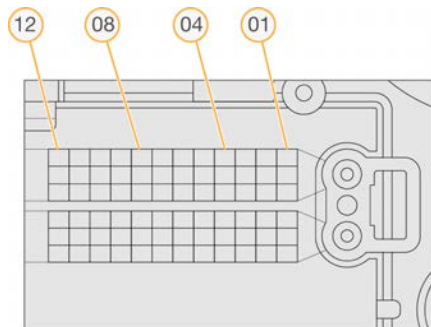
Bild 33 Numrering av kamera och segment (en högproduktiv flödescell visas)



Plattnumrering

Det finns 12 plattor i varje sträng i varje kamerasegment. Plattorna är numrerade 01–12, oavsett strängnummer eller kamerasegment, och representeras med två siffror.

Bild 34 Plattnumrering



Det fullständiga plattnumret har fem siffror som representerar platsen, enligt följande:

- ▶ **Surface** (Yta) – 1 representerar den övre ytan och 2 representerar den nedre ytan.
- ▶ **Swath** (Sträng) – 1, 2 eller 3.
- ▶ **Camera** (Kamera) – 1, 2, 3, 4, 5 eller 6.
- ▶ **Tile** (Platta) – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 eller 12.

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

Det kompletta 5-siffriga plattnumret används i filnamnet för miniatyrbilder och empiriska fasningsfiler. Mer information finns i avsnittet *Utdatafiler från sekvensering på sidan 59*.

Mappstruktur för utdata

Systemprogramvaran genererar utdatamappnamnet automatiskt.

📁 Data

📁 Intensities (Intensiteter)

📁 BaseCalls (Basbestämningar)

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

 **L002** – Basbestämningsfiler för spår 2, samlade i en fil per cykel.

 **L003** – Basbestämningsfiler för spår 3, samlade i en fil per cykel.

 **L004** – Basbestämningsfiler för spår 4, samlade i en fil per cykel.

 **L001** – En samlad *.locs-fil för spår 1.

 **L002** – En samlad *.locs-fil för spår 2.

 **L003** – En samlad *.locs-fil för spår 3.

 **L004** – En samlad *.locs-fil för spår 4.

 **Images** (Bilder)

 **Focus** (Fokus)


 **L001** – Fokusbilder för spår 1.

 **L002** – Fokusbilder för spår 2.

 **L003** – Fokusbilder för spår 3.

 **L004** – Fokusbilder för spår 4.

 **InterOp** – Binära filer.

 **Logs** (Loggar) – Loggfiler som beskriver operativa steg.

 **Recipe** (Recept) – En körningsspecifik receptfil med reagenskassetten ID.

 **RTALogs** (RTA-loggar) – Loggfiler som beskriver analysstegen.

 RTAComplete.txt

 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

Skanna utdatafiler

| Filtyp | Filbeskrivning, plats och namn |
|-----------|--|
| GTC-filer | Genotypbestämningsfil. En GTC-fil genereras för varje prov som skannas på BeadChip. Filnamnet innehåller streckkoden och provet som har skannats. [streckkod]_[prov].gtc |
| Bildfiler | Bildfiler får sina namn i enlighet med det område som skannas på BeadChip. Namnet innehåller streckkoden, provet och sektionen på BeadChip, sträng samt avbildningskanal (röd eller grön). [streckkod]_[prov]_[sektion]_[sträng]_[kamera]_[platta]_[kanal].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Streckkod – Filnamnet börjat med BeadChip-streckkoden. • Prov – Ett område på BeadChip som är numrerat som en rad (ROX), uppifrån och ned, samt kolumn (COX), från vänster till höger. • Sektion – En numrerad rad inom ett prov. • Sträng – BeadChips avbildas som en uppsättning överlappande plattor. Därför används endast en sträng för att avbilda sektionen. • Kamera – Kameran som används för att ta bilden. • Platta – Ett avbildningsområde som definieras som kamerans synfält. • Kanal – En kanal är antingen röd eller grön. |

Skanna mappstruktur för utdata

📁 [datum]_[instrumentnamn]_[skanningsnr]_[streckkod]

📁 [streckkod]

📁 Config (Konfiguration)

📄 Effective.cfg – Registrerar konfigurationsinställningar som används under skanningen.

📁 Focus (Fokus) – Innehåller bildfiler som används för att fokusera skanningen.

📁 Logs (Loggar) – Innehåller loggfiler där varje steg som utförs under skanningen listas.

📁 PreScanDiagnosticFiles (Förskanning av diagnostikfiler)

📁 [datum_tid] Barcode Scan (Streckkodsskanning)

📄 ProcessedBarcode.jpg – Bild på BeadChip-streckkoden.

