

„NextSeq 550Dx“ mokslinių tyrimų režimas

Prietaiso informacinis vadovas



Šis dokumentas ir jo turinys priklauso „Illumina, Inc.“ ir jos filialams („Illumina“), jis skirtas tik klientui naudoti pagal sutartį, kiek tai susiję su čia aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimu, ir jokiai kitu tikslu. Šis dokumentas ir jo turinys negali būti naudojami ar platinami jokiai kitu tikslu ir (arba) kitaip negali būti pateikiami, atskleidžiami ar atkuriami kokiu nors būdu be išankstinio rašytinio „Illumina“ sutikimo. „Illumina“ šiuo dokumentu neperduoda jokios trečiosios šalies licencijos pagal jos patentą, prekės ženklą, autorių teises, bendras teises nei panašių teisių.

Kvalifikuotas ir tinkamai išmokytas personalas turi griežtai ir aiškiai vadovautis šiame dokumente pateiktomis instrukcijomis, kad būtų užtikrintas tinkamas ir saugus šiame dokumente aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimas. Prieš naudojant tokį (-ius) produktą (-us), visas šio dokumento turinys turi būti išsamiai perskaitytas ir suprastas.

JEI NEBUS PERSKAITYTOS VISOS ČIA PATEIKTOS INSTRUKCIJOS IR JOMIS NEBUS AIŠKIAI VADOVAUJAMASI, GALIMAS PRODUKTO (-Ų) PAŽEIDIMAS, NAUDOTOJO BEI KITŲ ASMENŲ SUŽEIDIMAS IR ŽALA KITAI NUOSAVYBEI, BE TO, TAI PANAIKINA PRODUKTUI (-AMS) TAIKOMOS GARANTIJOS GALIOJIMĄ.

„ILLUMINA“ NEPRISIIMA JOKIOS ATSAKOMYBĖS, JEI ČIA APRAŠOMAS (-I) PRODUKTAS (-AI) (ISKAITANT DALIS IR PROGRAMINĘ ĮRANGĄ) NAUDOJAMAS (-I) NETINKAMAI.

© 2021 m. „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

Visi prekių ženklai priklauso „Illumina, Inc.“ ar kitiems savininkams. Informacijos apie konkrečius prekių ženklus ieškokite adresu www.illumina.com/company/legal.html.

Keitimo istorija

Dokumentas	Data	Keitimo aprašas
Dokumento Nr. 1000000041922 v03	2021 m. spalio mėn.	Į sekų nustatymo vykdymo patikrų skiltį įtrauktas pranešimas apie 7 dienų laikmatį Atnaujinta sekos nustatymo darbo eiga pridėjus skyrių apie serijos sukūrimą naudojant „Local Run Manager“ programinę įrangą. Pakeista stabilumo riba Prie „BeachChip“ tipų pridėtas „Infinium Methylation EPIC“ Atnaujinti piktogramų vaizdai, kad būtų atspindėti naudotojo sąsajos pakeitimai.
Dokumento Nr. 1000000041922 v02	2020 m. lapkričio mėn.	Atnaujintas paveikslėlis dalyje „Rankinis plovimas“, kad būtų pavaizduotos naujos reagentų plovimo ir buferinio tirpalo plovimo kasetės. Atnaujinta būsenos juostos informacija, įtraukiant papildomų spalvų.
Dokumento Nr. 1000000041922 v01	2018 m. kovo mėn.	Pridėta informacijos apie „Illumina Proactive“ stebėjimo paslaugą skyriuje „Sistemos nuostatų konfigūravimas“.
Dokumento Nr. 1000000041922 v00	2017 m. lapkritis	Pirmasis leidimas.

Turinys

1 skyrius. Apžvalga	1
Apie šį vadovą	1
Įvadas	1
Papildomi ištekliai	2
Prietaiso komponentai	3
Reagentų rinkinio apžvalga	6
Sekos nustatymo eksploatacinių medžiagų apžvalga	6
2 skyrius. Darbo pradžia	11
Prietaiso paleidimas	11
Sistemos nuostatų tinkinimas	12
Naudotojo pateikiamos eksploatacinės medžiagos ir įranga	13
3 skyrius. Sekoskaita	15
Įvadas	15
Sekos nustatymo darbo eiga	16
Reagentų kasetės paruošimas	16
Pratekamosios kiuvetės paruošimas	17
Bibliotekų parengimas nustatyti seką	17
Sekos nustatymo serijos nustatymas	18
Serijos eigos stebėjimas	24
Automatinis plovimas atlikus seriją	26
4 skyrius. Nuskaitymas	27
Įvadas	27
Darbo eigos nuskaitymas	28
DMAP aplanko atsisiuntimas	28
„BeadChip“ įdėjimas į adapterį	29
Nuskaitymo sąranka	30
Nuskaitymo eigos stebėjimas	32
5 skyrius. Priežiūra	35
Įvadas	35
Rankinis plovimas	35
Oro filtro keitimas	38
Programinės įrangos naujiniai	39
Paleidimo iš naujo ir išjungimo parinktys	41
A priedas. Trikčių šalinimas	43
Įvadas	43
Trikčių šalinimo failai	43
Automatinės patikros klaidų sprendimas	44
Panaudotų reagentų talpykla yra pilna	46

Pakartotinės hibridizacijos darbo eiga	46
„BeadChip“ ir nuskaitymo klaidos	48
Pasirinktiniai veikimo būdai ir veikimo būdų aplankai	50
RAID klaidos pranešimas	50
Sistemos nuostatų konfigūravimas	50
B priedas. Analizė realiuoju laiku	55
Analizės realiuoju laiku apžvalga	55
Analizės realiuoju laiku darbo eiga	56
C priedas. Išvesties failai ir aplankai	59
Sekos nustatymo išvesties failai	59
Išvesties aplanko struktūra	62
Išvesties failų nuskaitymas	63
Išvesties aplanko struktūros nuskaitymas	63
Indeksas	65
Techninė pagalba	69

1 skyrius. Apžvalga

Apie šį vadovą	1
Įvadas	1
Papildomi ištekliai	2
Prietaiso komponentai	3
Reagentų rinkinio apžvalga	6
Sekos nustatymo eksploatacinių medžiagų apžvalga	6

Apie šį vadovą

Šio prietaiso informaciniame vadove pateikiamos instrukcijos, kaip naudoti „NextSeq 550Dx“ prietaisą mokslinių tyrimų (RUO) režimu.

Įvadas

Sekos nustatymo funkcijos

- ▶ **Didelio pralaidumo sekos nustatymas** – „NextSeq™ 550Dx“ prietaisas įgalina DNR bibliotekų sekos nustatymą.
- ▶ **Analizė realiuoju laiku (RTA)** – atlieka vaizdo apdorojimą ir bazių priskyrimą. Daugiau informacijos žr. skyriuje *Analizė realiuoju laiku 55 psl.*
- ▶ **Prietaiso duomenų analizės galimybės** – analizės programinės įrangos analizės moduliai, nurodyti serijai, gali analizuoti serijos duomenis.
- ▶ **Dvigubas paleidimas** – „NextSeq 550Dx“ prietaise yra du kietieji diskai, kurie palaiko diagnostikos (Dx) ir mokslinių tyrimų (RUO) režimus.

Matricos nuskaitymo savybės

- ▶ **Integruotas matricos nuskaitymas valdymo programinėje įrangoje** – „NextSeq 550Dx“ prietaisas leidžia perėjimą tarp matricos nuskaitymo ir didelio našumo sekos nustatymo tame pačiame prietaise naudojant tą pačią valdymo programinę įrangą.
- ▶ **Išplėstinė vaizdavimo geoba** – vaizdavimo sistema prietaise „NextSeq 550Dx“ apima programinę įrangą ir sričių modifikacijas, kurios leidžia vaizduoti didesnę paviršiaus plotą, kad būtų galima suderinti „BeadChip“ nuskaitymą.
- ▶ **„BeadChip“ tipai** – suderinami „BeadChip“ tipai apima „CytoSNP-12“, „CytoSNP-850K“, „Infinium MethylationEPIC“ ir „Karyomap-12“.
- ▶ **„BeadChip“ adapteris** – daugkartinio naudojimo „BeadChip“ adapteris leidžia lengvai įdėti „BeadChip“ į prietaisą.
- ▶ **Duomenų analizė** – naudojama „BlueFuse® Multi“ programinė įranga matricos duomenims analizuoti.

Papildomi ištekliai

Toliau pateikiamus dokumentus galite atsisiųsti iš „Illumina“ svetainės.

Išteklis	Aprašas
„NextSeq 550Dx“ prietaiso vietos paruošimo vadovas (dokumento Nr. 100000009869)	Pateikti laboratorijų erdvės techniniai duomenys, elektros tinklo reikalavimai ir aplinkosaugos aspektai.
„NextSeq 550Dx“ prietaiso saugos ir atitikties vadovas (dokumento Nr. 100000009868)	Pateikta informacija apie darbo saugos aspektus, atitikties pareiškimus ir prietaiso ženklimą.
RFID skaitytuvo atitikties vadovas (dokumento Nr. 100000030332)	Pateikta informacija apie RFID skaitytuvą, atitikties sertifikatus ir saugos aspektus.
„NextSeq 550Dx“ mokslinių tyrimų režimo prietaiso informacinis vadovas (dokumento Nr. 100000041922)	Pateikta informacija apie prietaiso naudojimą ir trikčių šalinimo procedūras. Naudojama, kai „NextSeq 550Dx“ prietaisas naudojamas mokslinių tyrimų režimu su „NextSeq“ valdymo programine įranga (NCS) v3.0.
„NextSeq 550“ sistemos vadovas (dokumento Nr. 15069765)	Pateikta informacija apie prietaiso naudojimą ir trikčių šalinimo procedūras. Naudojama, kai „NextSeq 550Dx“ prietaisas naudojamas mokslinių tyrimų režimu su „NextSeq“ valdymo programine įranga (NCS) v4.0 arba naujesne.
„NextSeq 550“ sistemos vadovas	Pateikta prietaiso komponentų apžvalga, prietaiso naudojimo instrukcijos, priežiūros ir trikčių šalinimo procedūros.
„BaseSpace“ pagalba	Pateikta informacija apie „BaseSpace TM “ sekos centro naudojimą ir galimas analizės parinktis.

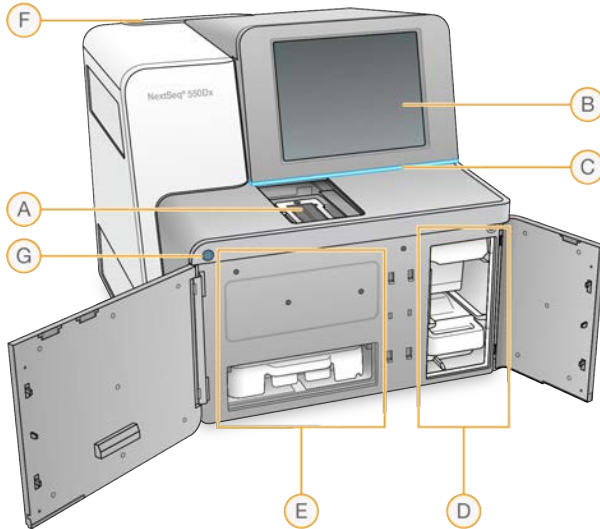
Apsilankykite „Illumina“ interneto svetainės [prietaiso „NextSeq 550Dx“ palaikymo puslapyje](#), kuriame rasite dokumentų, programinės įrangos atsisiuntimų, nuotolinių mokymų ir dažnai užduodamų klausimų.

Apsilankykite [„NextSeq 550Dx“ palaikymo puslapiuose](#), esančiuose „Illumina“ svetainėje, kad pasiektumėte dokumentus, programinės įrangos atsisiuntimus, nuotolinius mokymus ir dažniausiai užduodamus klausimus.

Prietaiso komponentai

Prietaise „NextSeq 550Dx“ yra jutiklinio ekrano monitorius, būsenos juosta ir 4 skyriai.

1 pav. Prietaiso komponentai



- A **Atvaizdavimo skyrius** – laiko pratekamąją kiuvetę vykdant sekos nustatymo seriją.
- B **Jutiklinio ekrano monitorius** – leidžia atlikti prietaiso konfigūravimą ir sąranką naudojant operacinės programinės įrangos sąsają.
- C **Būsenos juosta** – nurodo sistemos būseną: apdorojama (mėlyna), reikia atkreipti dėmesį (oranžinė), parengta sekoskaitai (žalia), paleidžiama (mainosi mėlyna ir balta), dar nepaleista (balta) arba reikalingas plovimas per artimiausias 24 val. (geltona).
- D **Buferinio tirpalo skyrius** – laikoma buferinio tirpalo kasetė ir panaudotų reagentų talpykla.
- E **Reagentų skyrius** – laikoma reagentų kasetė.
- F **Oro filtro skyrius** – laikomas oro filtras. Filtras pasiekiamas iš galinės prietaiso pusės.
- G **Maitinimo mygtukas** – įjungiamas arba išjungiamas prietaisas ir prietaiso kompiuteris.

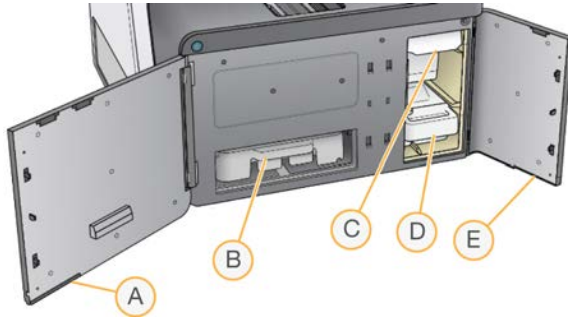
Atvaizdavimo skyrius

Atvaizdavimo skyriuje yra platforma, kurią sudaro trys sulygiavimo kaiščiai, skirti padėti pratekamajai kiuvetei. Įdėjus pratekamąją kiuvetę, atvaizdavimo skyriaus durelės užsidaro automatiškai ir perkelia komponentus į vietą.

Reagentų ir buferinio tirpalo skyriai

Nustatant sekoskaitos seriją prietaise „NextSeq 550Dx“, reikia pasiekti reagentų ir buferinio tirpalo skyrius, kad būtų galima įkelti serijos eksploatacines medžiagas ir ištuštinti panaudotų reagentų talpyklą.

2 pav. Reagentų ir buferinio tirpalo skyriai



- A **Reagentų skyriaus durelės** – reagentų skyrius uždaromas skląsčiu, esančiu po apatine dešiniąja durelių sritimi. Reagentų skyriuje laikoma reagentų kasetė.
- B **Reagentų kasetė** – reagentų kasetė yra iš anksto pripildyta vienkartinio naudojimo eksploatacinė medžiaga.
- C **Buferinio tirpalo kasetė** – buferinio tirpalo kasetė yra iš anksto pripildyta vienkartinio naudojimo eksploatacinė medžiaga.
- D **Panaudotų reagentų talpykla** – panaudoti reagentai po kiekvienos serijos surenkami, kad būtų pašalinti.
- E **Reagentų skyriaus durelės** – uždaro buferinio tirpalo skyrių skląstimi apatiniame kairiajame durelių kampe.

Oro filtro skyrius

Oro filtro skyriuje yra oro filtras; šis skyrius yra prietaiso galinėje dalyje. Oro filtrą keiskite kas 90 dienų. Norėdami gauti informacijos apie filtro keitimą, žr. *Oro filtro keitimas 38 psl.* psl.




„NextSeq 550Dx“ programinė įranga



Prietaiso programinė įranga apima integruotas programas, kurios vykdo sekos nustatymą.

- ▶ **„NextSeq“ valdymo programinė įranga (NCS)** – valdymo programinė įranga nurodo jums veiksmus, kurių turite imtis sekos nustatymo vykdymui nustatyti.
- ▶ **Analizės realiuoju laiku (RTA) programinė įranga** – RTA atlieka vaizdo analizę ir bazių priskyrimą vykdymo metu. „NextSeq 550Dx“ prietaisas naudoja RTA v2, kuris apima svarbius ankstesnių versijų struktūrinius ir funkcinis skirtumus. Daugiau informacijos žr. *Analizė realiuoju laiku 55 psl.* psl.

Būsenos piktogramos

Būsenos piktograma NCS viršutiniame dešiniajame kampe nurodo bet kokį sąlygų pasikeitimą nustatant seriją arba atliekant seriją.

Būsenos piktograma	Būsenos pavadinimas	Aprašymas
	Būsena tinkama	Sistema veikia įprastai.
	Apdorojama	Sistema vykdo apdorojimą.
	Įspėjimas	Atsirado įspėjimas. Įspėjimai nesustabdo serijos ir prieš tęsiant nereikalauja imtis veiksmų.

Būsenos piktograma	Būsenos pavadinimas	Aprašymas
	Klaida	Ivyko klaida. Esant klaidų, prieš tęsiant serijos procedūrą reikia imtis veiksmų.
	Reikalinga techninė priežiūra	Atsirado pranešimas, reikalaujantis dėmesio. Papildomos informacijos ieškokite pranešime.

Keičiantis būsenai, piktogramos ima mirksėti, kad jus įspėtų. Pasirinkite piktogramą, kad peržiūrėtumėte būsenos aprašą. Norėdami priimti pranešimą, pasirinkite **Acknowledge** (patvirtinti), o, norėdami uždaryti dialogo langą, pasirinkite **Close** (uždaryti).

PASTABA

Patvirtinus pranešimą iš naujo nustatoma piktograma, o pranešimas papilkinamas. Pranešimas vis dar matomas vartotojui, jeigu jis pažymi piktogramą, tačiau išnyksta, kai vėl paleidžiama NCS.

Maitinimo mygtukas

„NextSeq 550Dx“ priekinėje dalyje esančiu maitinimo mygtuku įjungiamas prietaiso ir prietaiso kompiuterio maitinimas. Atsižvelgiant į prietaiso maitinimo būseną, maitinimo mygtuku atliekami tolesni veiksmai. Pagal numatytąsias nuostatas „NextSeq 550Dx“ paleidžiamas diagnostikos režimu.

Informacijos apie pirminį prietaiso maitinimo įjungimą žr. *Prietaiso paleidimas 11 psl.*

Informacijos apie pirminį prietaiso išjungimą žr. *Prietaiso išjungimas 41 psl.*

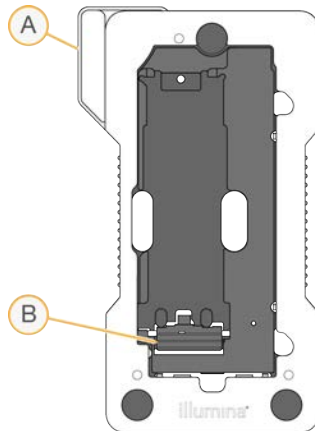
Maitinimo būseną	Veiksmas
Prietaiso maitinimas išjungtas	Paspauskite mygtuką, kad įjungtumėte maitinimą.
Prietaiso maitinimas įjungtas	Paspauskite mygtuką, kad išjungtumėte maitinimą. Ekrane pasirodo dialogo langas, kuriame patvirtinamas prietaiso išjungimas.
Prietaiso maitinimas įjungtas	Paspauskite ir 10 sek. nuspaudę palaikykite maitinimo mygtuką, kad visiškai išjungtumėte prietaisą ir prietaiso kompiuterį. Šį būdą naudokite tik norėdami išjungti prietaisą tada, kai jis nereaguoja.

PASTABA Prietaisą išjungus sekoskaitos serijos vykdymo metu, serija iškart nutraukiama. Serijos nutraukimas yra galutinis. Serijos eksploatacinių medžiagų pakartotinai naudoti negalima, o sekoskaitos duomenys iš tos serijos neįrašomi.

Pakartotinai naudojamo „BeadChip“ adapterio apžvalga

Pakartotinai naudojamas „BeadChip“ adapteris nuskaitant užfiksuoja „BeadChip“. „BeadChip“ pritvirtinamas nišoje įtaisytoje adapterio su išlaikymo sąvarža lentynoje. Tada „BeadChip“ adapteris įkeliamas į sritį vaizdavimo skyriuje.

3 pav. Pakartotinai naudojamas „BeadChip“ adapteris



- A „BeadChip“ adapteris
- B Išlaikymo sąvarža

Reagentų rinkinio apžvalga

Sekos nustatymo eksploatacinių medžiagų apžvalga

Sekos nustatymo eksploatacinės medžiagos, kurių reikia paleisti „NextSeq 550Dx“, yra pateiktos atskirame vienkartiniam rinkinyje. Kiekvieną rinkinį sudaro pratekamoji kiuvetė, reagentų kasetė, buferinio tirpalo kasetė ir bibliotekos atskiedimo buferinis tirpalas. Daugiau informacijos žr. „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinio (2 versija) (300 ciklų), „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinio (2.5 versija) (300 ciklų) arba „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinio (2.5 versija) (75 ciklai) pakuotės lapelyje.

Pratekamoji kiuvetė, reagentų kasetė ir buferinio tirpalo kasetė naudoja radijo dažnių identifikavimą (RFID) tiksliai sekti eksploatacines medžiagas ir suderinamumą.

DĖMESIO!

„NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkiniui (2,5 versija) prietaise reikia naudoti 1.3 arba naujesnį NOS, kad būtų priimta 2.5 versijos pratekamosios kiuvetės kasetė. Baikite programinės įrangos naujinimus prieš ruošdami mėginius ir eksploatacines medžiagas, kad neiššvaistytumėte reagentų ir (arba) mėginių.


PASTABA

Sekos nustatymo eksploatacines medžiagas laikykite jų dėžutėse, kol būsite pasiruošę naudoti.