📄 Skanningsdiagnostik (loggfiler)

📄 PreScanChecks.csv – Registrerar resultat från den automatiska kontrollen.

📄 GTC-filer – Genotypbestämningsfiler (en fil per prov).

📄 IDAT-filer – [Valfritt] Intensitetsdatafiler (två filer per prov, en per kanal).

📄 Bildfiler – Skanningsbilder för varje prov, sektion, sträng, kamera, platta och kanal.

📄 [streckkod]_sample_metrics.csv

📄 [streckkod]_section_metrics.csv

📄 ScanParameters.xml

Index

A

- adapter
 - BeadChip-laddning 31
 - BeadChip-riktning 29
 - översikt 5
- analys
 - utdatafiler 59
- analys, primär
 - signalrenhet 58
- användarnamn och lösenord 11
- arbetsflöde
 - att ta hänsyn till vid indexering 58
 - avancerat laddningsalternativ 13
 - BaseSpace-inloggning 18
 - BaseSpace-läge 23
 - BeadChip 31
 - buffertkassett 21
 - flödescell 18
 - fristående läge 23
 - förberedelse av flödescell 17
 - förbrukade reagenser 19
 - kontroll före körning 24, 31
 - körningslängd 15-16
 - körningsmått 25
 - natriumhypoklorit 36
 - reagenskassett 21
 - sekvensering 56
 - översikt 16, 28
- arbetsflöde för sekvensering 16
- att ta hänsyn vid indexering 58
- avancerat laddningsalternativ 13
- avbildning,tvåkanalssekvensering 57
- avbildningsfack 3
- avläsningslängd 15-16

B

- basbestämning 57
 - att ta hänsyn till vid indexering 58
- basbestämningsfiler 59
- BaseSpace 51
 - inloggning 18
- BaseSpace-konfiguration 23
- BeadChip
 - adapter 5, 29
 - analys 1
 - laddning 31
 - registreringsfel 48
 - strekkoden kan inte läsas 48

- strekkodens riktning 29
- typer 1
- BlueFuse Multi-program 1
- buffertfack 3
- buffertkassett 9, 21

C

- cykler i en avläsning 15

D

- dataöverföring
 - skanning av data 33
 - universal copy service 25
- Decode File Client 27
 - åtkomst via BeadChip 29
 - åtkomst via konto 28
- DMAP-mapp
 - Decode File Client 27
 - ladda ned 28
- dokumentation 2

E

- empirisk fasning 56

F

- fasning,förfasning 56
- fel och varningar 4, 55
- fel vid kontroll före körning 44
- felsökning
 - behållare för förbrukade reagenser 46
 - ersätta manifest- och klusterfiler 49
 - fel vid skanningsregistrering 48
 - kan inte läsa BeadChip-streckkod 48
 - kontroll före körning 44
 - körningsspecifika filer 43
 - mått av låg kvalitet 46
 - skanningsspecifika filer 44
- filterfiler 59
- flödescell
 - avbildning 60
 - förpackning 17
 - inpassningsstift 18
 - plattnumrering 61
 - plattor 59

- rehybridisering 46
- rengöring 17
- spårnumrering 60
- spårpar 7
- strängnummer 60
- översikt 7
- formamid, position 6 22
- fristående konfiguration 23
- förbrukade reagenser
 - full behållare 46
 - kassering 19, 37
- förbrukningsmaterial 6
 - buffertkassett 9
 - flödescell 7
 - förbrukningsmaterial för tvätt 35-36
 - instrumentunderhåll 13
 - reagenskassett 8
 - sekvenseringskörning 13
 - vatten av laboratriekvalitet 14
- förbrukningsmaterial som tillhandahålls av användaren 13
- förebyggande underhåll 35

G

GTC-filer 62

H

- hantera instrument
 - stänga av 41
- hjälp
 - dokumentation 2

I

- ikoner
 - fel och varningar 4
 - status 4
- indatafiler, skanning
 - DMAP-mapp 27
 - DMAP-mapp, nedladdning 28
 - klusterfiler 27, 49
 - manifestfiler 27, 49
- instrument
 - avatar 12
 - konfigurationsinställningar 50
 - lägesindikatorer 12
 - omstart 41
 - smeknamn 12

- start 11
- starta om 41
- strömbrytare 5
- stänga av 41
- instrumenttvätt 35
- instrumentunderhåll
 - förbrukningsmaterial 13
- intensiteter 57
- InterOp-filer 43, 59