Rinkinio suderinamumo žymėjimas

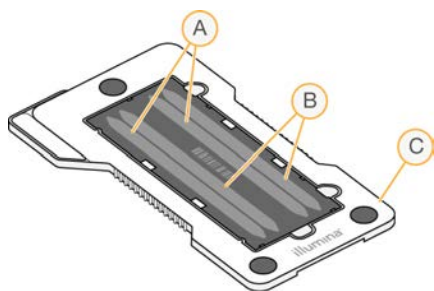
Rinkinio komponentai yra pažymėti spalvomis užkoduotais indikatoriais, kad būtų galima parodyti pratekamųjų kiuvėčių ir reagentų kasetėlių suderinamumą. Visada naudokite suderinamas reagentų kasetes ir pratekamasias kiuvetes. Buferinė kasetė yra universali.

Kiekviena pratekamoji kiuvetė ir reagentų kasetė yra pažymėta kaip **High** (didelė) arba **Mid** (vidutinė). Parengdami vykdyti eksploatacinių medžiagų seriją, visuomet patikrinkite etiketę.

Rinkinio tipas	Žymėjimas etiketėje
Didelės išvesties rinkinio komponentai	
Vidutinės išvesties rinkinio komponentai	

Pratekamosios kiuvetės apžvalga

4 pav. Pratekamosios kiuvetės kasetė



- A A takelių pora – 1 ir 3 takeliai
- B B takelių pora – 2 ir 4 takeliai
- C Pratekamosios kiuvetės kasetės rėmas

Pratekamoji kiuvetė yra stiklo pagrindo substratas, ant kurio generuojamos sankaupos ir vykdoma sekoskaitos reakcija. Pratekamoji kiuvetė įdedama į pratekamųjų kiuvečių kasetę.

Pratekamojoje kiuvetėje yra 4 takeliai, kurie atvaizduojami poromis.

- ▶ 1 ir 3 takeliai (A takelių pora) atvaizduojami tuo pačiu metu.
- ▶ 2 ir 4 takeliai (B takelių pora) atvaizduojami užbaigus A takelių poros atvaizdavimą.

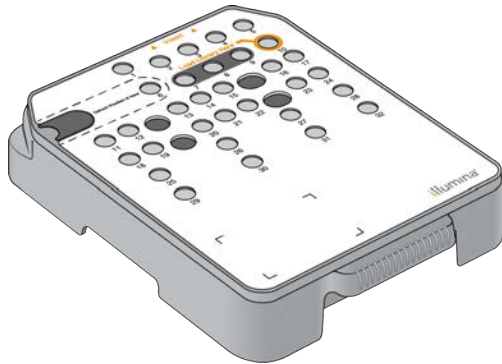
Nors pratekamojoje kiuvetėje yra 4 takeliai, joje atliekama tik vienos bibliotekos arba jungtinių bibliotekų rinkinio sekoskaita. Bibliotekos įkeliamos į reagentų kasetę iš vieno rezervuaro ir automatiškai perduodamos į visus 4 pratekamosios kiuvetės takelius.

Kiekvienas takelis atvaizduojamas nedidelėse vaizdavimo srityse, kurios vadinamos išklotinėmis. Norėdami gauti daugiau informacijos, žr. *Pratekamosios kiuvetės išklotinės* 59 psl. psl.

Reagentų kasetės apžvalga

Reagentų kasetė yra vienkartinio naudojimo eksploatacinė medžiaga, turinti RFID sekimo funkciją ir plėvele sandarinamus rezervuarus, kurie iš anksto pripildomi sankaupų ir sekoskaitos reagentų.

5 pav. Reagentų kasetė



Reagentų kasetėje yra specialus rezervuaras parengtoms bibliotekoms įdėti. Pradėjus seriją, bibliotekos automatiškai perduodamos iš rezervuaro į pratekamąją kiuvetę.

Keli rezervuarai rezervuojami automatiniam plovimui po serijos. Plovimo tirpalas pumpuojamas iš buferinės kasetės į rezervuotus rezervuarus pro sistemą, kol patenka į panaudotų reagentų talpyklą.

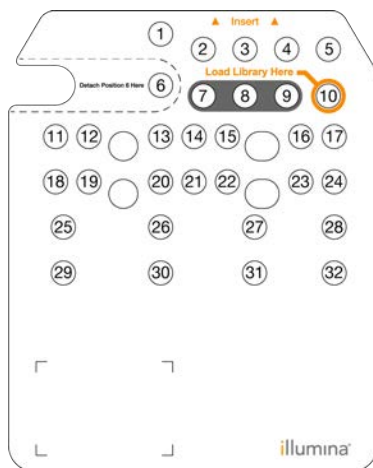


ĮSPĖJIMAS

Šiame reagentų rinkinyje yra galimai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Su panaudotais reagentais elkitės kaip su cheminėmis atliekomis ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų. Papildomos aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape adresu support.illumina.com/sds.html.

Rezervuoti rezervuarai

6 pav. Sunumeruoti rezervuarai



Padėtis	Aprašymas
7, 8 ir 9	Rezervuota papildomiems pasirinktiniais pradmenimis
10	Bibliotekų įdėjimas

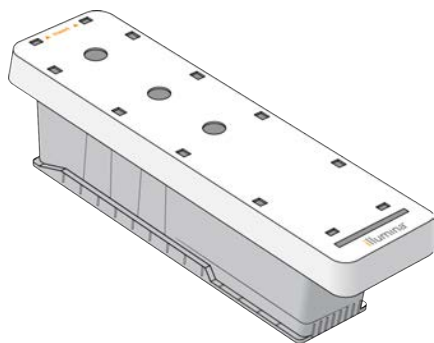
Išimamas rezervuaras padėtyje Nr. 6

Iš anksto pripildytoje reagentų kasetėje yra 6 padėtyje esantis denatūravimo reagentas, kurio sudėtyje yra formamido. Siekiant palengvinti saugų bet kokio nepanaudoto reagento šalinimą po sekoskaitos serijos, 6 padėtyje esantį rezervuarą galima nuimti. Norėdami gauti daugiau informacijos, žr. *Panaudoto rezervuaro išėmimas iš padėties Nr. 6 22 psl.*

Buferinio tirpalo kasetės apžvalga

Buferinio tirpalo kasetė – tai vienkartinio naudojimo eksploatacinė medžiaga, turinti tris rezervuarus, kurie iš anksto pripildomi buferinio ir plovimo tirpalų. Buferinio tirpalo kasetės turinio pakanka vienos pratekamosios kiuvetės sekoskaitai.

7 pav. Buferinio tirpalo kasetė



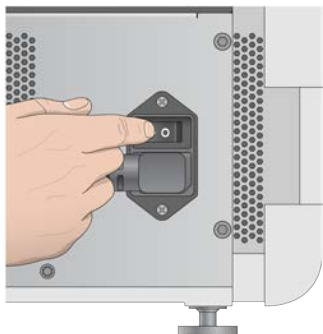
2 skyrius. Darbo pradžia

Prietaiso paleidimas	11
Sistemos nuostatų tinkinimas	12
Naudotojo pateikiamos eksploatacinės medžiagos ir įranga	13

Prietaiso paleidimas

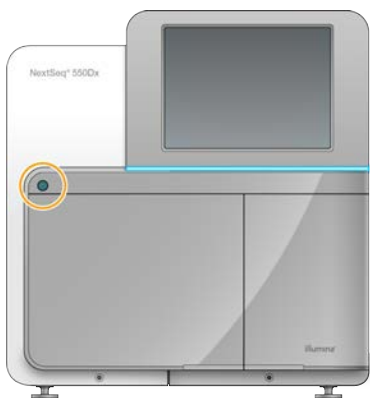
Ijunkite maitinimo jungiklį į I (įjungimo) padėtį.

8 pav. Maitinimo jungiklis įtaisytas prietaiso galinėje dalyje



- 1 Paspauskite virš reagentų skyriaus esantį maitinimo mygtuką. Maitinimo mygtukas įjungia prietaiso maitinimą ir paleidžia integruotą prietaisą ir prietaiso kompiuterį.

9 pav. Maitinimo mygtukas prietaiso priekyje



- 2 Palaukite, kol operacinė sistema bus visiškai įkelta.
„NextSeq“ valdymo programinė įranga (NCS) automatiškai paleidžia ir inicijuoja sistemą. Pasibaigus inicijavimo operacijai, atidaromas pagrindinis ekranas.
- 3 Įveskite savo „Local Run Manager“ naudotojo vardą ir slaptažodį.
Informacijos apie slaptažodžius žr. *Naudotojo slaptažodžiai 1* Informacijos apie paskyros nustatymą „Local Run Manager“ žr. *Administravimo nuostatos ir užduotys 1*.
- 4 Pasirinkite **Login** (prisijungti).
Atidaromas ekranas „Home“ (pagrindinis), kuriame yra sekos nustatymo, „Local Run Manager“, prietaiso valdymo ir plovimo atlikimo piktogramos.

Prietaiso režimų indikatoriai

Numatytasis „NextSeq 550Dx“ režimas yra diagnostikos režimas. Tolesni elementai NCS ekrane nurodo prietaiso režimą.

Režimas	Pagrindinis ekranas	Spalvų juosta	Būsenos piktogramos orientacija
Diagnostikos režimas	„Welcome to NextSeqDx“ (sveiki, tai – „NextSeqDx“)	Mėlyna	Horizontali
Mokslinių tyrimų režimas	„Welcome to NextSeq“ (sveiki, tai – „NextSeq“)	Oranžinė	Vertikali

Sistemos nuostatų tinkinimas

Operacinę programinę įrangą sudaro prietaiso identifikavimo, įvesties nuostatų, garso nuostatų ir išvesties aplanko vietos tinkinamos sistemos nuostatos. Norėdami keisti tinklo konfigūracijos nuostatas, žr. *Sistemos nuostatų konfigūravimas 50 psl.*

Tinkinimo parinktys:

- ▶ Prietaiso identifikavimo tinkinimas (pseudoportretas ir slapyvardis)
- ▶ Įvesties parinktys ir garso indikatoriaus nustatymas
- ▶ Serijos sąrankos parinkčių nustatymas
- ▶ Išjungimo parinktys
- ▶ Prietaiso paleidimo po išankstinio serijos patikrinimo konfigūravimas
- ▶ Prietaiso našumo duomenų siuntimo „Illumina“ pasirinkimas
- ▶ Serijos išvesties aplanko nurodymas

Prietaiso pseudoportreto ir slapyvardžio tinkinimas

- 1 Ekrane „Home“ (pagrindinis) pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
- 2 Pasirinkite **System Customization** (sistemos tinkinimas).
- 3 Norėdami priskirti pageidaujama vaizdą savo prietaisui, pasirinkite **Browse** (naršyti) ir eikite į vaizdą.
- 4 Lauke „Nick Name“ (slapyvardis) įveskite pageidaujama prietaiso pavadinimą.
- 5 Pasirinkite **Save** (įrašyti), kad įrašytumėte nuostatas ir išplėstumėte ekraną. Vaizdas ir pavadinimas rodomi viršutiniame kairiajame kiekvieno ekrano kampe.

Klaviatūros parinktys ir garso indikatoriaus nustatymas

- 1 Ekrane „Home“ (pagrindinis) pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
- 2 Pasirinkite **System Customization** (sistemos tinkinimas).
- 3 Pažymėkite žymės langelį **Use on-screen keyboard** (naudoti ekrano klaviatūroje), kad įjungtumėte ekrano klaviatūrą instrumento įvesčiai.
- 4 Pažymėkite žymės langelį **Play audio** (leisti garsą), kad įjungtumėte toliau nurodytų įvykių garso indikatorius.
 - ▶ Inicijavus prietaisą
 - ▶ Pradėjus seriją
 - ▶ Įvykus tam tikroms klaidoms

- ▶ Kai naudotojas turi atlikti veiksmą
- ▶ Kai serijos vykdymas baigtas

5 Pasirinkite **Save** (įrašyti), kad įrašytumėte nuostatas ir išplėstumėte ekraną.

Serijos sąrankos parinkčių nustatymas

- 1 Ekrane „Manage Instrument“ (valdyti prietaisą) pasirinkite **System Customization** (sistemos tinkinimas).
- 2 Pažymėkite žymės langelį **Use Advanced Load Consumables** (naudoti papildomas įdėjimo eksploatacines medžiagas), kad būtų galima viename ekrane suaktyvinti parinktį įdėti visas eksploatacines medžiagas.
- 3 Pažymėkite žymės langelį **Skip Pre-Run Check Confirmation** (praleisti išankstinės serijos tikrinimo patvirtinimą), kad galėtumėte pradėti sekos nustatymą automatiškai po sėkmingo automatinio patikrinimo.
- 4 Norėdami įrašyti nuostatas ir išeiti iš ekrano, pasirinkite **Save** (įrašyti).

Automatinio valymo parinktys nustatymas

- 1 Ekrane „Manage Instrument“ (valdyti prietaisą) pasirinkite **System Customization** (sistemos tinkinimas).
- 2 Pažymėkite žymės langelį **Purge Consumables at End of Run** (valyti eksploatacines medžiagas serijos pabaigoje), kad nuo reagentų kasetės iki panaudotų reagentų talpyklos automatiškai po kiekvienos serijos būtų išvalyti nenaudojami reagentai.

PASTABA Valant eksploatacines medžiagas, prie darbo eigos automatiškai pridama papildomo laiko.

- 3 Norėdami įrašyti nuostatas ir išeiti iš ekrano, pasirinkite **Save** (įrašyti).

Naudotojo pateikiamos eksploatacinės medžiagos ir įranga

Toliau nurodytos eksploatacinės medžiagos ir įranga, kurios yra naudojamos su „NextSeq 550Dx“ prietaisu. Tolesnės eksploatacinės medžiagos ir įranga yra naudojamos norint paruošti eksploatacines medžiagas, nustatyti seką ir atlikti prietaiso priežiūrą. Jei reikia daugiau informacijos, žr. „NextSeq 550“ sistemos vadovą.

Sekai nustatyti reikalingos eksploatacinės medžiagos

Eksploatacinė medžiaga	Tiekėjas	Paskirtis
Alkoholio servetėlės, 70 % izopropilas arba Etanolis, 70 %	VWR, katalogo Nr. 95041-714 (arba atitikmuo) Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Pratekamosios kiuvetės valymas ir bendroji paskirtis
Laboratorinis audinys, kurio sudėtyje mažai medvilnės	VWR, katalogo Nr. 21905-026 (arba atitikmuo)	Pratekamosios kiuvetės valymas ir bendroji paskirtis

Priežiūros darbams atlikti ir triktims šalinti reikalingos eksploatacinės medžiagos

Eksploatacinė medžiaga	Tiekėjas	Paskirtis
NaOCl, 5 % (natrio hipochloritas)	„Sigma-Aldrich“, katalogo Nr. 239305 (arba laboratorinis atitikmuo)	Prietaiso plovimas taikant rankinį plovimą po serijos; skiedžiama iki 0,12 % tūrio
„Tween 20“	„Sigma-Aldrich“, katalogo Nr. P7949	Prietaiso plovimas naudojant rankinio plovimo parinktį; skiedžiama iki 0,05 % tūrio
Vanduo, laboratorinis	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas	Prietaiso plovimas (rankinis plovimas)
Oro filtras	„Illumina“, katalogo Nr. 20022240	Oro, kurį prietaisas naudoja aušinti, valymas

Laboratorinio vandens gairės

Prietaiso procedūroms atlikti visada naudokite laboratorinį vandenį arba dejonizuotą vandenį. Niekada nenaudokite vandentiekio vandens. Naudokite tik toliau nurodytų rūšių vandenį arba jo atitikmenis.

- ▶ Dejonizuotas vanduo
- ▶ „Illumina PW1“
- ▶ 18 megaomų (MΩ) vanduo
- ▶ „Milli-Q“ vanduo
- ▶ „Super-Q“ vanduo
- ▶ Molekulinės biologijos vanduo

Įranga

Elementas	Šaltinis
Šaldiklis, nuo –25 °C iki –15 °C, bešerkšnis	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas
Šaldytuvas, nuo 2 iki 8 °C	Bendrasis laboratorinių reikmenų tiekėjas

3 skyrius. Sekoskaita

Įvadas	15
Sekos nustatymo darbo eiga	16
Reagentų kasetės paruošimas	16
Pratekamosios kiuvetės paruošimas	17
Bibliotekų parengimas nustatyti seką	17
Sekos nustatymo serijos nustatymas	18
Serijos eigos stebėjimas	24
Automatinis plovimas atlikus seriją	26

Įvadas

Norėdami vykdyti sekoskaitos seriją prietaise „NextSeq 550Dx“, paruoškite reagentų kasetę ir pratekamąją kiuvetę, o tada vadovaukitės programinės įrangos raginimais serijai nustatyti ir paleisti. Sankaupų generavimas ir sekoskaita atliekami pačiame prietaise. Po serijos prietaisas nuplaunamas automatiškai, naudojant jau į prietaisą įdėtus komponentus.

Sankaupų generavimas

Sankaupų generavimo metu atskiros DNR molekulės prisijungia prie pratekamosios kiuvetės paviršiaus, o tada amplifikuojamos, kad sudarytų sankaupas.

Sekos nustatymas

Sankaupos atvaizduojamos naudojant dviejų kanalų sekoskaitos chemines savybes ir filtrų derinius, skirtus konkrečiam fluorescenciškai pažymėtam nukleotidui. Atvaizdavirus išsklotinę pratekamojoje kiuvetėje, atvaizduojama kita išsklotinė. Šis procesas kartojamas per kiekvieną sekoskaitos ciklą. Po vaizdo analizės programinė įranga atlieka bazių priskyrimą, filtravimą ir kokybės įvertinimą.

Analizė

Vykdydama seriją, valdymo programinė įranga automatiškai perduoda bazių priskyrimo (BCL) failus į nurodytą antrinės analizės išvesties vietą.

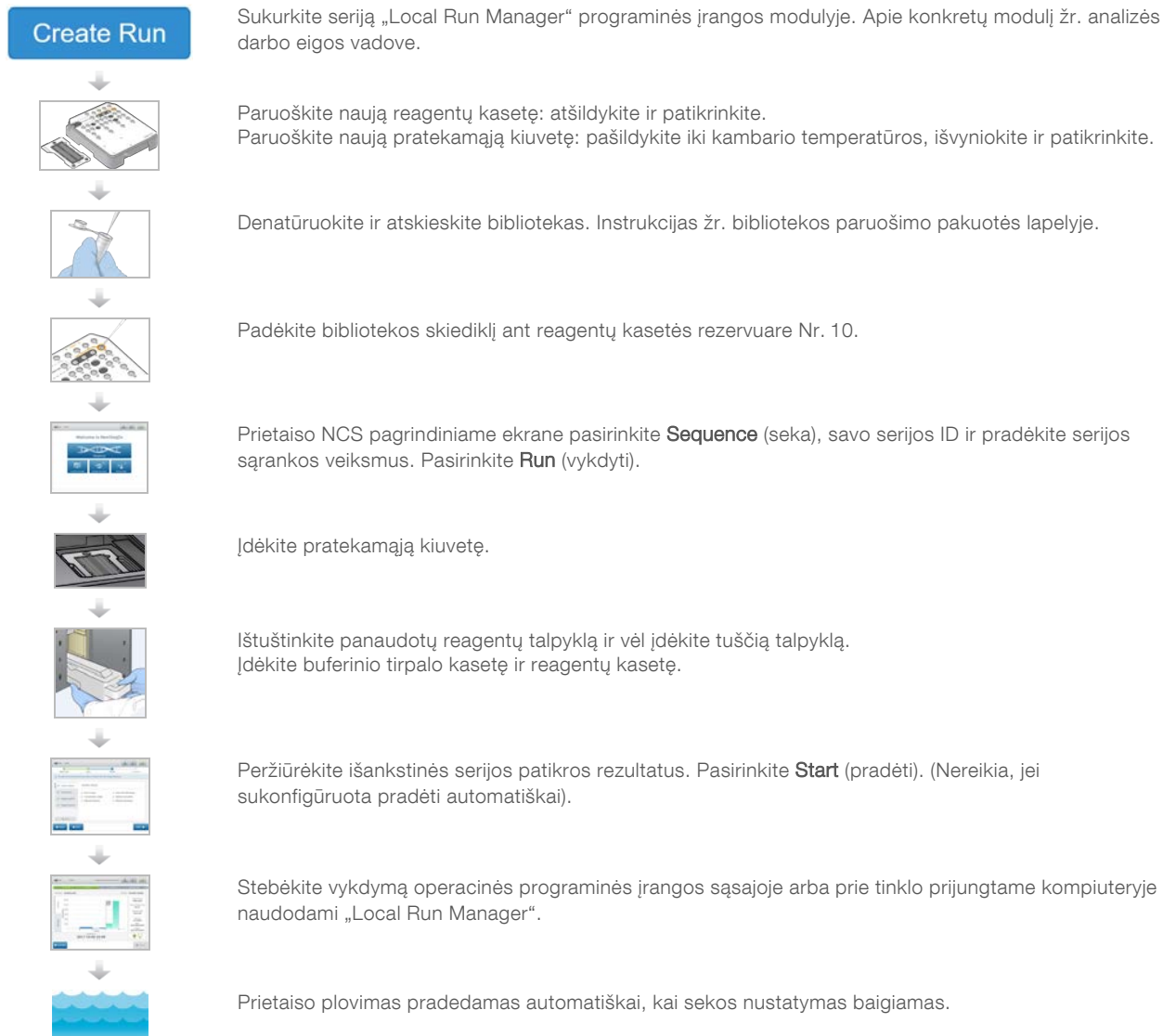
Sekos nustatymo serijos trukmė

Sekoskaitos serijos trukmė priklauso nuo vykdomų ciklų skaičiaus. Maksimali serijos trukmė yra suporuotų pusių 150-ies ciklų kiekvieno nuskaitymo (2 x 150) serija ir dar iki 8 ciklų kiekvieno 2 indeksų nuskaitymo serija.

Nuskaitymo ciklų skaičius

Vykdydant sekoskaitos seriją, nuskaitymo metu atliktų ciklų skaičius yra 1 ciklu didesnis nei analizuojamų ciklų skaičius. Pavyzdžiui, suporuotų pusių 150-ies ciklų serija vykdo 151 ciklo (2 x 151) nuskaitymus iš viso 302-iesiems ciklams. Serijos pabaigoje išanalizuojama 2 x 150 ciklų. Papildomas ciklas reikalingas fazių derinimo ir išankstinio fazių derinimo skaičiavimams.

Sekos nustatymo darbo eiga



Reagentų kasetės paruošimas

Įsitikinkite, kad kruopščiai laikotės reagentų kasetės nurodymų, kad būtų galima sėkmingai atlikti sekoskaitą.

- 1 Išimkite reagentų kasetę iš saugyklos, kurioje temperatūra yra nuo $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ iki $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 2 Pasirinkite vieną iš toliau nurodytų būdų, kaip atšildyti reagentus. Kasetės nemerkite. Atšildę kasetę, prieš atlikdami kitą veiksmą, ją išdžiovinkite.

Temperatūra	Laikas atšildyti	Stabilumo riba
15–30 °C temperatūros vandens vonelė	60 minučių	Neviršyti 6 valandų
2–8 °C	7 valandos	Neviršyti 7 dienų

PASTABA Jei daugiau nei viena kasetė atšildoma toje pačioje vonelėje, pridėkite papildomo laiko atšildyti.

- 3 Apverskite kasetę penkis kartus, kad sumaišytumėte reagentus.
- 4 Patikrinkite kasetės apačią ir įsitinkite, kad reagentai yra atšildyti ir be nuosėdų. Patvirtinkite, kad padėtys Nr. 29, 30, 31 ir 32 yra atšildytos, nes jos yra didžiausios ir jas atšildyti užtrunka ilgiausiai.
- 5 Švelniai pabaksnokite stalą, kad sumažėtų oro burbuliukų.
Norėdami geriausių rezultatų, iš karto įdėkite mėginį ir nustatykite seriją.



ĮSPĖJIMAS

Šiame reagentų rinkinyje yra galimai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Su panaudotais reagentais elkitės kaip su cheminėmis atliekomis ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų. Papildomos aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape adresu support.illumina.com/sds.html.

Pratekamosios kiuvetės paruošimas

- 1 Išimkite naują pratekamąją kiuvetę iš dėžutės, kurioje palaikoma nuo 2 iki 8 °C temperatūra.
- 2 Pašalinkite pakavimo plėvelę nuo dėžutės ir padėkite kambario temperatūroje 30 minučių.

PASTABA Jei pakavimo plėvelė nepažeista, pratekamoji kiuvetė gali likti kambario temperatūroje iki 12 valandų. Pakartotinai pratekamosios kiuvetės nešaldykite ir nešildykite.

Bibliotekų parengimas nustatyti seką

Denatūruokite ir atskieskite bibliotekas iki įdėjimo tūrio – 1,3 ml. Praktikoje įdėjimo koncentracija gali skirtis pagal bibliotekos paruošimą ir kokybės įvertinimo metodus. Mėginio bibliotekų skiedimas priklauso nuo oligonukleotidų telkinių kompleksškumo. Nurodymus, kaip paruošti mėginio bibliotekas nustatyti seką, įskaitant bibliotekos skiedimą ir telkimą, žr. taikytino bibliotekos paruošimo rinkinio naudojimo instrukcijose. „NextSeq 550Dx“ prietaise reikia optimizuoti sankaupos tankį.

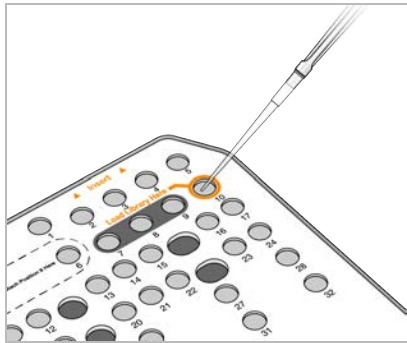
Denatūravimo ir skiedimo bibliotekos

Denatūruokite ir atskieskite savo bibliotekas taip, kad įdėjimo talpa būtų iki 1,3 ml, o įdėjimo koncentracija – 1,8 pM. Praktiškai įdėjimo koncentracija atsižvelgiant į bibliotekos parengimo ir kiekybinio įvertinimo metodus gali skirtis. Instrukcijas žr. bibliotekos paruošimo pakuotės lapelyje.

Bibliotekų įdėjimas į reagentų kasetę

- 1 Nuvalykite plėvele padengtą rezervuarą Nr. 10, pažymėtą **Load Library Here** (įdėti biblioteką čia), naudodami pūkelių nepaliekantį audinį.
- 2 Pradurkite sandariklį švari 1 ml pipetės galiuku.
- 3 Įpilkite 1,3 ml paruoštų bibliotekų į rezervuarą Nr. 10, pažymėtą kaip **Load Library Here** (įdėti biblioteką čia). Dozuodami bibliotekas venkite paliesti folijos sandariklį.

10 pav. Bibliotekų įkėlimas



Sekos nustatymo serijos nustatymas

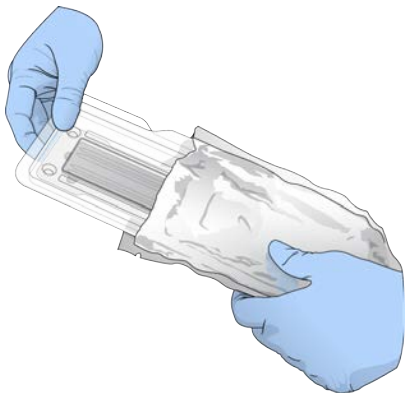
Prisijungimas prie „BaseSpace“

- 1 Įveskite „BaseSpace“ vartotojo vardą ir slaptažodį.
- 2 Pasirinkite **Next** (toliau).

Pratekamosios kiuvetės įdėjimas

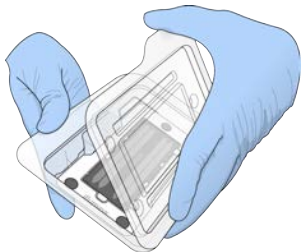
- 1 Išimkite panaudotą pratekamąją kiuvetę iš ankstesnės serijos.
- 2 Išimkite pratekamąją kiuvetę iš pakavimo plėvelės.

11 pav. Išėmimas iš pakavimo plėvelės



- 3 Atidarykite permatomą plastikinę užveriamą pakuotę ir išimkite pratekamąją kiuvetę.

12 pav. Išėmimas iš užveriamos pakuotės

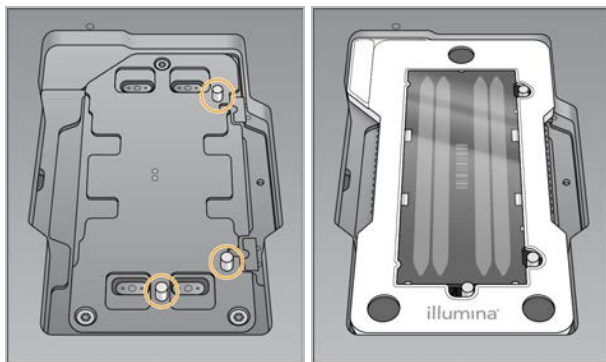


- 4 Pūkelių nepaliekant alkoholiu suvilgyta šluoste nuvalykite stiklinį pratekamosios kiuvetės paviršių. Stiklą nusauskite laboratoriniu pūkelių nepaliekančiu audiniu.

PASTABA Įsitinkite, kad pratekamosios kiuvetės stiklinis paviršius yra švarus. Jei reikia, pakartokite valymo veiksmą.

- 5 Sulygiuokite pratekamąją kiuvetę pagal sulygiavimo kaiščius ir padėkite ant platformos.

13 pav. Pratekamosios kiuvetės įdėjimas



- 6 Pasirinkite **Load** (įdėti).
Durelės automatiškai uždaromos, ekrane rodomas pratekamosios kiuvetės ID ir patikrinami jutikliai.

PASTABA Kad neprisivertumėte, patraukite rankas nuo pratekamosios kiuvetės durelių, kol jos užsidarys.

- 7 Pasirinkite **Next** (toliau).

Panaudotų reagentų talpos ištuštinimas

- 1 Atidarykite buferinio tirpalo skyriaus dureles sklėsčiu apatiniame kairiajame durelių kampe.
- 2 Išimkite panaudotų reagentų talpyklą ir pašalinkite turinį pagal taikytinus standartus.

14 pav. Panaudotų reagentų talpyklos išėmimas



PASTABA Išimdami talpyklą, kita ranka ją prilaikykite už apatinės dalies.

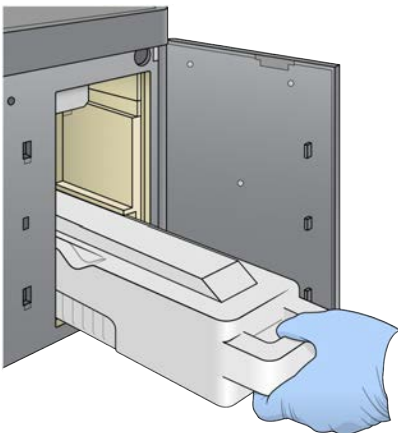


ĮSPĖJIMAS

Šiame reagentų rinkinyje yra galimai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Su panaudotais reagentais elkitės kaip su cheminėmis atliekomis ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų. Papildomos aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape adresu support.illumina.com/sds.html.

- 3 Stumkite tuščią panaudotų reagentų talpyklą į buferinio tirpalo skyrių, kol sustos. Girdimas spragtelėjimas reiškia, kad talpykla yra reikiamoje padėtyje.

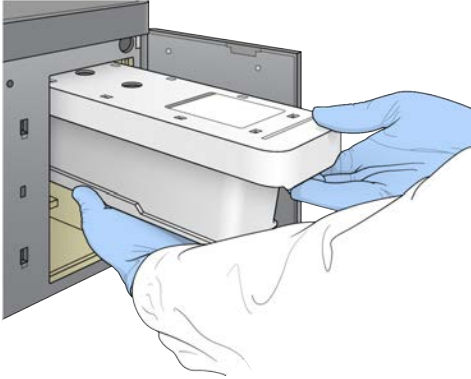
15 pav. Tuščios panaudotų reagentų talpyklos įdėjimas



Buferinio tirpalo kasetės įdėjimas

- 1 Išimkite panaudotą buferinio tirpalo kasetę iš viršutinio skyriaus.
Norint pakelti ir tuomet ištraukti buferinio tirpalo kasetę, reikia šiek tiek jėgos.
- 2 Naują buferinio tirpalo kasetę stumkite į buferinio tirpalo skyrių tol, kol ji sustos.
Kasetei užsifiksavus, pasigirs spragtelėjimas, ekrane pasirodys buferinio tirpalo kasetės ID ir bus tikrinamas jutiklis.

16 pav. Buferinio tirpalo kasetės įdėjimas



- 3 Uždarykite buferinio tirpalo skyriaus dureles ir pasirinkite **Next** (toliau).

Reagentų kasetės įdėjimas

- 1 Atidarykite reagentų skyriaus dureles skląščiu, esančiu po apatiniu dešiniuoju durelių kraštu.
- 2 Išimkite panaudotą reagentų kasetę iš reagentų skyriaus. Išmeskite nenaudojamą turinį vadovaudamiesi taikomais standartais.



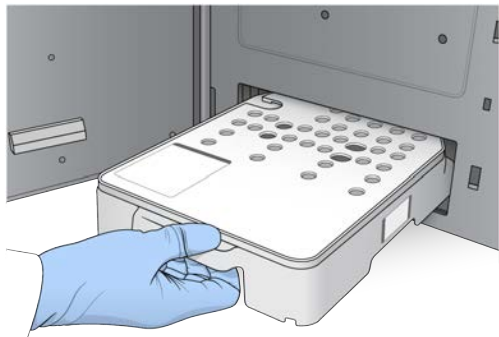
ĮSPĖJIMAS

Šiame reagentų rinkinyje yra galimai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Su panaudotais reagentais elkitės kaip su cheminėmis atliekomis ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų. Papildomos aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape adresu support.illumina.com/sds.html.

PASTABA Siekiant palengvinti saugų nepanaudoto reagento šalinimą, 6 padėtyje esantis rezervuaras yra nuimamas. Norėdami gauti daugiau informacijos, žr. *Panaudoto rezervuaro išėmimas iš padėties Nr. 6 22 psl.*

- 3 Reagentų kasetę stumkite į reagentų skyrių tol, kol kasetė sustos, o tada uždarykite reagentų skyriaus dureles.

17 pav. Reagentų kasetės įdėjimas

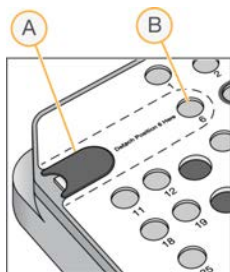


- 4 Pasirinkite **Load** (įdėti).
Programinė įranga kasetę automatiškai užfiksuoja (~30 sek.), ekrane pasirodo reagentų kasetės ID ir tikrinami jutikliai.
- 5 Pasirinkite **Next** (toliau).

Panaudoto rezervuaro išėmimas iš padėties Nr. 6

- 1 Išėmę **panaudotą** reagentų kasetę iš prietaiso, nuimkite atsarginį guminį dangtelį nuo angos šalia padėties Nr. 6.

18 pav. Išimamoji padėtis Nr. 6



- A Apsauginis guminis dangtelis
- B Padėtis Nr. 6

- 2 Spauskite skaidrią plastikinę ąselę ir stumkite į kairę, kad išimtumėte rezervuarą.
- 3 Išmeskite rezervuarą vadovaudamiesi taikomais standartais.

Serijos parametrų nustatymas

Serijos sąrankos ekrane nurodyti veiksmai atsižvelgiant į sistemos konfigūraciją skiriasi:

- ▶ „BaseSpace“ arba „BaseSpace Onsite“ – serijos sąrankos ekrane pateikiamos serijos, kurios buvo nustatytos naudojant „BaseSpace“ parengimo kortelę. Jei numatoma serija nerodoma serijos sąrankos ekrane, įsitikinkite, kad serija yra pažymėta sekos nustatymui „BaseSpace“.
- ▶ **Autonominis** – serijos sąrankos ekrane yra laukų, skirtų serijos parametrų apibrėžti.


Pasirinkite galimą seriją („BaseSpace“ konfigūracija)

- 1 Iš galimų serijų sąrašo pasirinkite serijos pavadinimą.

Norėdami slinkti per sąrašą arba ieškos lauke įvesti serijos pavadinimą, naudokite rodyklę aukštyn ir rodyklę žemyn.

- 2 Pasirinkite **Next** (toliau).
- 3 Patvirtinkite serijos parametrus.
 - ▶ **Serijos pavadinimas** – serijos pavadinimas, kuris priskirtas „BaseSpace“.
 - ▶ **Bibliotekos ID** – jungtinių bibliotekų pavadinimas, kuris priskirtas „BaseSpace“.
 - ▶ **Veikimo būdas** – veikimo būdo pavadinimas: **NextSeq High** (didelės išvesties „NextSeq“) arba **NextSeq Mid** (vidutinės išvesties „NextSeq“), atsižvelgiant į serijos naudojamą reagentų kasetę.
 - ▶ **Nuskaitymo tipas** – vienas nuskaitymas arba suporuotų pusių nuskaitymas.
 - ▶ **Nuskaitymo trukmė** – kiekvieno nuskaitymo ciklų skaičius.
 - ▶ **[Pasirenkama]** Pasirinktiniai pradmenys, jei taikoma.
 - ▶ **Serijos parametrai** – keičiamas nuskaitymų skaičius arba ciklų vienam nuskaitymui skaičius.
 - ▶ **Pasirinktiniai pradmenys** – keičiamos pasirinktinių pradmenų nuostatos. Daugiau informacijos žr. „NextSeq“ pasirinktinių pradmenų vadove (dokumento Nr. 15057456).
 - ▶ **Šios serijos eksploatacinių medžiagų valymas** – keičiama nuostata, kaip po dabartinės serijos automatiškai valyti eksploatacines medžiagas.
- 4 Pasirinkite **Next** (toliau).

Serijos parametrų įvedimas (autonominė konfigūracija)





- 1 Įveskite savo nuostatos serijos pavadinimą.
 - 2 **[Pasirenkama]** Įveskite savo nuostatos bibliotekos ID.
 - 3 Pasirinkite nuskaitymo tipą: **Single Read** (vienas nuskaitymas) arba **Paired End** (suporuotų pusių nuskaitymas).
 - 4 Įveskite kiekvieno nuskaitymo ciklų skaičių per sekos nustatymo serijos vykdymą.
 - ▶ **1 nuskaitymas** – įveskite iki 151 ciklo vertę.
 - ▶ **1 indeksas** – įveskite ciklų, reikalingų 1 indekso (i7) pradmeniui, skaičių.
 - ▶ **2 indeksas** – įveskite ciklų, reikalingų 2 indekso (i5) pradmeniui, skaičių.
 - ▶ **2 nuskaitymas** – įveskite iki 151 ciklo vertę. Ši vertė paprastai taikoma tokiam pat kaip ir 1 nuskaitymo ciklų skaičiui.
- Valdymo programinė įranga patvirtina jūsų įrašus pagal šiuos kriterijus:
- ▶ Visi ciklai neviršija leistino maksimalaus ciklų skaičiaus
 - ▶ 1 nuskaitymo ciklai yra didesni už 5 ciklus, naudojamus šablonų generavimui
 - ▶ Indekso nuskaitymo ciklai neviršija 1 ir 2 nuskaitymo ciklų skaičiaus
- 5 **[Pasirenkama]** Jei naudojate pasirinktinius pradmenis, pažymėkite naudotinių pradmenų žymės langelį. Daugiau informacijos žr. „NextSeq“ pasirinktinių pradmenų vadove (dokumento Nr. 15057456).
 - ▶ **1 nuskaitymas** – 1 nuskaitymo pasirinktinis pradmuo.
 - ▶ **1 indeksas** – 1 indekso pasirinktinis pradmuo.
 - ▶ **2 indeksas** – 2 indekso pasirinktinis pradmuo.
 - ▶ **2 nuskaitymas** – 2 nuskaitymo pasirinktinis pradmuo.
 - 6 **[Pasirenkama]** Norėdami keisti serijos parametrus, pasirinkite mygtuką **Advanced Settings**
 (išplėstinės nuostatos).
 - ▶ Veikimo būdų išplečiamajame sąrašė pasirinkite veikimo būdą. Išvardyti tik suderinami veikimo būdai.

- ▶ **Išvesties aplanko vieta** – keičiama dabartinės serijos išvesties aplanko vieta. Pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite prie tinklo vietos.
- ▶ **Įtrauktas failas** – pasirinkite failus, kuriuos norite įtraukti į išvesties aplanką, kuris gali būti naudingas, jei reikia išsamesnės analizės. Pavyzdžiui, deklaracijos failai ir mėginių sąrašai.
- ▶ **Šios serijos eksploatacinių medžiagų valymas** – keičiama nuostata, kaip po dabartinės serijos automatiškai valyti eksploatacines medžiagas.
- ▶ **Šios serijos stebėsenos naudojimas** – keičiama nuostata, kaip naudoti serijos stebėseną „BaseSpace“.

7 Pasirinkite **Next** (toliau).

Išankstinės serijos patikros peržiūra

Programinė įranga atlieka automatinę sistemos patikrą prieš seriją. Patikros metu ekrane pasirodo tolesni indikatoriai.

- ▶ **Pilka**  **varnelė** – patikra dar neatlikta.
- ▶ **Eigos**  **piktograma** – patikra vykdoma.
- ▶ **Žalia**  **varnelė** – patikra baigta sėkmingai.
- ▶ **Raudona**  – patikra su klaidomis. Dėl kiekvieno elemento, kurio patikra nepavyko, reikia imtis veiksmų prieš tęsiant toliau. Žr. *Automatinės patikros klaidų sprendimas 44 psl.*

Norėdami sustabdyti vykdomą automatinę išankstinę serijos patikrą, paspauskite mygtuką **Cancel** (atšaukti). Norėdami iš naujo paleisti patikrą, paspauskite mygtuką **Retry** (kartoti). Patikra tęsiama nuo pirmo nebaigto ar nepavykusio patikros etapo.

Norėdami peržiūrėti kiekvienos patikros kategorijoje rezultatus, pasirinkite skirtuką „Category“ (kategorija). Jei prietaisas nėra sukonfigūruotas automatiškai pradėti seriją, pradėkite seriją, kai bus baigta automatinė išankstinė serijos patikra.

Serijos paleidimas

Kai automatizuota patikra prieš seriją baigiama, pasirinkite **Start** (paleisti). Prasideda sekoskaitos serija. Norėdami sukonfigūruoti, kad sistema automatiškai pradėtų seriją po sėkmingos patikros, žr. *Serijos sąrankos parinkčių nustatymas 13 psl.*



DĖMESIO

Įsitinkinkite, kad esate prisijungę prie „Windows“. Jei atsijungsite nuo „Windows“ sistemos sekos nustatymo serijos vykdymo metu, serija bus sustabdyta.

PASTABA Reagentai instrumente negali būti laikomi nenaudojami ilgiau kaip 24 valandas.