K

- kameranumerering 60
- kluster som passerar filtret 58
- klustergenerering 15, 25
- klusterplacering
 - filer 59
 - mallgenerering 56
- kompatibilitet
 - flödescell, reagenskassett 6
 - RFID-spårning 6, 8
- komponenter
 - avbildningsfack 3
 - buffertfack 3
 - reagensfack 3
 - statusfält 3
- konfiguration 51
- konfigurationsinställningar 50
- kontroll före körning 24, 31
- kontrollprogram 4
- körningskonfiguration, avancerat alternativ 13
- körningslängd 15-16
- körningsmått 25
- körningsparametrar
 - BaseSpace-läge 23
 - fristående läge 23
 - redigera parametrar 23

L

- ljud 12
- locs-filer 59
- luftfilter 4, 38

M

- mallgenerering 56
- mappsökväg 23
- mått
 - basbestämning 57

intensitetscykler 25
klustertäthetscykler 25

N

natriumhypoklorit, tvätt 36

O

omstart 41
instrument 41
onlineutbildning 2

P

passerar filter (PF) 58
Phred-algoritm 58
plattnumrering 61
primerrehybridisering 46
program
automatisk uppdatering 40
bildanalys, basbestämning 4
i instrumentet 4
manuell uppdatering 40
programvara
initiering 11
konfigurationsinställningar 50
körningslängd 15-16
programvara för realtidsanalys
arbetsflöde 56
fasning 56

Q

Q-resultat 58

R

RAID-felmeddelande 50
reagens
sats 6
reagenser
korrekt kassering 21
reagensfack 3
reagenskassett
behållare 28 36
behållare 6 22
översikt 8
Real-Time Analysis 4

realtidsanalysprogramvara
resultat 59
rehybridisering, Read 1 (Avläsning 1) 46
renhetsfilter 58
RFID-spårning 6
riktlinjer för vatten av laboratoriekvalitet 14
RunInfo.xml 43, 59
RUO-läge 12

S

sannolikhet för fel 58
sekvenser
förbrukningsmaterial som tillhandahålls av
användaren 13
introduktion 15
sekvenseringsarbetsflöde 56
skanna utdatafiler
GTC, IDAT 62
spårnumrering 60
spårpar 60
starta om
instrument 41
starta om till forskningsläge 12
statusaviseringar 4
statusfält 3
strängnumrering 60
strömbrytare 5, 11
stänga av instrumentet 41
systemets användarnamn och lösenord 11
systeminställningar 12

T

tangentbord 12
teknisk hjälp, hjälp, teknisk, kundtjänst,
dokumentation 69
tvätt
automatisk 26
förbrukningsmaterial som tillhandahålls av
användaren 35
manuell tvätt 35
tvättkomponenter 35
tvätt efter körning 26
tömma förbrukningsmaterial 13

U

underhåll, förebyggande 35
Universal Copy Service 25

uppdatera program 39
utdatafiler 59
utdatafiler, sekvensering 59
utdatafiler, skanning
GTC, IDAT 62

W

Windows
avsluta 41

Ö

övervakningstjänsten Illumina Proactive 51

Teknisk hjälp

Kontakta Illuminas tekniska support för all form av teknisk hjälp.

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

Telefonnummer till Illuminas kundtjänst

| Region | Avgiftsfritt | Lokalt |
|----------------|-----------------|----------------|
| Nordamerika | +1 800-8094566 | |
| Australien | +1 800-775688 | |
| Belgien | +32 80077160 | +32 34002973 |
| Danmark | +45 80820183 | +45 89871156 |
| Finland | +358 800918363 | +358 974790110 |
| Frankrike | +33 805102193 | +33 170770446 |
| Hongkong, Kina | 800960230 | |
| Irland | +353 1800936608 | +353 016950506 |
| Italien | +39 800985513 | +39 236003759 |
| Japan | 0800-1115011 | |
| Kina | 400-0665835 | |
| Nederländerna | +31 8000222493 | +31 207132960 |
| Norge | +47 800 16836 | +47 21939693 |
| Nya Zeeland | 0800-451650 | |
| Schweiz | +41 565800000 | +41 800200442 |
| Singapore | +1 800-5792745 | |
| Spanien | +34 911899417 | +34 800300143 |
| Storbritannien | +44 8000126019 | +44 2073057197 |
| Sverige | +46 850619671 | +46 200883979 |
| Sydkorea | +82 80 234 5300 | |
| Taiwan, Kina | 00806651752 | |
| Tyskland | +49 8001014940 | +49 8938035677 |
| Österrike | +43 800006249 | +43 19286540 |
| Övriga länder | +44 1799-534000 | |

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

Produktdokumentation – Kan hämtas på support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 USA

+1 800-8094566

+1 858-2024566 (utanför Nordamerika)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Endast för forskningsbruk. Inte för användning i diagnostiska procedurer.

© 2021 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

illumina®