Serijos eigos stebėjimas

1 Stebėkite serijos eigą, intensyvumą ir kokybės įverčius, kai metrikos pradedamos rodyti ekrane.









PASTABA Pasirinkus „Home“ (pagrindinis), neįmanoma grįžti ir peržiūrėti serijos metrikos. Tačiau serijos metrika pasiekama „BaseSpace“ arba matoma autonominiame kompiuteryje naudojant sekos nustatymo analizės peržiūros programą (SAV).

Serijos metrikos ciklai

Įvairiuose serijos taškuose rodoma serijos metrika.

- ▶ Atliekant sanaujų generavimo veiksmus, nerodoma jokia metrika.
- ▶ Pirmieji 5 ciklai rezervuoti šablonams generuoti.
- ▶ Serijos metrika rodoma po 25 ciklo, įskaitant sanaujų tankį, sanaujų praleidimą per filtrą, takumą ir kokybės įverčius.

Duomenų perkėlimas

Būsena	„Local Run Manager“	Išvesties aplankas
Prijungta		
Prijungta ir perduodami duomenys		
Atjungta		
Išjungta		

Jeigu duomenų perkėlimo serijos vykdymo metu pertraukiamos, duomenys laikinai saugomi prietaiso kompiuteryje. Kai ryšys atkuriamas, duomenų perkėlimas atkuriamas automatiškai. Jei ryšys neatkuriamas iki baigiant serijos vykdymą, rankiniu būdu perkelkite duomenis iš prietaiso kompiuterio prieš pradėdami kitos serijos vykdymą.

Universali kopijavimo paslauga

„NextSeq 550Dx“ įdiegta universali kopijavimo paslauga. RTA2 prašo paslaugos nukopijuoti failus iš šaltinio vietos į paskirties vietą ir paslauga apdoroja kopijavimo užklausas jų gavimo tvarka. Jei įvyksta išimtis, failas iš naujo įtraukiamas į kopijavimo eilę pagal failų skaičių kopijavimo eilėje.

Sekos nustatymo analizės peržiūros programa

Sekos nustatymo analizės peržiūros programinė įranga rodo serijos vykdymo metu sugeneruotą sekos nustatymo metriką. Metrika rodoma grafikų, diagramų ir lentelių forma, remiantis RTA sugeneruotais ir į „InterOp“ failus įrašytais duomenimis. Metrika atnaujinama vykdant seriją. Norėdami bet kuriuo serijos vykdymo metu peržiūrėti atnaujintą metriką, pasirinkite **Refresh** (atnaujinti). Daugiau informacijos žr. *Sekos nustatymo analizės peržiūros programos naudotojo vadove (dalies Nr. 15020619)*.

Sekos nustatymo analizės peržiūros programą įtraukta į prietaiso kompiuteryje įdiegtą programinę įrangą. Sekos nustatymo analizės peržiūros programą taip pat galite įdiegti kitame kompiuteryje, susietame su tuo pačiu tinklu, kaip ir prietaisu, kad galėtumėte nuotoliniu būdu stebėti serijos metriką.

Automatinis plovimas atlikus seriją

Kai sekos nustatymo serija baigta, programinė įranga inicijuoja automatinį plovimą atlikus seriją naudodama plovimo tirpalą, tiekiamą buferinio tirpalo kasetėje, ir NaOCl, tiekiamą reagentų kasetėje.

Automatinis plovimas atlikus seriją trunka apie 90 minučių. Baigus plovimą, tampa aktyvus mygtukas „Home“ (pradžią). Plovimo metu sekoskaitos rezultatai išlieka matomi ekrane.

Po plovimo

Po plovimo siurbtukai lieka apatinėje padėtyje, kad į sistemą nepatektų oro. Palikite kasetes savo vietoje iki kitos serijos.

4 skyrius. Nuskaitymas

Įvadas	27
Darbo eigos nuskaitymas	28
DMAP aplanko atsisiuntimas	28
„BeadChip“ įdėjimas į adapterį	29
Nuskaitymo sąranka	30
Nuskaitymo eigos stebėjimas	32

Įvadas

Norint atlikti nuskaitymą „NextSeq 550Dx“ prietaise, jums prireiks šių serijos komponentų:

- ▶ Hibridizuotas ir dažomas „BeadChip“
- ▶ Pakartotinai naudojamas „BeadChip“ adapteris
- ▶ Iškodavimo schemas (DMAP) failai, skirti „BeadChip“, kurį naudojate
- ▶ Deklaracijos failas „BeadChip“ tipui, kurį naudojate
- ▶ Sankaupos failas „BeadChip“ tipui, kurį naudojate

Išvesties failai sugeneruojami nuskaitymo metu ir tuomet eiliškumo tvarka perkeliama į nurodytą išvesties aplanką.

Atlikite analizę naudodami „BlueFuse Multi“ programinę įrangą, kuriai reikia, kad nuskaitymo duomenys būtų prieinami genotipo priskyrimo (GTC) failo formatu. Pagal numatytąsias nuostatas „NextSeq 550Dx“ prietaisas generuoja normalizuotus duomenis ir susietus genotipo priskyrimus GTC failo formatu.

Pasirinktinai galite konfigūruoti prietaisą, kad sugeneruotumėte papildomus intensyvumo duomenų (IDAT) failus. Daugiau informacijos žr. „*BeadChip*“ nuskaitymo konfigūracija 52 psl.

Iškodavimo failų kliento programa

DMAP aplanke yra informacijos, pagal kurią atpažįstamos granulių vietos „BeadChip“ ir išmatuojamas bei įvertinamas su kiekviena granule susietas signalas. DMAP aplankas yra unikalus kiekvienam „BeadChip“ brūkšniniam kodui.

Iškodavimo failų kliento paslaugų programa leidžia atsisiųsti DMAP aplankus tiesiogiai iš „Illumina“ serverių naudojant standartinį HTTP protokolą.

Norėdami pasiekti iškodavimo failų kliento programą, eikite į [iškodavimo failų kliento programos pagalbos puslapį](http://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html), esantį „Illumina“ interneto svetainėje (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Įdiekite iškodavimo failų kliento programą kompiuteryje, turinčiame prieigą prie DMAP aplanko tinklo vietos.

Daugiau informacijos žr. *DMAP aplanko atsisiuntimas* 28 psl.

Deklaracijos failai ir sankaupos failai

Dėl kiekvieno „BeadChip“ programinei įrangai reikia prieigos prie deklaracijos failo ir sankaupos failo. Kiekvienas deklaracijos ir sankaupos failas pagal „BeadChip“ tipą yra unikalus. Įsitinkinkite, kad naudojate sankaupos failus, kuriuose yra NS550 failo vardas. Šie failai suderinami su „NextSeq 550Dx“ sistema.

- ▶ **Deklaracijos failas** – deklaracijos failai apibūdina SNP arba zondo turinį, esantį „BeadChip“. Deklaracijos failai naudoja *.bpm failo formatą.
- ▶ **Sankaupos failai** – sankaupos failai apibūdina „Illumina“ genotipo nustatymo matricai skirtas sankaupos padėtis ir naudojami analizuojant duomenis, kad būtų galima atlikti genotipo priskyrimą. Sankaupos failai naudoja *.egt failo formatą.

Failų vieta nurodoma „BeadChip“ nuskaitymo konfigūracijos ekrane. NCS pagrindiniame ekrane pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą), **System Configuration** (sistemos konfigūracija), o tada – **BeadChip Scan Configuration** („BeadChip“ nuskaitymo konfigūracija).

Įdiegus „NextSeq 550Dx“ prietaisą, „Illumina“ atstovas atsiunčia šiuos failus ir nurodo valdymo programinės įrangos kelią. Nėra reikalo keisti šių failų, išskyrus atvejus, kai jie prarandami arba galima nauja versija. Daugiau informacijos žr. *Deklaracijos failų ir sanaupos failų pakeitimas* 49 psl.

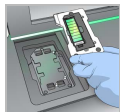
Darbo eigos nuskaitymas

DMAP

Atsisiųskite DMAP informaciją ir įrašykite ją į nurodytą DMAP aplanko vietą.



Įdėkite „BeadChip“ į „BeadChip“ adapterį.



„BeadChip“ adapterį įdėkite į prietaisą.



Nurodykite nuskaitymo parametrus: DMAP aplanko vietą ir išvesties vietą.



Peržiūrėkite automatinius tikrinimo rezultatus.
Pasirinkite **Start** (paleisti).



Naudodamiesi valdymo programinės įrangos sąsaja, stebėkite nuskaitymą.

DMAP aplanko atsisiuntimas

Galite pasiekti DMAP aplanką naudodami iškodavimo failų kliento programą pagal paskyrą arba pagal „BeadChip“ (numatytasis rodinys).

Prieiga prie DMAP aplanko pagal paskyrą

- 1 Iškodavimo failų kliento programos pagrindinėje kortelėje pasirinkite atsisiuntimo parinktį:
 - ▶ „AutoPilot“
 - ▶ Visi „BeadChip“ dar neatsisiųsti
 - ▶ Visi „BeadChip“
 - ▶ „BeadChip“ pagal pirkimo užsakymą
 - ▶ „BeadChip“ pagal brūkšninį kodą
- 2 Įveskite reikiamą informaciją.
- 3 Nustatykite DMAP aplanko, kurį norite atsisiųsti, vietą.
- 4 Įsitikinkite, kad atsisiuntimo paskirties vietoje yra pakankamai laisvos vietos.

- 5 Pradėkite siųstis. Peržiūrėkite atsisiuntimo būseną atsisiuntimo būsenos ir žurnalo kortelėje.
- 6 Įrašykite DMAP aplanką į nurodytą DMAP aplanko vietą.

Prieiga prie DMAP aplanko pagal „BeadChip“

- 1 Identifikuokite „BeadChip“ naudodami 2 iš šių parinkčių:
 - ▶ „BeadChip“ brūkšninis kodas
 - ▶ „BeadChip“ dėžių ID
 - ▶ Pirkimo užsakymo numeris
 - ▶ Pardavimo užsakymo numeris
- 2 Nustatykite DMAP aplanko, kurį norite atsisiųsti, vietą.
- 3 Įsitinkite, kad atsisiuntimo paskirties vietoje yra pakankamai laisvos vietos.
- 4 Pradėkite siųstis. Peržiūrėkite atsisiuntimo būseną atsisiuntimo būsenos ir žurnalo kortelėje.
- 5 Įrašykite DMAP aplanką į nurodytą DMAP aplanko vietą.

„BeadChip“ įdėjimas į adapterį

- 1 Nuspauskite adapterio išlaikymo sąvaržą. Sąvaržą pakreipkite šiek tiek atgal, kad atidarytumėte.
- 2 Laikydami „BeadChip“ už briaunų, padėkite jį su brūkšniniu kodu šalia išlaikymo sąvaržos ir pastatykite „BeadChip“ ant nišoje įtaisytos adapterio lentynos.

19 pav. „BeadChip“ įdėjimas į adapterį



- 3 Naudodami angas iš abiejų „BeadChip“ pusių, įsitinkite, kad „BeadChip“ yra nišoje įtaisytoje adapterio lentynoje.

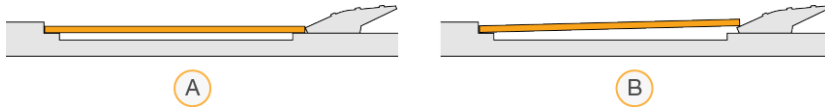
20 pav. „BeadChip“ įtaisymas ir pritvirtinimas



- 4 Atsargiai atleiskite išlaikymo sąvaržą, kad galėtumėte pritvirtinti „BeadChip“.

- 5 „BeadChip“ patikrinkite iš šono, jog įsitikintumėte, kad ant adapterio jis pastatytas lygioje vietoje. Jei reikia, pakeiskite „BeadChip“ padėtį.

21 pav. Patikrinkite „BeadChip“ padėtį.



- A Tinkama padėtis – atleidus sąvaržą, „BeadChip“ ant adapterio pastatytas lygioje vietoje.
- B Netinkama padėtis – atleidus sąvaržą, „BeadChip“ pastatytas nelygioje vietoje.

Nuskaitymo sąranka

- 1 Pagrindiniame ekrane pasirinkite **Experiment** (bandymas), tada pasirinkite **Scan** (nuskaitymas). Nuskaitymo komanda atidaromos vaizdavimo skyriaus durelės, iš ankstesnės serijos (jei yra) išleidžiamos eksploatacinės medžiagos ir atidaromas ne vienas nuskaitymo sąrankos ekranas. Įprasta trumpalaikė delsa.

Sekos nustatymo eksploatacinių medžiagų išėmimas

Jei nustatant nuskaitymą naudojamos sekos nustatymo eksploatacinės medžiagos, prieš prasidedant kitam veiksmui programinė įranga paragins jus išimti reagentų kasetę ir buferinę kasetę.

- 1 Paraginti iš ankstesnės sekos nustatymo serijos išimkite naudotas sekos nustatymo eksploatacines medžiagas.
 - a Iš reagentų skyriaus išimkite reagentų kasetę. Išmeskite nenaudojamą turinį vadovaudamiesi taikomais standartais.
 - b Iš buferinio skyriaus išimkite buferinę kasetę.



ĮSPĖJIMAS

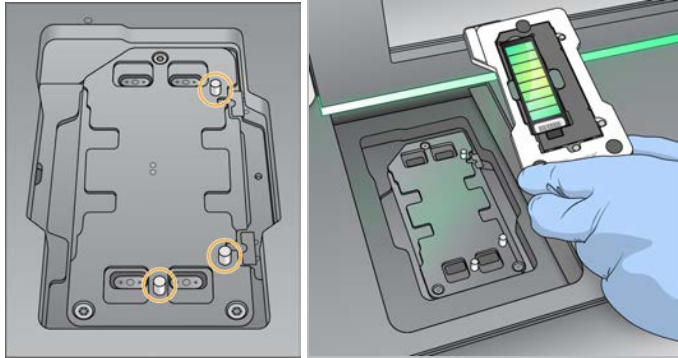
Šiame reagentų rinkinyje yra galimai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Su panaudotais reagentais elkitės kaip su cheminėmis atliekomis ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų. Papildomos aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape adresu support.illumina.com/sds.html.

- 2 Iš vaizdavimo skyriaus išimkite pratekamąją kiuvetę.
- 3 Uždarykite reagentų skyriaus ir buferinio skyriaus dureles.

„BeadChip“ adapterio įdėjimas

- 1 Norėdami „BeadChip“ įstatyti į sritį, naudokite sulgyjavimo kaiščius.

22 pav. „BeadChip“ adapterio įdėjimas



- 2 Pasirinkite **Load** (įdėti).
Durelės užsidaro automatiškai, ekrane pasirodo „BeadChip“ ID ir tikrinami jutikliai. Įprasta trumpalaikė delsa. Jei „BeadChip“ brūkšninio kodo nuskaityti negalima, pasirodo dialogo langas, leidžiantis rankiniu būdu įvesti brūkšninį kodą. Žr. *Programinė įranga negali nuskaityti „BeadChip“ brūkšninio kodo* 48 psl.
- 3 Pasirinkite **Next** (toliau).

Nuskaitymo sąranka

- 1 Nuskaitymo sąrankos ekrane patvirtinkite šią informaciją:
 - ▶ **Brūkšninis kodas** – programinė įranga nuskaityto „BeadChip“ brūkšninį kodą įkeliant „BeadChip“. Jei brūkšninis kodas įvestas rankiniu būdu, dėl tolesnių keitimų reikia spausti pasirodantį mygtuką „Edit“ (redaguoti).
 - ▶ **Tipas** – „BeadChip“ tipo laukas automatiškai įvedamas pagal „BeadChip“ brūkšninį kodą.
 - ▶ **DMAP vieta** – DMAP aplanko vieta nurodoma „BeadChip“ nuskaitymo konfigūracijos ekrane. Norėdami keisti tik dabartinio nuskaitymo vietą, pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite į dabartinę vietą.
 - ▶ **Išvesties vieta** – išvesties vieta nurodoma „BeadChip“ nuskaitymo konfigūracijos ekrane. Norėdami keisti tik dabartinio nuskaitymo vietą, pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite į pageidaujamą vietą.
- 2 Pasirinkite **Next** (toliau).

Išankstinės serijos patikros peržiūra

Programinė įranga atlieka automatinę sistemos patikrą prieš seriją. Patikros metu ekrane pasirodo tolesni indikatoriai.

- ▶ **Pilka** 🚫 varnelė – patikra dar neatlikta.
- ▶ **Eigos** ⚙️ piktograma – patikra vykdoma.
- ▶ **Žalia** ✓ varnelė – patikra baigta sėkmingai.
- ▶ **Raudona** ✖ – patikra su klaidomis. Dėl kiekvieno elemento, kurio patikra nepavyko, reikia imtis veiksmų prieš tęsiant toliau. Žr. *Automatinės patikros klaidų sprendimas* 44 psl.

Norėdami sustabdyti vykdomą automatinę išankstinę serijos patikrą, paspauskite mygtuką **Cancel** (atšaukti). Norėdami iš naujo paleisti patikrą, paspauskite mygtuką **Retry** (kartoti). Patikra tęsiama nuo pirmo nebaigto ar nepavykusio patikros etapo.

Norėdami peržiūrėti kiekvienos patikros kategorijoje rezultatus, pasirinkite skirtuką „Category“ (kategorija). Jei prietaisas nėra sukonfigūruotas automatiškai pradėti seriją, pradėkite seriją, kai bus baigta automatinė išankstinė serijos patikra.

Nuskaitymo paleidimas

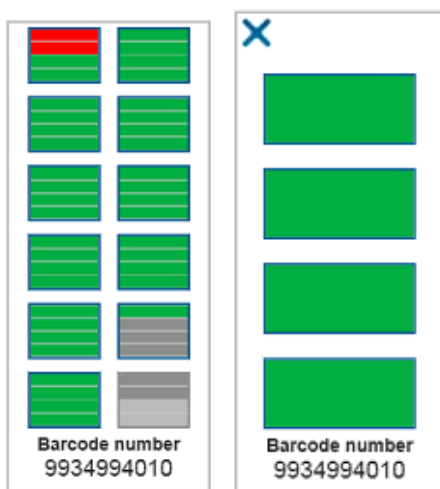
Kai baigtas automatinis tikrinimas, pasirinkite **Start** (paleisti). Prasideda nuskaitymas.

Norėdami sukonfigūruoti sistemą po sėkmingo tikrinimo paleisti nuskaitymą automatiškai, žr. *Serijos sąrankos parinkčių nustatymas* 13 psl.

Nuskaitymo eigos stebėjimas

- 1 Stebėkite nuskaitymo eigą naudodami „BeadChip“ vaizdą. Kiekviena spalva vaizde parodo nuskaitymo būseną.
 - ▶ **Šviesiai pilka** – nenuskaityta.
 - ▶ **Tamsiai pilka** – nuskaityta, bet neužregistruota.
 - ▶ **Žalia** – nuskaityta ir sėkmingai užregistruota.
 - ▶ **Raudona** – nuskaityti ir užregistruoti nepavyko.Nepavykus užregistruoti, galite iš naujo nuskaityti mėginius, kuriuose yra sutrikusių sekcijų. Žr. *„BeadChip“ nuskaitymo triktis* 48 psl.
- 2 Norėdami kaitalioti visą vaizdą ir išsamų pasirinkto mėginio vaizdą, pasirinkite „BeadChip“ vaizdą.
 - ▶ Visame vaizde rodomi „BeadChip“ esantys mėginiai ir sekcijos kiekviename mėginyje.
 - ▶ Išsamiaame vaizde rodoma kiekviena sekcija pasirinktame mėginyje.

23 pav. „BeadChip“ vaizdas: visas vaizdas ir išsamus vaizdas



PASTABA Nuskaitymo nutraukimas yra galutinis. Jei nutrauksite nuskaitymą, kol jis dar nebaigtas, nuskaitymo duomenys *nebus* įrašyti.

Duomenų perdavimas

Nustatoma duomenų eilė perduoti į nuskaitymo išvesties aplanką, kai nuskaitymas baigtas. Duomenys laikinai įrašomi į prietaiso kompiuterį. Laikinas aplankas iš prietaiso kompiuterio panaikinamas automatiškai, kai pradėdamas tolesnis nuskaitymas.

Duomenų perdavimui reikiamas laikas priklauso nuo jūsų tinklo ryšio. Prieš pradėdami tolesnį nuskaitymą įsitikinkite, kad duomenys buvo įrašyti į išvesties aplanką. Norėdami patikrinti, įsitikinkite, kad GTC failai yra brūkšninio kodo aplanke. Daugiau informacijos žr. *Išvesties aplanko struktūros nuskaitymas 63 psl.*

Nutraukus ryšį, duomenų perdavimas atnaujinamas automatiškai, kai atkuriamas ryšys. Kiekviename faile atsiranda 1 val. laikmatis, nustačius jo eilę perduoti į išvesties aplanką. Baigiantis laikmačio galiojimo laikui arba pakartotinai paleidus prietaisą prieš baigiant perduoti, duomenys į išvesties aplanką neįrašomi.

5 skyrius. Priežiūra

Įvadas	35
Rankinis plovimas	35
Oro filtro keitimas	38
Programinės įrangos naujiniai	39
Paleidimo iš naujo ir išjungimo parinktys	41

Įvadas

Priežiūros procedūrą sudaro rankiniai prietaiso plovimai ir oro filtro keitimas. Taip pat aprašytos prietaiso išjungimo ir paleidimo iš naujo parinktys.

- ▶ **Prietaiso plovimai** – automatinis plovimas atlikus seriją po kiekvienos sekos nustatymo serijos palaiko tinkamą prietaiso veikimą. Tačiau tam tikromis sąlygomis reikia periodiškai plauti rankiniu būdu.
Žr. *Rankinis plovimas 35 psl.*
- ▶ **Oro filtro keitimas** – reguliarus oro filtro keitimas užtikrina tinkamo oro srautą prietaisu.

Profilaktinė priežiūra

„Illumina“ rekomenduoja planuoti profilaktinę techninę priežiūrą kasmet. Jei neturite priežiūros paslaugų teikimo sutarties, kreipkitės į vietinį paskyros valdytoją arba „Illumina“ techninės pagalbos skyrių ir susitarkite dėl mokamų profilaktinės priežiūros paslaugų.

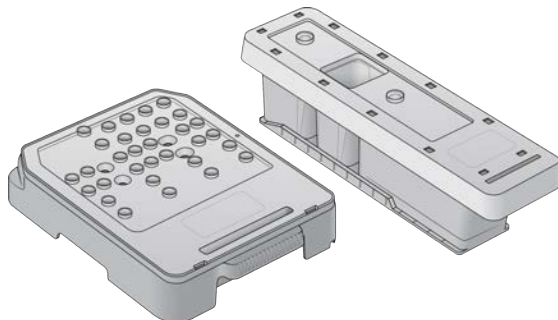
Rankinis plovimas

Rankiniai plovimai inicijuojami pagrindiniame ekrane. Plovimo parinktys apima greitąjį plovimą ir rankinį plovimą po serijos.

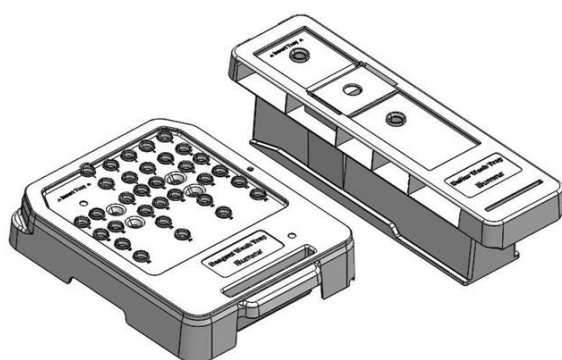
Plovimo tipai	Aprašymas
Greitasis plovimas Trukmė: 20 min.	Sistema plaunama naudotojo pateikiamu laboratorinio vandens plovimo tirpalu ir „Tween 20“ (buferinio tirpalo plovimo kasetė). <ul style="list-style-type: none">• Reikia atlikti kas 14 dienų, kai prietaisas nenaudojamas su įdėta reagentų kasete ir buferinio tirpalo kasete.• Atlikite kas 7 dienas, kai prietaisas yra sausas (reagentų kasetė ir buferinio tirpalo kasetė yra išimtos).
Rankinis plovimas atlikus seriją Trukmė: 90 min.	Sistema plaunama naudotojo pateikiamu laboratorinio vandens plovimo tirpalu, „Tween 20“ (buferinio tirpalo plovimo kasetė) ir 0,12 % natrio hipochloritu (reagentų plovimo kasetė). Būtina, jei nevykdytas automatinis plovimas po serijos.

Rankiniam plovimui atlikti reikia su prietaisu pateikiamų reagentų plovimo kasetės ir buferinio tirpalo plovimo kasetės bei panaudotos pratekamosios kiuvetės. Panaudota pratekamoji kiuvetė prietaisui plauti gali būti naudojama iki 20 kartų.

24 pav. Originalaus stiliaus reagentų plovimo kasetė ir buferinio tirpalo plovimo kasetė.



25 pav. Naujo stiliaus reagentų plovimo kasetė ir buferinio tirpalo plovimo kasetė.



Rankinio plovimo po serijos parengimas

Pasirinkite, ar parengti rankinį plovimą po serijos, kaip aprašyta toliau, ar greitąjį plovimą (kitas skyrius). Jei ketinate plauti rankiniu būdu po serijos, praleiskite greitojo plovimo skyrių ir pereikite į skyrių *Panaudotos pratekamosios kiuvetės ir plovimo kasečių įdėjimas 37 psl.*

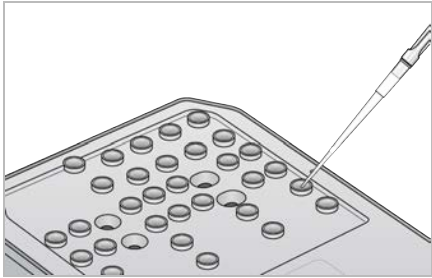
Naudotojo pateikiamos eksploatacinės medžiagos	Tūris ir aprašymas
NaOCl	1 ml, skiedžiama iki 0,12 % tūrio Įdedama į reagentų plovimo kasetę (padėtis Nr. 28)
100 % „Tween 20“ Laboratorinis vanduo	Naudojama 125 ml 0,05 % „Tween 20“ plovimo tirpalo Įdedama į buferinio tirpalo plovimo kasetę (centrinis rezervuaras)

PASTABA Visuomet naudokite šviežią per paskutiniąsias **24 val.** paruoštą NaOCl skiedinį. Pagaminę didesnę nei 1 ml kiekį, skiedinį artimiausias 24 val. laikykite 2–8 °C temperatūroje. Kitu atveju likusį NaOCl skiedinio tūrį išmeskite.

- 1 Mikrocentrifugos mėgintuvėlyje sumaišykite tolesnius tūrius taip, kad susidarytų 1 ml 0,12 % NaOCl.
 - ▶ 5 % NaOCl (24 µl)
 - ▶ Laboratorinis vanduo (976 µl)
- 2 Apverskite mėgintuvėlį, kad išmaišytumėte.

- Į reagentų plovimo kasetę įpilkite 1 ml 0,12 % NaOCl. Tinkamas rezervuaras iš anksto pripildytoje kasetėje atitinka padėtį Nr.28.

26 pav. NaOCl įdėjimas



- Sumaišykite tolesnius tūrius taip, kad susidarytų 0,05 % „Tween 20“ plovimo tirpalo. Originalaus stiliaus buferinio tirpalo plovimo kasetė
 - ▶ 100 % „Tween 20“ (62 µl)
 - ▶ Laboratorinis vanduo (125 ml)
 - ▶ Į buferinio tirpalo plovimo kasetės centrinį rezervuarą įpilkite 125 ml plovimo tirpalo.Naujo stiliaus buferinio tirpalo plovimo kasetė
 - ▶ 100 % „Tween 20“ (75 µl)
 - ▶ Laboratorinis vanduo (150 ml)
 - ▶ Į buferinio tirpalo plovimo kasetės centrinį rezervuarą įpilkite 150 ml plovimo tirpalo.
- Pasirinkite **Perform Wash** (vykdyti plovimą), o tada – **Manual Post-Run Wash** (rankinis plovimas po serijos).

Greitojo plovimo parengimas

Galite parengti greitąjį plovimą, kaip aprašyta toliau (kaip alternatyva) skyriuje *Rankinio plovimo po serijos parengimas 36 psl.*

Naudotojo pateikiamos eksploatacinės medžiagos	Tūris ir aprašymas
100 % „Tween 20“ Laboratorinis vanduo	Naudojama 40 ml 0,05 % „Tween 20“ plovimo tirpalo Įdedama į buferinio tirpalo plovimo kasetę (centrinis rezervuaras)

- Sumaišykite tolesnius tūrius taip, kad susidarytų 0,05 % „Tween 20“ plovimo tirpalo.
 - ▶ 100 % „Tween 20“ (20 µl)
 - ▶ Laboratorinis vanduo (40 ml)
- Į buferinio tirpalo plovimo kasetės centrinį rezervuarą įpilkite 40 ml plovimo tirpalo.
- Pasirinkite **Perform Wash** (vykdyti plovimą), tada – **Quick Wash** (greitasis plovimas).

Panaudotos pratekamosios kiuvetės ir plovimo kasečių įdėjimas

- Jei panaudotos pratekamosios kiuvetės nėra, įdėkite ją. Pasirinkite **Load** (įdėti), tada – **Next** (toliau).

- Išimkite panaudotų reagentų talpyklą ir pašalinkite turinį pagal taikytinus standartus.



ĮSPĖJIMAS

Šiame reagentų rinkinyje yra galimai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Su panaudotais reagentais elkitės kaip su cheminėmis atliekomis ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų. Papildomos aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape adresu support.illumina.com/sds.html.

- Stumkite tuščią panaudotų reagentų talpyklą į buferinio tirpalo skyrių, kol sustos.
- Jei yra, išimkite vykdant ankstesnę seriją panaudotą buferinio tirpalo kasetę.
- Įdėkite buferinio tirpalo plovimo kasetę, kurioje yra plovimo tirpalo.
- Jei yra, išimkite vykdant ankstesnę seriją panaudotą reagentų kasetę.
- Įdėkite reagentų plovimo kasetę.
- Pasirinkite **Next** (toliau). Išankstinio plovimo patikra pradeda automatiškai.

Plovimo paleidimas

- Pasirinkite **Start** (pradėti).
- Kai plovimas baigtas, pasirinkite **Home** (pagrindinis).

Po plovimo

Po plovimo siurbtukai lieka apatinėje padėtyje, kad į sistemą nepatektų oro. Palikite kasetes savo vietoje iki kitos serijos.

Oro filtro keitimas

Naujos sistemos pateikiamos su trimis atsarginiais oro filtrais. Juos reikia sandėliuoti ir naudoti gavus prietaiso paraginimą filtrą pakeisti.

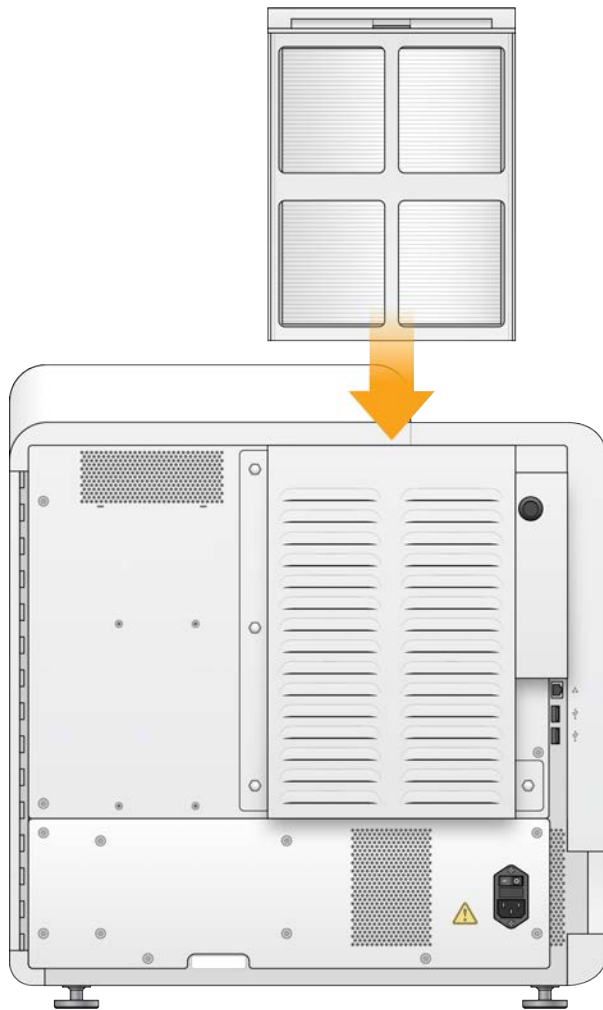
Oro filtras užtikrina oro srautą prietaise. Programinė įranga kas 90 dienų parodo pranešimą, kad laikas pakeisti oro filtrą. Kai būsite paraginti, pasirinkite **Remind in 1 day** (priminti už 1 dienos) arba vadovaukitės tolesne procedūra ir pasirinkite **Filter Changed** (filtras pakeistas). 90 dienų atgalinė atskaita iš naujo nustatoma pasirinkus **Filter Changed** (filtras pakeistas).

- Iš pakuotės išimkite naują oro filtrą ir įrašykite datą, kada jį uždėsite ant filtro rėmo.
- Prietaiso gale paspauskite žemyn filtro dėklą, kad atlaisvintumėte dėklą.
- Suimkite už filtro padėklo viršutinės dalies ir truktelėkite, kad padėklą visiškai iškeltumėte iš prietaiso.
- Išimkite ir išmeskite senąjį oro filtrą.
- Į padėklą įdėkite naują oro filtrą.

PASTABA Oro filtras veiks netinkamai, jeigu bus įdėtas atvirkščiai. Įsitikinkite, kad oro filtrą į dėklą įdedate taip, kad matytumėte žalią rodyklę į viršų ir negalėtumėte matyti įspėjamosios etiketės. Rodyklė turi būti nukreipta link filtro padėklo rankenėlės.

- Įstumkite filtro padėklą į prietaisą. Žemyn stumkite filtro padėklo viršutinę dalį tol, kol ji užsifiksuos.

27 pav. Oro filtro įdėjimas




Programinės įrangos naujiniai

Programinės įrangos naujiniai įtraukti į paketą, vadinamą „System Suite“, kuris apima šią programinę įrangą:

- ▶ „NextSeq“ valdymo programinė įranga (NCS)
- ▶ „NextSeq“ veikimo būdai
- ▶ RTA2
- ▶ „NextSeq“ paslaugų programinė įranga (NSS)
- ▶ Sekos nustatymo analizės peržiūros programa (SAV)
- ▶ „BaseSpace Broker“

Programinės įrangos naujinius galite įdiegti automatiškai naudodami interneto ryšį arba rankiniu būdu iš tinklo arba USB vietos.

- ▶ **Automatinis naujinimas** – prie tinklo prijungtiems prietaisams su interneto prieiga; kai pasiekiamas naujins, pagrindiniame ekrane paspaudus mygtuką „Manage Instrument“ (valdyti prietaisą), pasirodo įspėjimo  piktograma.

- ▶ **Rankinis naujinimas** – atsisiųskite „System Suite“ diegimo programą iš „NextSeq 550Dx“ prietaiso [palaikymo puslapio](#), esančio „Illumina“ interneto svetainėje.

Automatinis programinės įrangos naujinimas

- 1 Pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
- 2 Pasirinkite **Software Update** (programinės įrangos naujinys).
- 3 Pasirinkite **Install the update already downloaded from BaseSpace** (diegti jau atsisiųstą iš „BaseSpace“ naujinį).
- 4 Norėdami pradėti naujinti, pasirinkite **Update** (naujinti). Komandai patvirtinti atsidaro dialogo langas.
- 5 Vadovaukitės diegimo vedlio raginimais:
 - a Sutikite su licencinės sutarties sąlygomis.
 - b Peržiūrėkite laidos pastabas.
 - c Peržiūrėkite į naujinį įtrauktą programinės įrangos sąrašą.

Kai naujinimas baigtas, valdiklio programinė įranga automatiškai paleidžiama iš naujo.

PASTABA Jei pateikiamas programinės aparatinės įrangos naujinys, atnaujinus sistemą būtina automatiškai paleisti iš naujo.

Rankinis programinės įrangos naujinimas

- 1 Atsisiųskite „System Suite“ diegimo programą iš „Illumina“ interneto svetainės ir įrašykite ją į tinklo vietą.
Arba programinės įrangos diegimo failą nukopijuokite į nešiojamąjį USB diską.
- 2 Pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
- 3 Pasirinkite **Software Update** (programinės įrangos naujinys).
- 4 Pasirinkite **Manually install the update from the following location** (rankiniu būdu įdiegti naujinį iš šios vietos).
- 5 Pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite į programinės įrangos diegimo failo vietą, o tada pasirinkite **Update** (naujinti).
- 6 Vadovaukitės diegimo vedlio raginimais:
 - a Sutikite su licencinės sutarties sąlygomis.
 - b Peržiūrėkite laidos pastabas.
 - c Peržiūrėkite į naujinį įtrauktą programinės įrangos sąrašą.

Kai naujinimas baigtas, valdiklio programinė įranga automatiškai paleidžiama iš naujo.

PASTABA Jei pateikiamas programinės aparatinės įrangos naujinys, atnaujinus sistemą būtina automatiškai paleisti iš naujo.

Paleidimo iš naujo ir išjungimo parinktys

Pasiekite tolesnes parinktis pasirinkdami mygtuką Reboot / Shutdown (paleisti iš naujo / išjungti).

- ▶ „Reboot to RUO“ (paleisti iš naujo į RUO) – prietaisas atidaromas mokslinių tyrimų režimu.
- ▶ „Restart“ (paleisti iš naujo) – prietaisas atidaromas diagnostikos režimu.
- ▶ „Restart to Dx from RUO“ (paleisti iš naujo į Dx iš RUO) – prietaisas atidaromas diagnostikos režimu.
- ▶ „Shutdown“ (išjungti) – vėl įjungtas, prietaisas atidaromas diagnostikos režimu.
- ▶ „Windows“ sustabdymas – atsižvelgiant į teises, galite uždaryti NCS ir peržiūrėti „Windows“.

Paleidimas iš naujo diagnostikos režimui suaktyvinti

Naudokite komandą „Restart“ (paleisti iš naujo), kad saugiai išjungtumėte prietaisą ir pakartotinai paleistumėte diagnostikos režimu. Diagnostikos režimas yra numatytasis paleidimo režimas.

- 1 Pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
- 2 Pasirinkite **Reboot / Shutdown** (paleisti iš naujo / išjungti).
- 3 Pasirinkite **Restart** (paleisti iš naujo).

Prietaiso išjungimas

- 1 Pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
- 2 Pasirinkite **Reboot / Shutdown** (paleisti iš naujo / išjungti).
- 3 Pasirinkite **Shutdown** (išjungti).

Komanda „Shutdown“ (išjungti) saugiai išjungia programinę įrangą ir išjungia prietaiso maitinimą. Palaukite bent 60 sekundžių prieš vėl įjungdami prietaisą.

PASTABA Pagal numatytąsias nuostatas įjungtas prietaisas paleidžiamas diagnostikos režimu.



DĖMESIO!

Neperkelkite prietaiso. Netinkamu būdu perkėlus prietaisą, galima paveikti optinį lygiavimą ir pažeisti duomenų vientisumą. Prireikus perkelti prietaisą, susisiekite su „Illumina“ atstovu.

Išėjimas į „Windows“

Komanda „Exit to Windows“ (išeiti į „Windows“) suteikia prieigą prie prietaiso operacinės sistemos ir bet kurio aplanko prietaiso kompiuteryje. Ši komanda saugiai išjungia programinę įrangą ir išeina į „Windows“. Tik administratorius gali naudoti išėjimo į „Windows“ komandą.

- 1 Pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
- 2 Pasirinkite **Reboot / Shutdown** (paleisti iš naujo / išjungti).
- 3 Pasirinkite **Exit to Windows** (išeiti į „Windows“).

A priedas. Trikčių šalinimas

Įvadas	43
Trikčių šalinimo failai	43
Automatinės patikros klaidų sprendimas	44
Panaudotų reagentų talpykla yra pilna	46
Pakartotinės hibridizacijos darbo eiga	46
„BeadChip“ ir nuskaitymo klaidos	48
Pasirinktiniai veikimo būdai ir veikimo būdų aplankai	50
RAID klaidos pranešimas	50
Sistemos nuostatų konfigūravimas	50

Įvadas

Kilus kokybės ar veikimo problemų, susiekite su „Illumina“ techninės pagalbos skyriumi. Žr. *Techninė pagalba* 69 psl.

Trikčių šalinimo failai

„Illumina“ techninės pagalbos tarnybos atstovas gali paprašyti konkrečios serijos ar konkretaus nuskaitymo failų kopijų, kad galėtų nustatyti problemas. Paprastai trikčių diagnostikai naudojami tolesni failai.

Sekos nustatymo serijų trikčių šalinimas

Pagrindinis failas	Aplankas	Aprašymas
Serijos informacinis failas (RunInfo.xml)	Šaknis aplankas	Pateikta tolesnė informacija. <ul style="list-style-type: none">• Serijos pavadinimas• Serijos ciklų skaičius• Kiekvieno nuskaitymo ciklų skaičius• Ar nuskaitymas yra indeksuotas• Juostų ir išsklotinių pratekamojoje kiuvetėje skaičius
Serijos parametrų failas (RunParameters.xml)	Šaknis aplankas	Pateikta informacija apie serijos parametrus ir serijos komponentus. Informacija apima RFID, serijos numerį, dalies numerį ir galiojimo pabaigos datą.
RTA konfigūracijos failas (RTAConfiguration.xml)	Šaknis aplankas	Pateiktos RTA serijos konfigūracijos nuostatos. Failas RTAConfiguration.xml sukuriama serijos pradžioje.
„InterOp“ failai (*.bin)	„InterOp“	Dvejetainiai ataskaitų failai. „InterOp“ failai atnaujinami visos serijos procedūros metu.
Žurnalo failai	Žurnalai	Žurnalo failai apibūdina kiekvieną veiksmą, kurį prietaisas atlieka kiekvienam ciklui, ir pateikia programinės bei programinės aparatinės įrangos versijas, naudojamas vykdant seriją. Faile, pavadintame [InstrumentName]_CurrentHardware.csv, pateikiami prietaiso komponentų serijos numeriai.
Klaidų žurnalo failai (*ErrorLog*.txt)	RTA žurnalai	RTA klaidų žurnalas. Klaidų žurnalo failai atnaujinami įvykus klaidai.
Visuotinio žurnalo failai (*GlobalLog*.tsv)	RTA žurnalai	Visų RTA įvykių žurnalas. Visuotinio žurnalo failai atnaujinami visos serijos procedūros metu.
Takelių žurnalo failai (*LaneLog*.txt)	RTA žurnalai	Registruoja RTA apdorojimo įvykius. Takelių žurnalo failai atnaujinami visos serijos procedūros metu.

RTA klaidos

Norėdami pašalinti RTA klaidas, pirmiausia patikrinkite RTA klaidų žurnalą, kuris saugomas aplanke „RTALogs“. Šio failo sėkmingai įvykdytose serijose nėra. Pranešdami apie problemas „Illumina“ techninės pagalbos tarnybai, įtraukite ir klaidų žurnalą.

Matricos nuskaitymų trikčių šalinimo failai

Pagrindinis failas	Aplanke	Aprašymas
Nuskaitymo parametrų failas (ScanParameters.xml)	Šakninis aplanke	Pateikta informacija apie nuskaitymo parametrus. Informacija apima nuskaitymo datą, „BeadChip“ brūkšninį kodą, sankaupos failo vietą ir deklaracijos failo vietą.
Žurnalo failai	Žurnalai	Žurnalo failai apibūdina kiekvieną nuskaitymo metu prietaise atliktą veiksmą.
Metrikos failai	[Brūkšninis kodas]	Metrika pateikiama kaip mėginio metrika ir kaip sekcijos metrika. [brūkšninis kodas]_mėginys_metrika.csv – kiekvienam mėginiui ir kanalui (raudonos ir žalios spalvų) pateikiamos vertės: „Percent Off Image“ (vaizdo procentinė vertė), „Percent Outliers“ (procentinės kraštutinės vertės), P05, P50, P95, „Avg FWHM Avg“ (vid. FWHM vid.), „FWHM Stddev“ (FWHM vid. nuokr.) ir „Min Registration Score“ (min. registravimo įvertis). [brūkšninis kodas]_sekcija_metrika.csv – kiekvienai sekcijai ir išsklotinei pateikiamos vertės: „Laser Z-position“ (lazerio Z padėtis), „Through Focus Z-position“ (Z padėtis fokusuojant), „Red FWHM“ (raudonos spalvos FWHM), „Green FWHM“ (žalios spalvos FWHM), „Red Avg Pixel Intensity“ (raudonos spalvos vid. pikselių ryškumas), „Green Avg Pixel Intensity“ (žalios spalvos vid. pikselių ryškumas), „Red Registration Score“ (raudonos spalvos registravimo įvertis) ir „Green Registration Score“ (žalios spalvos registravimo įvertis).
Pakartotiniai nuskaityti failai	[Brūkšninis kodas]	[brūkšninis kodas]_rescan.flowcell – pateikiamos pakoreguotos dėl pakartotinio nuskaitymo išsklotinių vietos, kurios apima padidintą vienos išsklotinės ant kitos perdangą.

Automatinės patikros klaidų sprendimas

Jei automatinės patikros metu įvyksta klaidų, atlikite tolesnius rekomenduojamus veiksmus, kad išspręstumėte klaidą.

Sekos nustatymo serijų patikros

Nepavykus atlikti patikros prieš seriją, reagentų kasetės RFID neblokuojamas ir gali būti naudojamas tolesnei serijai vykdyti. Tačiau inicijuojant valdymo programinę įrangą, ko gali reikėti klaidai išspręsti, pratekamosios kiuvetės, reagento kasetės ir buferinio tirpalo kasetės RFID bus užblokuoti. Prieš paleisdamas sistemą iš naujo, naudotojas turi išimti pratekamąją kiuvetę, reagento kasetę ir buferinio tirpalo kasetę iš prietaiso. Be to, pradūrus folijos sandariklius užblokuojami eksploatacinių medžiagų RFID. Programinei įrangai nuskaičius pratekamosios kiuvetės RFID, paleidžiamas 7 valandų laikmatis, o šiam laikui praėjus pratekamoji kiuvetė laikoma užblokuota ir nenaudojama.

Sistemos patikros	Rekomenduojamas veiksmas
Uždarytos durelės	Įsitikinkite, kad uždarytos skyriaus durelės.
Įdėtos eksploatacinės medžiagos	Eksploatacinių medžiagų jutikliai neregistruojami. Įsitikinkite, kad tinkamai įdėtos visos eksploatacinės medžiagos. Norėdami grįžti į įdėjimo veiksmą ir iš naujo atlikti serijos sąranką, serijos sąrankos ekrane pasirinkite Back (atgal).

Sistemos patikros	Rekomenduojamas veiksmas
Reikalinga programinė įranga	Trūksta svarbiausių programinės įrangos komponentų. Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Vietos kiekis prietaiso diske	Prietaiso standžiajame diske nepakanka vietos, kad būtų galima vykdyti seriją. Gali būti, kad neperduoti ankstesnės serijos duomenys. Išvalykite prietaiso standžiajame diske esančius serijos duomenis.
Tinklo ryšys	Tinklo ryšys nutrauktas. Patikrinkite tinklo būseną ir fizinių tinklo ryšį.
Vietos kiekis tinklo diske	Užpildytas tinklo serveris.

Temperatūra	Rekomenduojamas veiksmas
Temperatūra	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Temperatūros jutikliai	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Ventiliatoriai	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.

Vaizdavimo sistema	Rekomenduojamas veiksmas
Vaizdavimo ribos	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Z veiksmas ir sprendimas	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Klaidingų bitų dažnis	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Pratekamosios kiuvetės registravimas	Gali būti, kad pratekamoji kiuvetė netinkamai įstatyta. <ul style="list-style-type: none"> Norėdami grįžti į pratekamosios kiuvetės veiksmą, serijos sąrankos ekranuose pasirinkite Back (atgal). Atsidaro vaizdavimo skyriaus durelės. Išimkite ir vėl įdėkite pratekamąją kiuvetę, kad įsitikintumėte, jog ji tinkamai įstatyta.

Reagentų tiekimas	Rekomenduojamas veiksmas
Vožtuvo atsakas	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Siurblys	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Buferinio tirpalo mechanizmas	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Panaudotų reagentų ištuštinimas	Ištuštinkite panaudotų reagentų talpyklą ir vėl įdėkite tuščią talpyklą.

Matricos nuskaitymų tikrinimai

Sistemos patikros	Rekomenduojamas veiksmas
Uždarytos durelės	Įsitikinkite, kad uždarytos skyriaus durelės.
Įdėtos eksploatacinės medžiagos	Eksploatacinių medžiagų jutikliai neregistruojami. Įsitikinkite, kad tinkamai įdėtos visos eksploatacinės medžiagos. Norėdami grįžti į įdėjimo veiksmą ir iš naujo atlikti serijos sąranką, serijos sąrankos ekranuose pasirinkite Back (atgal).
Reikalinga programinė įranga	Trūksta svarbiausių programinės įrangos komponentų. Rankiniu būdu atlikite programinės įrangos naujinimą, kad būtų atkurti visi programinės įrangos komponentai.
Įvesties failų patikrinimas	Įsitikinkite, kad kelias į sankaupos failą ir deklaracijos failą teisingas, o failai yra.

Sistemos patikros	Rekomenduojamas veiksmas
Vietos kiekis prietaiso diske	Prietaiso standžiajame diske nepakanka vietos, kad būtų galima vykdyti seriją. Gali būti, kad neperduoti ankstesnės serijos duomenys. Išvalykite prietaiso standžiajame diske esančius serijos duomenis.
Tinklo ryšys	Tinklo ryšys nutrauktas. Patikrinkite tinklo būseną ir fizinį tinklo ryšį.
Vietos kiekis tinklo diske	Užpildyta „BaseSpace“ paskyra arba tinklo serveris.

Vaizdavimo sistema	Rekomenduojamas veiksmas
Vaizdavimo ribos	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Z veiksmi ir sprendimas	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Klaidingų bitų dažnis	Kreipkitės į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių.
Automatinis centras	Išimkite „BeadChip“ adapterį. Įsitinkite, kad „BeadChip“ įtaisytas adapteryje, tuomet vėl įdėkite adapterį.

Panaudotų reagentų talpykla yra pilna

Seriją visuomet pradėkite vykdyti naudodami ištuštintą panaudotų reagentų talpyklą.

Jei seriją pradėsite vykdyti neištuštinę panaudotų reagentų talpyklos, sistemos jutikliai paleis programinę įrangą, kad pristabdytų seriją esant pilnai talpyklai. Sistemos jutikliai negali pristabdyti serijos sancaupų išskyrimo, suporuotų pusių pakartotinės sintezės ar automatinio plovimo po serijos metu.

Kai serija pristabdoma, atsidaro dialogo langas su parinktimis pakelti siurbtukus ir ištuštinti pilną talpyklą.

Panaudotų reagentų talpos ištuštinimas

- 1 Pasirinkite **Raise Sippers** (pakelti siurbtukus).
- 2 Išimkite panaudotų reagentų talpyklą ir tinkamai išmeskite turinį.
- 3 Tuščią talpyklą vėl įdėkite į buferinio tirpalo skyrių.
- 4 Pasirinkite **Continue** (tęsti). Serija atnaujinama automatiškai.

Pakartotinės hibridizacijos darbo eiga

Pakartotinės hibridizacijos serijos gali prirreikti, jei per pirmuosius kelis ciklus sugeneruota metrika rodo mažesnį nei 2 500 intensyvumą. Kai kurios mažos įvairovės bibliotekos gali rodyti mažesnį nei 1 000 intensyvumą, kuris yra tikėtinas ir negali būti pašalintas naudojant pakartotinę hibridizaciją.

PASTABA Serijos nutraukimo komanda yra galutinė. Serijos atnaujinti negalima, serijos eksploatacinių medžiagų pakartotinai naudoti negalima, o sekos nustatymo duomenys iš tos serijos neįrašomi.

Prieš jums nutraukiant seriją programinė įrangą atlieka šiuos veiksmus:

- ▶ Nustato pratekamosios kiuvetės saugios būsenos padėtį.
- ▶ Atblokuoja pratekamosios kiuvetės RDA vėlesnei serijai vykdyti.
- ▶ Pratekamajai kiuvetei priskiria pakartotinės hibridizacijos galiojimo pabaigos datą.
- ▶ Įrašo užbaigtų ciklų serijų žurnalus. Įprasta delsa.
- ▶ Ignoruoja automatinį plovimą po serijos.

Paleidus pakartotinės hibridizacijos seriją, programinė įranga atlieka šiuos veiksmus serijai vykdyti:

- ▶ Sukuria serijos aplanką, pagrįstą unikaliu serijos pavadinimu.
- ▶ Tikrina, ar nepasibaigusi pratekamosios kiuvetės pakartotinės hibridizacijos galiojimo pabaigos data.
- ▶ Pripildo reagentus. Įprasta delsa.
- ▶ Praleidžiamas sanauų išskyrimo veiksmas.
- ▶ Pašalinamas ankstesnis 1 nuskaitymo pradmuo.
- ▶ Hibridizuojamas šviežias 1 nuskaitymo pradmuo.
- ▶ Toliau vyksta per 1 nuskaitymą ir likusią serijos dalį, pagrįstą nustatytais serijos parametrais.

Taškai, ties kuriais reikia nutraukti pakartotinės hibridizacijos seriją

Vėliau pakartotinai hibridizuoti galima tik tada, kai seriją nutrauksite ties šiais taškais:

- ▶ **Po 5 ciklo** – intensyvumas rodomas po šablono registravimo, o tam reikia pirmųjų 5 sekos nustatymo ciklų. Nors yra saugu nutraukti seriją po 1 ciklo, rekomenduojama ją nutraukti po 5 ciklo. Nenutraukite serijos sanauų generavimo metu.
- ▶ **1 nuskaitymas arba 1 indekso nuskaitymas** – serija nutraukiama *prieš* prasidedant suporuotų pusių resintezei. Pratekamoji kiuvetė negali būti išsaugota vėlesnei pakartotinei hibridizacijai prasidėjus suporuotų pusių resintezei.

Reikalingos eksploatacinės medžiagos

Pakartotinės hibridizacijos serijai reikia naujos „NextSeq 550Dx“ reagentų kasetės ir buferinės kasetės, neatsižvelgiant į tai, kada serija buvo sustabdyta.

Dabartinės serijos nutraukimas

- 1 Pasirinkite **End Run** (nutraukti seriją). Paraginti patvirtinti komandą, pasirinkite **Yes** (taip).
- 2 Paraginti išsaugoti pratekamąją kiuvetę, pasirinkite **Yes** (taip). Atkreipkite dėmesį į pakartotinės hibridizacijos galiojimo pabaigos datą.
- 3 Išimkite išsaugotą pratekamąją kiuvetę ir atidėkite į šalį esant 2–8 °C temperatūrai, kol būsite pasirengę nustatyti pakartotinės hibridizacijos seriją.

PASTABA Pratekamąją kiuvetę galite laikyti iki 7 dienų esant 2–8 °C temperatūrai plastikiniame uždaro tipo apvalkalo dėkle *be* džioviklio pakuotės. Norėdami pasiekti geriausių rezultatų, per 3 dienas pakartotinai hibridizuokite išsaugotą pratekamąją kiuvetę.

Rankinis plovimas

- 1 Pagrindiniame ekrane pasirinkite **Perform Wash** (vykdyti plovimą).
- 2 Plovimo pasirinkimo ekrane pasirinkite **Manual Post-Run Wash** (rankinis plovimas po serijos).
Žr. *Rankinis plovimas 35 psl.*

PASTABA Jei sustabdžius seriją reagentų kasetė ir buferinė kasetė nepašalinamos, jas galite naudoti rankiniam plovimui. Kitu atveju naudodami reagentų plovimo kasetę ir buferinę plovimo kasetę plovimą vykdykite rankiniu būdu.

Naujos serijos „BaseSpace“ parengimo kortelėje sąranka

- 1 Jei prietaisas sukonfigūruotas „BaseSpace“ arba „BaseSpace Onsite“, nustatykite naują seriją parengimo kortelėje naudodami tuos pačius kaip ir pirminės serijos parametrus.

PATARIMAS Spustelėkite telkinių kortelę, pasirinkite tinkamą telkinio ID, kad išsaugotumėte ankstesnes serijos nuostatas, o tada priskirkite unikalų naujos serijos pavadinimą.

Serijos prietaise sąranka

- 1 Paruoškite naują reagentų kasetę.
- 2 Jei išsaugota pratekamoji kiuvetė buvo išlaikyta, sudarykite sąlygas jai pasiekti kambario temperatūrą (15–30 min.).
- 3 Išvalykite ir įdėkite išsaugotą pratekamąją kiuvetę.
- 4 Išimkite panaudotų reagentų talpyklą ir tinkamai išmeskite turinį, o tada vėl įdėkite tuščią talpyklą.
- 5 Įdėkite naują buferinę kasetę ir reagentų kasetę.
- 6 Serijos sąrankos ekrane rinkitės iš šių parinkčių:
 - ▶ „BaseSpace“ arba „BaseSpace Onsite“ – pasirenkama serija ir patvirtinami serijos parametrai.
 - ▶ **Autonominis** – įvedamas serijos pavadinimas ir nurodomi tokie pat kaip pirminės serijos parametrai.
- 7 Norėdami pereiti prie išankstinės serijos tikrinimo ir paleisti seriją, pasirinkite **Next** (toliau).

„BeadChip“ ir nuskaitymo klaidos

Programinė įranga negali nuskaityti „BeadChip“ brūkšninio kodo

Kai pasirodo brūkšninio kodo klaidos dialogo langas, rinkitės iš šių parinkčių:

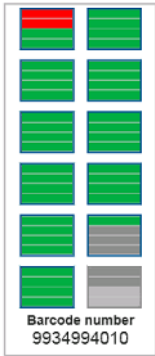
- ▶ Pasirinkite **Rescan** (nuskaityti iš naujo). Programinė įranga vėl bandys nuskaityti brūkšninį kodą.
- ▶ Pasirinkite teksto lauką ir įveskite skaitinį brūkšninį kodą, kaip parodyta paveikslėlyje. Atsižvelgiant į „BeadChip“, brūkšninio kodo numeriai turi iki 12 skaitmenų. Pasirinkite **Save** (įrašyti). Brūkšninio kodo vaizdas išsaugomas išvesties aplanke.
- ▶ Pasirinkite **Cancel** (atšaukti). Atsidaro vaizdavimo skyriaus durelės „BeadChip“ adapteriui išimti.

„BeadChip“ nuskaitymo triktis

Vaizdai registruojami juos nuskaičius. Registruojant granulės atpažįstamos pagal koreliuojamas vietas, esančias nuskaitytame vaizde su informacija, pateikta granuliu schemoje arba DMAP aplanke.

Sekcijos, kurių užregistruoti nepavyko, „BeadChip“ vaizde pažymėtos raudonai.

28 pav. „BeadChip“ rodomos sutrikusios sekcijos



Baigus nuskaitymą ir nuskaitymo duomenis įrašius į išvesties aplanką, mygtukas „Rescan“ (nuskaityti iš naujo) tampa aktyvus.

Pradėjus pakartotinį nuskaitymą, programinė įranga atlieka šiuos veiksmus:

- ▶ Iš naujo nuskaityti mėginius, kuriuose yra sutrikusių sekcijų, naudojant padidintą vienos išklotinės ant kitos perdangą.
- ▶ Išvesties failus generuoja pirminiame išvesties aplanke.
- ▶ Perrašo ankstesnius sutrikusių sekcijų išvesties failus.
- ▶ 1 padala padidina kiekvieno pakartotinio nuskaitymo skaitiklio vertę, tačiau tai atlieka fone. Programinė įranga nepervardija išvesties aplanko.

Pakartotinis nuskaitymas arba naujo nuskaitymo paleidimas

- 1 Pasirinkite **Rescan** (nuskaityti iš naujo) ir nuskaitykite mėginius, kuriuose yra sutrikusių sekcijų.
- 2 Jei nuskaityti ir toliau nepavyksta, nuskaitymą nutraukite.
- 3 Nuimkite „BeadChip“ ir adapterį, patikrinkite, ar „BeadChip“ nėra dulkių ir nuosėdų. Norėdami išvalyti nuosėdas, naudokite konservuotą orą arba kitą suspaustą dulkių šalinimo būdą.
- 4 Iš naujo įdėkite „BeadChip“ ir pradėkite naują nuskaitymą.
Pradėjus naują nuskaitymą, programinė įranga atlieka šiuos veiksmus:
 - ▶ Nuskaityti visą „BeadChip“.
 - ▶ Išvesties failus generuoja naujame išvesties aplanke.
 - ▶ 1 padala padidina nuskaitymo skaitiklio vertę pagal paskutinio pakartotinio nuskaitymo skaitiklį.

Deklaracijos failų ir sanaupos failų pakeitimas

- 1 Dėl „BeadChip“, kurį naudojate, eikite į „Illumina“ pagalbos puslapį (support.illumina.com) ir spustelėkite kortelę **Downloads** (atsisiuntimai).
- 2 Atsisiųskite failus, kuriuos reikia pakeisti arba atnaujinti, ir kopijuokite juos į pageidaujama tinklo vietą.

PASTABA Įsitikinkite, kad pasirenkate tokius deklaracijos ir sanaupos failus, kurie suderinami su „NextSeq 550Dx“ prietaiso sistema. Suderinami failai apima **NS550** failo vardą.

- 3 Tik pasikeitus vietai, atnaujinkite ją „BeadChip“ nuskaitymo konfigūracijos ekrane tokiu būdu:
 - a NCS pagrindiniame ekrane pasirinkite **Manage Instrument** (valdyti prietaisą).
 - b Pasirinkite **System Configuration** (sistemos konfigūracija).
 - c Pasirinkite **BeadChip Scan Configuration** („BeadChip“ nuskaitymo konfigūracija).
- 4 Pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite į pakeistų arba atnaujintų failų vietą.

Pasirinktiniai veikimo būdai ir veikimo būdų aplankai

Nemodifikuokite pirminių veikimo būdų. Pirminio veikimo būdo kopiją visuomet pateikite nauju pavadinimu. Jei pirminis veikimo būdas modifikuojamas, programinės įrangos naujinimo priemonė nebegali atpažinti ir vėliau atnaujinti veikimo būdo, taip pat neįdiegiamos naujesnės versijos.

Pasirinktinius veikimo būdus saugokite atitinkamame veikimo būdo aplanke. Veikimo būdų aplankai tvarkomi taip, kaip nurodyta toliau.

Pasirinktinis

 **Didelė** – tinkinti veikimo būdai naudojami su didelės išvesties rinkiniu.

 **Vidutinė** – tinkinti veikimo būdai naudojami su vidutinės išvesties rinkiniu.

 **Didelė** – pirminiai veikimo būdai naudojami su didelės išvesties rinkiniu.

 **Vidutinė** – pirminiai veikimo būdai naudojami su vidutinės išvesties rinkiniu.

 **Plovimas** – yra rankinio plovimo veikimo būdas.

RAID klaidos pranešimas

„NextSeq 550Dx“ kompiuteryje įtaisyti keturi standieji diskai: du iš jų veikia diagnostiniu režimu, kiti du – mokslinių tyrimų režimu. Jei standusis diskas pradeda gesti, sistema sugeneruoja RAID klaidos pranešimą ir siūlo kreiptis į „Illumina“ techninės priežiūros skyrių. Paprastai tokiais atvejais reikia keisti standųjį diską.

Galite tęsti serijos sąrankos veiksmus ir dirbti įprastai. Šio pranešimo tikslas – iš anksto suplanuoti techninę priežiūrą, kad būtų išvengta problemų, kai prietaisas veikia įprastai. RAID įspėjimą gali patvirtinti tik administratorius. Jei naudosite prietaisą tik su vienu kietuoju disku, galite prarasti duomenis.

Sistemos nuostatų konfigūravimas

Sistema konfigūruojama diegimo metu. Tačiau, jei reikalingas pakeitimas arba sistema turi būti iš naujo sukonfigūruota, naudokite sistemos konfigūracijos parinktį. Teisė pasiekti sistemos konfigūracijos parinktį suteikta tik „Windows“ administratoriaus paskyrai.

- ▶ **Network Configuration** (tinklo konfigūracija) – suteikia šias parinktis: IP adreso nuostatos, domeno pavadinimo serverio (DNS) adresas, kompiuterio pavadinimas ir domeno pavadinimas.

Tinklo konfigūracijos nustatymas

- 1 Ekrane „Manage Instrument“ (valdyti prietaisą) pasirinkite **System Configuration** (sistemos konfigūracija).
- 2 Pasirinkite **Obtain an IP address automatically** (gauti IP adresą automatiškai), kad automatiškai gautumėte IP adresą naudodami DHCP serverį.

PASTABA Dinaminis pagrindinio kompiuterio konfigūravimo protokolas (DHCP) – tai standartinis tinklo protokolas, naudojamas norint IP tinkluose dinamiškai paskirstyti tinklo konfigūracijos parametrus.

Arba pasirinkite **Use the following IP address** (naudoti šį IP adresą), kad prietaisas prie kito serverio būtų prijungtas rankiniu būdu taip, kaip nurodyta toliau. Dėl specifinių jūsų įrenginio adresų kreipkitės į savo tinklo administratorių.

- ▶ Įveskite IP adresą. IP adresas – tai 4 skaičiai, atskirti tašku, pavyzdžiui, panašiai kaip 168.62.20.37.
- ▶ Įveskite potinklio kaukę, kuri yra IP tinklo antrinis skaidinys.
- ▶ Įveskite numatytąjį šliuzą, kuris yra maršruto parinktuvas tinkle, prijungiantis prie interneto.

- 3 Norėdami prijungti prietaisą prie domeno pavadinimo serverio, susieto su IP adresu, pasirinkite **Obtain a DNS server address automatically** (DNS serverio adresą gauti automatiškai).

Arba pasirinkite **Use the following DNS server addresses** (naudoti šiuos DNS serverio adresus), kad prietaisas prie domeno pavadinimo serverio būtų prijungtas rankiniu būdu taip, kaip nurodyta toliau.

- ▶ Įveskite pageidaujamą DNS adresą. DNS adresas yra serverio pavadinimas, naudojamas domenų pavadinimams į IP adresus konvertuoti.
- ▶ Įveskite alternatyvų DNS adresą. Alternatyvus adresas naudojamas, jei pageidaujamas DNS negali konvertuoti konkretaus domeno pavadinimo į IP adresą.

- 4 Norėdami pereiti į kompiuterio ekraną, pasirinkite **Save** (įrašyti).

PASTABA Prietaiso kompiuterio pavadinimas yra priskirtas prietaiso kompiuteriui pagaminimo metu. Bet kokie kompiuterio pavadinimo pakeitimai gali paveikti ryšį ir juos turi atlikti tinklo administratorius.

- 5 Prijunkite prietaiso kompiuterį prie domeno arba darbo grupės, kaip nurodyta toliau.

- ▶ **Prie interneto prijungti prietaisai** – pasirinkite **Member of Domain** (domeno narys), o tada įveskite domeno pavadinimą, susietą su interneto ryšiu jūsų įrenginyje. Domeno keitimams būtinas administratoriaus naudotojo vardas ir slaptažodis.
- ▶ **Prie interneto neprijungti prietaisai** – pasirinkite **Member of Work Group** (darbo grupės narys), o tada įveskite darbo grupės pavadinimą. Jūsų įrenginio darbo grupės pavadinimas yra unikalus.

- 6 Pasirinkite **Save** (įrašyti).

Analizės konfigūracijos nustatymas

- 1 Ekrane „Manage Instrument“ (valdyti prietaisą) pasirinkite **System Configuration** (sistemos konfigūracija).

- 2 Pasirinkite **Analysis Configuration** (analizės konfigūracija).

- 3 Rinkitės iš šių parinkčių norėdami nurodyti vietą, kurioje duomenys perduodami tolesnei analizei.

- ▶ Norėdami siųsti sekos nustatymo duomenis į „Illumina BaseSpace“, pasirinkite **„BaseSpace“**. **[Pasirenkama]** Pažymėkite žymės langelį **Output Folder** (išvesties aplankas), pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite prie antrinės tinklo vietos, kad įrašytumėte BCL failus greta „BaseSpace“ failų.
- ▶ Pasirinkite **„BaseSpace Onsite“**. Serverio vardo lauke įveskite visą kelią į „BaseSpace Onsite“ serverį. **[Pasirenkama]** Pažymėkite žymės langelį **Output Folder** (išvesties aplankas), pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite prie antrinės tinklo vietos, kad įrašytumėte BCL failus greta „BaseSpace Onsite“ serverio failų.

- ▶ Norėdami įrašyti duomenis tik į tinklo vietą, pasirinkite **Standalone instrument** (autonominis prietaisas). Pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite prie pageidaujamos tinklo vietos. Valdymo programinė įranga automatiškai generuoja išvesties aplanko pavadinimą.
 - ▶ **[Pasirenkama]** Norėdami stebėti seriją naudodami vizualizavimo įrankius „BaseSpace“, pasirinkite **Use Run Monitoring** (serijos stebėsenos naudojimas). Būtinai prisijungimas prie „BaseSpace“ ir interneto ryšys.
- 4 Jei pasirinksite „BaseSpace“ arba „BaseSpace Onsite“, nustatykite „BaseSpace“ parametrus taip, kaip nurodyta toliau.
 - ▶ Įveskite „BaseSpace“ **User Name** (vartotojo vardas) ir **Password** (slaptažodis), kad prietaisą užregistruotumėte „BaseSpace“.
 - ▶ Pasirinkite **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (naudoti numatytąjį prisijungimą ir ignoruoti „BaseSpace“ prisijungimo ekraną), kad nustatytumėte registruotą vartotojo vardą ir slaptažodį kaip numatytąjį prisijungimą. Ši nuostata ignoruoja „BaseSpace“ ekraną serijos sąrankos metu.
- 5 Pasirinkite **Send Instrument Performance Data to Illumina**, kad suaktyvintumėte „Illumina Proactive“ stebėjimo paslaugą. Nuostatos pavadinimas programinės įrangos sąsajoje atsižvelgiant į NCS naudojamą versiją gali skirtis nuo šiame vadove pateikiamo pavadinimo.

Kai ši nuostata įjungta, prietaiso našumo duomenys siunčiami į „Illumina“. Šie duomenys įmonei „Illumina“ padeda lengviau šalinti triktis ir nustatyti galimus gedimus, todėl atsiranda galimybė imtis aktyvių priežiūros veiksmų ir maksimaliai padidinti prietaiso veikimo laiką. Daugiau informacijos apie šios paslaugos naudą rasite „Illumina“ pranešime dėl aktyvių techninės priežiūros veiksmų (dokumento Nr. 1000000052503).

Toliau pateikti šios paslaugos naudojimo ypatumai.

 - ▶ Nesiuočiama sekos nustatymo duomenys
 - ▶ Reikia, kad prietaisas būtų prijungtas prie tinklo, kuriame yra interneto prieiga
 - ▶ Išjungta pagal numatytąsias nuostatas. Norėdami įjungti šią paslaugą, įjunkite nuostatą **Send Instrument Performance Data to Illumina** (siųsti prietaiso našumo duomenis „Illumina“).
- 6 Pasirinkite **Save** (įrašyti).

„BeadChip“ nuskaitymo konfigūracija

- 1 Ekrane „Manage Instrument“ (valdyti prietaisą) pasirinkite **System Configuration** (sistemos konfigūracija).
- 2 Pasirinkite **BeadChip Scan Configuration** („BeadChip“ nuskaitymo konfigūracija).
- 3 Norėdami nurodyti numatytąją DMAP aplanko vietą, pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite prie pageidaujamos aplanko vietos savo įrenginio tinkle.

PASTABA Prieš kiekvieną nuskaitymą atsisiųskite ir nukopijuokite DMAP turinį į šią vietą. DMAP turinys būtinas kiekvienam „BeadChip“ ir yra unikalus kiekvienam „BeadChip“ brūkšniniam kodui.

- 4 Norėdami nurodyti numatytąją išvesties vietą, pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite prie pageidaujamos vietos savo įrenginio tinkle.
- 5 Pasirinkite įrašytų vaizdų vaizdo failo formatą. Numatytasis vaizdo tipas yra **JPG**.
- 6 Pasirinkite nuskaitymo duomenų išvesties failo formatą. Numatytasis išvesties failo tipas yra **tik GTC**.
- 7 Pasirinkite **Save** (įrašyti).

- 8 Schemos nuskaitymo ekrane nurodykite visą kelią į deklaracijos failą ir sandėlio failą kiekvienam „BeadChip“ tipui. Kiekvienam failo tipui pasirinkite **Browse** (naršyti) ir pereikite prie aplanko vietos, kurioje šie failai yra.
- 9 **[Pasirenkama]** Norėdami pašalinti „BeadChip“ iš rodinio, kuris yra pasenęs, pasirinkite **Hide Obsolete BeadChips** (slėpti pasenusius „BeadChip“).
- 10 Pasirinkite **Save** (įrašyti).

B priedas. Analizė realiuoju laiku

Analizės realiuoju laiku apžvalga	55
Analizės realiuoju laiku darbo eiga	56

Analizės realiuoju laiku apžvalga

Prietaise „NextSeq 550Dx“ naudojamas analizės realiuoju laiku (RTA) programinės įrangos diegimo sprendimas, vadinamas RTA2. RTA2 veikia prietaiso kompiuteryje ir išskiria intensyvumą iš vaizdų, atlieka bazių priskyrimą ir priskiria kokybės įverčius bazių priskyrimams. RTA2 ir operacinė programinė įranga palaiko ryšį per žiniatinklio HTTP sąsają ir bendrai naudojamus atminties failus. Jei RTA2 nutraukiama, apdorojimas neatsinaujina ir serijos duomenys neįrašomi.

RTA2 įvestys

Norint, kad vyktų RTA2 apdorojimas, reikalinga toliau nurodyta įvestis.

- ▶ Vietinės sistemos atmintyje saugomi išsklotinių vaizdai.
- ▶ **RunInfo.xml**, kuris automatiškai sugeneruojamas serijos pradžioje ir pateikia serijos pavadinimą, ciklų skaičių – nesvarbu, ar nuskaitymui priskirtas indeksas, bei išsklotinių skaičių pratekamojoje kiuvetėje.
- ▶ **RTA.exe.config**, kuris yra programinės įrangos konfigūracijos failas XML formatu.

RTA2 gauna komandas iš operacinės programinės įrangos apie **RunInfo.xml** vietą ir ar nurodytas pasirinktinis išvesties aplankas.

RTA2 išvesties failai

Kiekvieno kanalo vaizdai į atmintį **perduodami** kaip išsklotinės. Išsklotinės – tai nedidelės vaizdavimo sritys pratekamojoje kiuvetėje, apibrėžiamos kaip kameros rodinio laukas. Iš šių vaizdų programinė įranga sukuria išvestį kaip įvertintos kokybės bazių priskyrimo failų ir filtro failų rinkinį. Visi kiti failai palaiko išvesties failus.

Failo tipas	Aprašas
Bazių priskyrimo failai	Kiekviena analizuojama išsklotinė yra įtraukta į kiekvieno takelio ir kiekvieno ciklo agreguotą bazių priskyrimo (*.bcl.bgzf) failą. Agreguotame bazių priskyrimo faile pateikiamas bazių priskyrimas ir atitinkamas kiekvienos sankaupos tame takelyje kokybės įvertis.
Failų filtravimas	Kiekviena išsklotinė sukuria filtro informaciją, kuri agreguojama kiekvieno takelio 1 filtre (*.filter). Filtro faile nurodoma, ar sankaupa praleidžiama per filtrus.
Sankaupos vietų failai	Sankaupos vietų (*.locs) failuose pateikiamos kiekvienos išsklotinėje esančios sankaupos X, Y koordinatės. Generuojant šablonus sugeneruojamas kiekvieno takelio sankaupos vietų failas.
Bazių priskyrimo indekso failai	Norint išsaugoti pirminės išsklotinės informaciją, kiekvienam takeliui sukuriama bazių priskyrimo indekso (*.bci) failas. Indekso failą sudaro kiekvienos išsklotinės verčių – išsklotinės numerio ir tos išsklotinės sankaupų skaičiaus – pora.

RTA2 suteikia serijos kokybės metrikas realiuoju laiku, saugomos kaip „InterOp“ failai. „InterOp“ failai yra dvejetainės išvestys, kurias sudaro išsklotinė, ciklas ir nuskaitymo lygmens metrika.

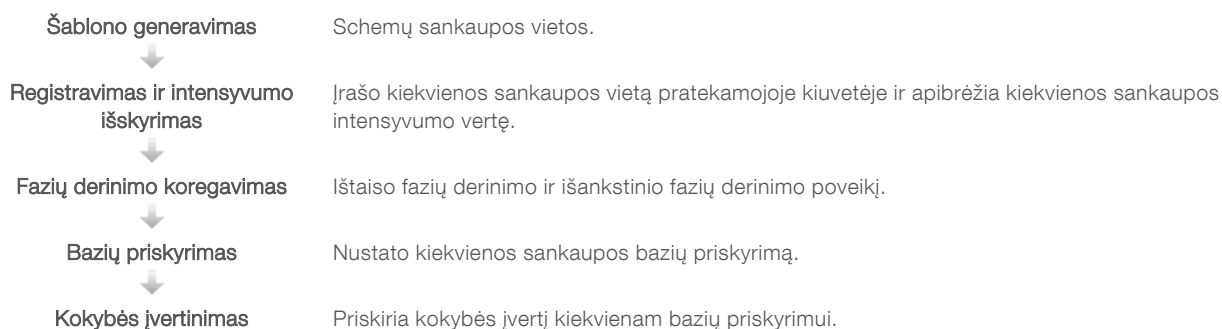
Klaidų apdorojimas

RTA2 sukuria žurnalo failus ir įrašo juos į aplanką „RTALogs“. Klaidos įrašomos į klaidų failą *.stv failo formatu.

Toliau nurodyti žurnalo ir klaidų failai apdorojimo pabaigoje perduodami į galutinę paskirties vietą.

- ▶ *GlobalLog*.tsv faile apibendrinami svarbūs serijos metu nutikę įvykiai.
- ▶ *LaneNLog*.tsv faile pateikiami kiekvieno takelio apdorojimo įvykiai.
- ▶ *Error*.tsv faile nurodomos serijos metu įvykusios klaidos.
- ▶ *WarningLog*.tsv faile nurodomi serijos metu pateikti įspėjimai.

Analizės realiuoju laiku darbo eiga



Šablono generavimas

Pirmasis RTA darbo eigos veiksmas yra šablonų generavimas, apibrėžiantis kiekvienos sancaupos padėtį išklotinėje naudojant X ir Y koordinates.

Šablonams generuoti reikia vaizdo duomenų iš pirmųjų 5 serijos ciklų. Atvaizdavirus paskutinį išklotinės šablono ciklą, šablonas sugeneruojamas.

PASTABA Norint aptikti sancaupą, kai generuojamas šablonas, turi būti bent viena bazė, tik ne G, pirmuose penkiuose cikluose. Bet kuriam indekso sekos nustatymui RTA2 reikia bent vienos bazės, tik ne G, pirmuose dviejuose cikluose.

Šablonas naudojamas kaip nuoroda atliekant tolesnius registravimo ir intensyvumo išskyrimo veiksmus. Visos pratekamosios kiuvetės sancaupų vietos yra įrašomos į sancaupos vietos failą (*.locs) (po vieną failą kiekvienam takeliui).

Registravimas ir intensyvumo išskyrimas

Registravimas ir intensyvumo išskyrimas prasideda po šablonų generavimo.

- ▶ Registruojant sulygiuojami vaizdai, sukurti per kiekvieną tolesnį vaizdavimo pagal šabloną ciklą.
- ▶ Per intensyvumo išskyrimą nustatoma kiekvienos duotojo vaizdo sancaupos šablone intensyvumo vertė.

Jei bet kurio vaizdo cikle registracija nepavyksta, tai išklotinei tame cikle nėra sugeneruojamas nė vienas bazių priskyrimas.

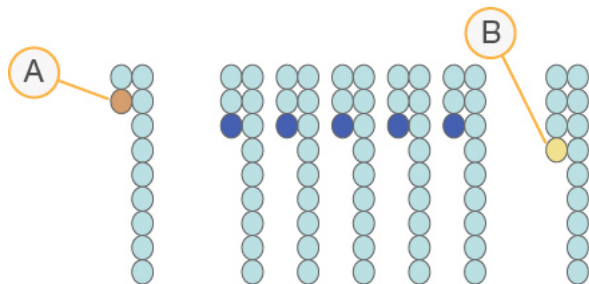
Fazių derinimo koregavimas

Sekoskaitos reakcijos metu kiekviena sancaupoje esanti DNR grandinė per vieną ciklą pailginama 1 baze. Fazių derinimas ir išankstinis fazių derinimas vyksta tada, kai grandinė tuo metu vykdomo integravimo ciklo metu atsiduria už fazės ribų.

- ▶ Fazių derinimas vyksta tada, kai viena iš bazių atsilieka.

- Išankstinis fazių derinimas vyksta tada, kai bazė atsiduria priekyje.

29 pav. Fazių derinimas ir išankstinis fazių derinimas



- A Nuskaitymas esant bazei, kuriai atliekamas fazių derinimas
- B Nuskaitymas esant bazei, kuriai atliekamas išankstinis fazių derinimas.

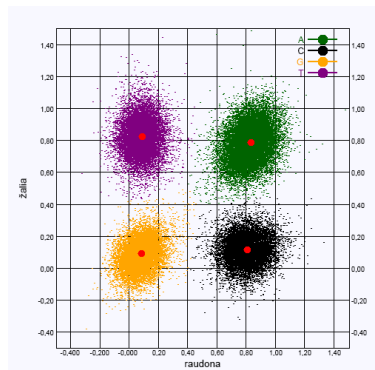
RTA2 ištaiso fazių derinimo ir išankstinio fazių derinimo poveikį maksimaliai padidindama duomenų kokybę kiekviename serijai priklausančiame cikle.

Bazių priskyrimas

Bazių priskyrimas nustato kiekvienos konkretaus ciklo duotosios išklotinės sankaupos bazę (A, C, G arba T). Prietaisas „NextSeq 550Dx“ naudoja 2 kanalų sekoskaitą, kai 4 DNR bazių duomenims užkoduoti reikia tik 2 vaizdų: 1 – iš raudono kanalo ir 1 – iš žalio kanalo.

Iš kokio nors vaizdo išgavus intensyvumą ir jį palyginus su kitu vaizdu, gaunamos 4 skirtingos populiacijos, kurių kiekviena atitinka nukleotidą. Naudojant bazių priskyrimo procesą nustatoma, kuriai populiacijai priklauso kiekviena sankaupa.

30 pav. Sankaupų intensyvumo vizualizacija



1 lent. 2 kanalų sekos nustatymo bazių priskyrimai

Bazė	Raudonas kanalas	Žalias kanalas	Rezultatas
A	1 (įjungta)	1 (įjungta)	Sankaupos, kurios rodo intensyvumą tiek raudoname, tiek žaliame kanaluose.
C	1 (įjungta)	0 (išjungta)	Sankaupos, kurios rodo intensyvumą tik raudoname kanale.
G	0 (išjungta)	0 (išjungta)	Sankaupos, kurios nerodo jokio intensyvumo žinomoje sankaupos vietoje.
T	0 (išjungta)	1 (įjungta)	Sankaupos, kurios rodo intensyvumą tik žaliame kanale.

Sankaupų praleidimas per filtrą

Serijos vykdymo metu RTA2 filtruoja neapdorotus duomenis, kad pašalintų nuskaitymus, kurie neatitinka duomenų kokybės slenkstinės vertės. Persidengiančios ir žemos kokybės sankaupos pašalinamos.

2 kanalų analizei RTA2 bazės priskyrimo tyrumo vertei nustatyti naudoja populiacija pagrįstą sistemą. Sankaupos per filtrą (PF) praleidžiamos tada, kai per pirmuosius 25 ciklus ne daugiau kaip 1 bazės priskyrimo tyrumo vertė yra mažesnė nei 0,63. Sankaupos, kurios nepraleidžiamos per filtrą, nepriskiriamos bazei.

Indeksavimo aspektai

Bazių priskyrimo indekso nuskaitymo procesas skiriasi nuo bazių priskyrimo atliekant kitus nuskaitymus.

Indekso nuskaitymas turi prasidėti per vieną iš pirmųjų 2 ciklų naudojant bent 1 ne G bazę. Jei indekso nuskaitymas prasideda 2 G bazių priskyrimais, signalo intensyvumas negeneruojamas. Siekiant užtikrinti išskirstymo efektyvumą, signalas turi būti viename iš pirmųjų 2 ciklų.

Norėdami padidinti išskirstymo patikimumą, pasirinkite indeksų sekas, kurios kiekvienam ciklui užtikrina signalą bent 1 kanale (pageidautina abiejuose kanaluose). Laikantis šios gairės, išvengiama indeksų derinių, kuriuos naudojant visuose cikluose gaunamos tik G bazės.

- ▶ Raudonas kanalas – A arba C
- ▶ Žalias kanalas – A arba T

Šis bazių priskyrimo procesas užtikrina tikslumą analizuojant žemos fragmentacijos mėginius.

Kokybės įvertinimas

Kokybės įvertis arba Q įvertis – tai netikslaus bazių priskyrimo tikimybės prognozė. Aukštesnis Q įvertis reiškia, kad bazių priskyrimas yra aukštesnės kokybės ir labiau tikėtina, kad jis bus tikslus.

Q įvertis – tai glaustas būdas pranešti apie nedidelę klaidų tikimybę. Kokybės įverčius nurodo Q(X) (X yra įvertis). Toliau pateiktoje lentelėje parodytas ryšys tarp kokybės įvertinimo ir klaidos tikimybės.

Q įvertis Q (X)	Klaidos tikimybė
Q40	0,0001 (1 iš 10 000)
Q30	0,001 (1 iš 1000)
Q20	0,01 (1 iš 100)
Q10	0,1 (1 iš 10)

PASTABA Kokybės įvertinimas grindžiamas modifikuota „Phred“ algoritmo versija.

Įvertinant kokybę, apskaičiuojami kiekvieno bazių priskyrimo prognozių rinkiniai ir tada naudojamos prognozių vertės, kad kokybės lentelėje būtų galima peržvelgti Q įvertį. Kokybės lentelės kuriamos tam, kad būtų teikiamos optimaliai tikslios prognozės dėl serijų, sugeneruotų pagal konkrečią sekos nustatymo platformos ir cheminės analizės versijos konfigūraciją.

Nustačius Q įvertį, rezultatai įrašomi į bazių priskyrimų (*.bcl.bgzf) failus.

C priedas. Išvesties failai ir aplankai

Sekos nustatymo išvesties failai	59
Išvesties aplanko struktūra	62
Išvesties failų nuskaitymas	63
Išvesties aplanko struktūros nuskaitymas	63

Sekos nustatymo išvesties failai

Failo tipas	Failo aprašymas, vieta ir pavadinimas
Bazių priskyrimo failai	Kiekviena analizuojama išsklotinė yra įtraukta į kiekvieno takelio ir kiekvieno ciklo agreguotą bazių priskyrimo failą. Agreguotame faile pateikiamas bazių priskyrimas ir užkoduotas kiekvienos to takelio sankaupos kokybės įvertis. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – failai saugomi kiekvieno takelio 1 aplanke. [Cycle].bcl.bgzf. Šiuo atveju [Cycle] (ciklas) nurodo ciklo numerį, sudarytą iš 4 skaitmenų. Bazių priskyrimo failai suglaudunami naudojant blokų „gzip“ glaudinimą.
Bazių priskyrimo indekso failas	Kiekviename takelyje dvejetainis indekso failas sudaro pirminės išsklotinės informaciją kiekvienos išsklotinės verčių poroje, kurioje rašomas tos išsklotinės numeris ir sankaupų skaičius. Bazių priskyrimo indekso failai sukuriama pirmą kartą, kai sukuriamas tam takeliui skirtas bazių priskyrimo failas. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – failai saugomi kiekvieno takelio 1 aplanke. s_[Takelis].bci
Sankaupos vietų failai	Kiekvienoje išsklotinėje kiekvienos sankaupos XY koordinatės agreguojamos 1-ame kiekvieno takelio sankaupos vietų faile. Sankaupos vietų failai yra gaunami generuojant šablonus. Data\Intensities\L00[X] – failai saugomi kiekvieno takelio 1 aplanke. s_[takelis].locs
Filtro failai	Filtro faile nurodoma, ar sankaupa buvo praleista per filtrus. Filtro informacija agreguojama kiekvieno takelio ir nuskaitymo 1-ame filtro faile. Filtro failai sugeneruojami 26-ame cikle, naudojant 25 duomenų ciklus. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – failai saugomi kiekvieno takelio 1 aplanke. s_[lane].filter
„InterOp“ failai	Dvejetainiai ataskaitų failai. „InterOp“ failai atnaujinami viso vykdymo procedūros metu. „InterOp“ aplankas
RTA konfigūracijos failas	Serijos pradžioje sukurtame RTA konfigūracijos faile pateikiamos serijos nuostatos. [Root folder] (šakninis aplankas), RTAConfiguration.xml
Serijos informacinis failas	Pateikiamas serijos pavadinimas, kiekvieno nuskaitymo ciklo skaičius, ar tai – indeksuotas nuskaitymas, ir pratekamojoje kiuvetėje esančių juostų ir išsklotinių skaičius. Vykdymo informacinis failas sukuriamas vykdymo pradžioje. [Root folder] (šakninis aplankas), RunInfo.xml

Pratekamosios kiuvetės išsklotinės

Išsklotinės – tai nedidelės vaizdavimo sritys pratekamojoje kiuvetėje, apibrėžiamos kaip kameros rodinio laukas. Bendras išsklotinių skaičius priklauso nuo takelių, juostų ir paviršių, kurie atvaizduojami pratekamojoje kiuvetėje, skaičiaus ir nuo to, kaip kameros veikia kartu rinkdamos vaizdus. Didelės išvesties pratekamosiose kiuvetėse iš viso yra 864 išsklotinės.

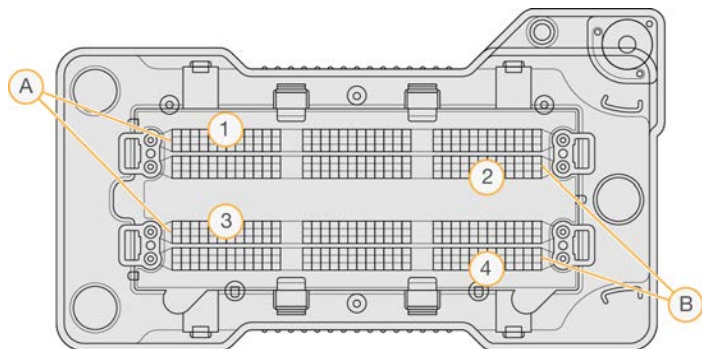
2 lent. Pratekamosios kiuvetės išklotinės

Pratekamosios kiuvetės komponentas	Didelės išvesties	Aprašas
Takeliai	4	Takelis – tai fizinis kanalas su specialiais įvesties ir išvesties prievadais.
Paviršiai	2	Pratekamoji kiuvetė atvaizduojama 2-ioose paviršiuose: viršutiniame ir apatiniame. Atvaizduojamas 1 išklotinės viršutinis paviršius, tada prieš pereinant į kitą išklotinę atvaizduojamas tos pačios išklotinės apatinis paviršius.
Juostų viename takelyje	3	Juosta – tai išklotinių stulpelis takelyje.
Kamerų segmentai	3	Prietaisas naudoja 6 kameras, kad atvaizduotų pratekamąją kiuvetę po 3 segmentus kiekviename takelyje.
Išklotinių vieni juostai viename kameros segmente	12	Išklotinė – tai sritis pratekamojoje kiuvetėje, kurią kamera mato kaip 1 vaizdą.
Iš viso atvaizduojama išklotinių	864	Bendras išklotinių skaičius = takeliai × paviršiai × juostos × kamerų segmentai × išklotinės vieni juostai viename segmente.

Takelių numeravimas

1 ir 3 takeliai, vadinami A takelių pora, atvaizduojami tuo pačiu metu. 2 ir 4 takeliai, vadinami B takelių pora, atvaizduojami užbaigus A takelių poros atvaizdavimą.

31 pav. Takelių numeravimas



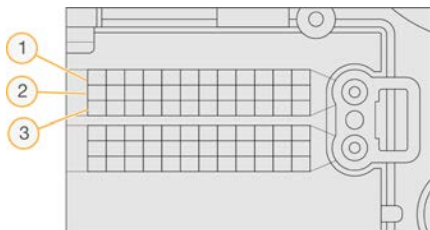
A A takelių pora – 1 ir 3 takeliai

B B takelių pora – 2 ir 4 takeliai

Juostų numeravimas

Kiekvienas takelis atvaizduojamas 3 juostomis. Didelės išvesties pratekamųjų kiuvetėčių juostos sunumeruotos nuo 1 iki 3.

32 pav. Juostų numeravimas

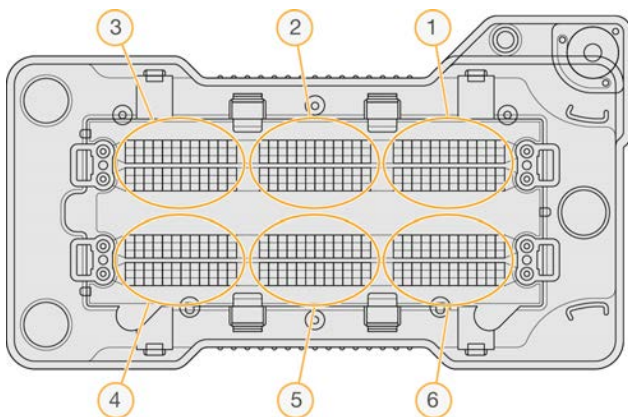


Kamerų numeravimas

Prietaisas „NextSeq 550Dx“ pratekamajai kiuvetei vaizduoti naudoja 6 kameras.

Kameros sunumeruotos nuo 1 iki 6. 1–3 kameros vaizduoja 1 takelį. 4–6 kameros vaizduoja 3 takelį. Atvaizdavęs 1 ir 3 takelius, vaizdavimo modulis X ašyje slenka link 2 ir 4 takelių.

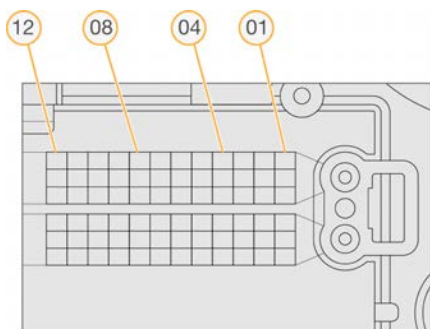
33 pav. Kamerų ir segmentų numeravimas (rodoma didelės išvesties pratekamoji kiuvetė)



Išklotinių numeravimas

Kiekvienoje visų kameros segmentų juostoje yra 12 išklotinių. Išklotinės sunumeruotos nuo 01 iki 12, neatsižvelgiant į juostos numerį ar kameros segmentą, ir paženklintos 2 skaitmenimis.

34 pav. Išklotinių numeravimas



Visas išklotinės numeris yra 5 skaitmenys, ženklinantys vietą, kaip nurodyta toliau.

- ▶ **Paviršius** – 1 ženklina viršutinį paviršių; 2 ženklina apatinį paviršių
- ▶ **Juosta** – 1, 2 arba 3

- ▶ Kamera – 1, 2, 3, 4, 5 arba 6
- ▶ Išsklotinė – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 arba 12

Pavyzdys: išsklotinės numeris 12508 nurodo viršutinį paviršių, 2-ąją juostą, 5-ąją kamerą ir 8-ąją išsklotinę.

Visas 5 skaitmenų išsklotinės numeris naudojamas miniatiūrų vaizdų ir empirinių fazių derinimo failų pavadinime. Norėdami gauti daugiau informacijos, žr. *Sekos nustatymo išvesties failai 59 psl.*

Išvesties aplanko struktūra

Operacinė programinė įranga automatiškai sugeneruoja išvesties aplanko pavadinimą.

📁 Data (duomenys)

📁 Intensities (intensyvumas)

📁 BaseCalls (bazių priskyrimai)

📁 L001 – 1 takelio bazių priskyrimai, apibendrinti 1 faile vienam ciklui.

📁 L002 – 2 takelio bazių priskyrimai, apibendrinti 1 faile vienam ciklui.

📁 L003 – 3 takelio bazių priskyrimai, apibendrinti 1 faile vienam ciklui.

📁 L004 – 4 takelio bazių priskyrimai, apibendrinti 1 faile vienam ciklui.

📁 L001 – apibendrintas *.locs failas 1 takeliui.

📁 L002 – apibendrintas *.locs failas 2 takeliui.

📁 L003 – apibendrintas *.locs failas 3 takeliui.

📁 L004 – apibendrintas *.locs failas 4 takeliui.

📁 Images (vaizdai)

📁 „Focus“ (fokusavimas)

📁 L001 – fokusavimo vaizdai 1 takeliui.

📁 L002 – fokusavimo vaizdai 2 takeliui.

📁 L003 – fokusavimo vaizdai 3 takeliui.

📁 L004 – fokusavimo vaizdai 4 takeliui.

📁 „InterOp“ – dvejetainiai failai.

📁 Logs (žurnalai) – žurnalo failai, kuriuose aprašomi operaciniai veiksmai.

📁 Recipe (receptas) – konkrečios serijos recepto failas su nurodytu reagentų kasetės ID.

📁 RTALogs – žurnalo failai, kuriais apibūdinami analizės veiksmai.

📄 RTAComplete.txt

📄 RTAConfiguration.xml

📄 RunInfo.xml

📄 RunParameters.xml

Išvesties failų nuskaitymas

Failo tipas	Failo aprašymas, vieta ir pavadinimas
GTC failai	Genotipo priskyrimo failas. Kiekvienam mėginiui, nuskaitytam „BeadChip“, sugeneruojamas GTC failas. Failo vardas apima brūkšninį kodą ir nuskaitytą mėginį. [brūkšninis kodas]_mėginys.gtc
Vaizdo failai	Vaizdo failai įvardijami pagal sritį, nuskaitytą „BeadChip“. Vardas apima brūkšninį kodą, mėginį ir sekciją, esančius „BeadChip“, juostą ir vaizdavimo kanalą (raudonos arba žalios spalvos). [brūkšninis kodas]_mėginys_sekcija_juosta_kamera_išklotinė_kanalas.jpg <ul style="list-style-type: none">• Brūkšninis kodas – failo vardas prasideda „BeadChip“ brūkšniniu kodu.• Mėginys – „BeadChip“ sritis, kuri sunumeruota kaip eilutė (ROX) nuo viršaus iki apačios ir stulpelis (COX) iš kairės į dešinę.• Sekcija – sunumeruota eilutė mėginyje.• Juosta – „BeadChip“ atvaizduojami kaip persidengiančių išklotinių rinkinys. Todėl sekcijai atvaizduoti naudojama tik 1 juosta.• Kamera – kamera naudojama vaizdui gauti.• Išklotinė – tai vaizdavimo sritis, apibrėžiama, kaip kameros rodinio laukas.• Kanalas – raudonos arba žalios spalvos kanalas.

Išvesties aplanko struktūros nuskaitymas

📁 [Data]_ [Prietaiso pavadinimas]_ [Nuskaitymo Nr.]_ [Brūkšninis kodas]

📁 [Brūkšninis kodas]

📁 Konfigūracija

📄 Effective.cfg – nuskaitymo metu naudojamos įrašų konfigūracijos nuostatos.

📁 Fokusavimas – yra vaizdo failų, naudojamų nuskaitymui fokusuoti.

📁 Žurnalai – yra žurnalo failų, kuriuose pateikiamas kiekvienas nuskaitymo metu atliktas veiksmas.

📁 PreScanDiagnosticFiles

📁 [Data_Laikas] Brūkšninio kodo nuskaitymas

📄 ProcessedBarcode.jpg – „BeadChip“ brūkšninio kodo vaizdas.

📄 Nuskaitymo diagnostika (žurnalo failai)

📄 PreScanChecks.csv – įrašomi automatinio tikrinimo rezultatai.

📄 GTC failai – genotipo priskyrimo failai (1 failas vienam mėginiui).

📄 IDAT failai – [Pasirenkama] intensyvumo duomenų failai (2 failai vienam mėginiui; po 1 kiekvienam kanalui).

📄 Vaizdo failai – nuskaitymo failai kiekvienam mėginiui, sekcijai, juostai, kamerai ir kanalui.

📄 [Brūkšninis kodas]_mėginys_metrika.csv

📄 [Brūkšninis kodas]_sekcija_metrika.csv

📄 ScanParameters.xml

Indeksas

”

- „BaseSpace“ 51
 - prisijungimas 18
- „BaseSpace“ konfigūracija 22
- „BeadChip“
 - adapteris 5, 29
 - analizė 1
 - brūkšninio kodo orientacija 29
 - brūkšninis kodas negali būti nuskaitytas 48
 - įdėjimas 31
 - registravimo triktis 48
 - tipai 1
- „BlueFuse Multi“ programinė įranga 1
- „Illumina Proactive“ stebėjimo paslauga 51
- „InterOp“ failai 43, 59
- „locs“ failai 59
- „Phred“ algoritmas 58
- „Windows“
 - išėjimas 41

A

- adapteris
 - „BeadChip“ įdėjimas 31
 - „BeadChip“ orientacija 29
 - apžvalga 5
- analizė
 - išvesties failai 59
- analizė, pradinis
 - signalų grynumas 58
- analizės realiuoju laiku programinė įranga
 - darbo eiga 56
 - fazių derinimas 56
 - rezultatai 59
- aplanko vieta 23
- atnaujinama programinė įranga 39
- atvaizdavimo skyrius 3
- autonominė konfigūracija 23

B

- bazių priskyrimas 57
 - indeksavimo aspektai 58
- bazių priskyrimo failai 59
- buferinio tirpalo kasetė 9, 21
- buferinio tirpalo skyrius
 - komponentai
 - buferinio tirpalo skyrius 3

- būsenos įspėjimai 4
- būsenos juosta
 - komponentai
 - būsenos juosta 3

C

- ciklai vieno nuskaitymo metu 15

D

- darbo eiga
 - „BaseSpace“ prisijungimas 18
 - „BaseSpace“ režimas 22
 - „BeadChip“ 31
 - apžvalga 16, 28
 - autonominis režimas 23
 - buferinio tirpalo kasetė 21
 - indeksavimo aspektai 58
 - natrio hipochloritas 36
 - panaudoti reagentai 19
 - papildoma įdėjimo parinktis 13
 - patikra prieš seriją 24, 31
 - pratekamoji kiuvetė 18
 - pratekamosios kiuvetės paruošimas 17
 - reagentų kasetė 21
 - sekoskaita 56
 - serijos metrika 24
 - serijos trukmė 15-16
- DMPAP aplankas
 - atsisiunčiama 28
 - iškodavimo failų kliento programa 27
- dokumentacija 2
- dokumentai 69
- duomenų perdavimas
 - nuskaitymo duomenys 33
- duomenų perkėlimas
 - universalioji kopijavimo paslauga 25

E

- eksploatacinės medžiagos 6
 - buferinio tirpalo kasetė 9
 - laboratorinis vanduo 14
 - plovimo eksploatacinės medžiagos 35-36
 - pratekamoji kiuvetė 7
 - prietaiso priežiūra 14
 - reagentų kasetė 8
 - sekoskaitos serijos 13

eksploatacinių medžiagų valymas 13
empirinių fazių derinimas 56

F

fazių derinimas, išankstinis fazių derinimas 56
filtro failai 59
formamidas, 6 padėtis 22

G

GTC failai 63

I

indeksavimo aspektai 58
intensyvumas 57
išankstinė serijos patikra 44
išankstinės serijos patikros klaidos 44
išklotinių numeravimas 61
iškodavimo failų kliento programa 27
 prieiga pagal paskyrą 28
iškodavimo failų kliento programa
 prieiga pagal „BeadChip“ 29
išvesties failai 59
išvesties failai, nuskaitymas
 GTC, IDAT 63
išvesties failai, sekoskaita 59
įvesties failai, nuskaitymas
 deklaracijos failai 27, 49
 DMAP aplankas 27
 DMAP aplankas, atsiuntimas 28
 sankaupos failai 27, 49

J

juostų numeravimas 60

K

kamerų numeravimas 61
klaidos ir įspėjimai 4, 55
klaidos tikimybė 58
klaviatūra
 garsas 12
klientų aptarnavimas 69
komponentai
 atvaizdavimo skyrius 3
 reagentų skyrius 3
konfigūracija 51

konfigūracijos nuostatos 50

L

laboratorinio vandens gairės 14

M

maitinimo jungiklis 11
maitinimo mygtukas 5, 11
metrika
 bazių priskyrimas 57
 intensyvumo ciklai 25
 sankaupų tankio ciklai 25

N

natrio hipochloritas, plovimas 36
naudotojo pateikiamos eksploatacinės
 medžiagos 13-14
naudotojo vardas ir slaptažodis 11
nuotolinis mokymas 2
nuskaitymo ciklai 15
nuskaitymo ilgis 15
nuskaitymo išvesties failai
 GTC, IDAT 63
nuskaitymo trukmė 15-16

O

oro filtras 4, 38

P

pagalba
 dokumentacija 2
pagalba, techninė 69
pakartotinė hibridizacija, 1 nuskaitymas 46
paleidimas iš naujo į mokslinių tyrimų režimą 12
paleisti iš naujo 41
 prietaisas 41
panaudoti reagentai
 pilna talpykla 46
 šalinimas 19, 37
papildoma įdėjimo parinktis 13
patikra prieš seriją 24, 31
piktogramos
 būsena 4
 klaidos ir įspėjimai 4

- plovimas
 - automatinis 26
 - naudotojo pateikiamos eksploatacinės medžiagos 35
 - plovimo komponentai 35
 - rankinis plovimas 35
- plovimas atlikus seriją 26
- pradmenų pakartotinė hibridizacija 46
- praleidimas per filtrą (PF) 58
- pratekamoji kiuvetė
 - apžvalga 7
 - išklotinės 59
 - išklotinių numeravimas 61
 - juostos numeris 60
 - pakartotinė hibridizacija 46
 - pakuotė 17
 - sulygiavimo kaiščiai 18
 - takelių numeravimas 60
 - takelių poros 7
 - vaizdavimas 61
 - valymas 17
- prietaisas
 - išjungti 41
 - konfigūracijos nuostatos 50
 - maitinimo mygtukas 5
 - paleidimas 11
 - paleisti iš naujo 41
 - pseudoportretas 12
 - režimų indikatoriai 12
 - slapyvardis 12
- prietaiso išjungimas 41
- prietaiso plovimas 35
- prietaiso priežiūra
 - eksploatacinės medžiagos 14
- prietaiso valdymas
 - išjungimas 41
- priežiūra, profilaktinė 35
- profilaktinė priežiūra 35
- programinė įranga
 - analizės realiuoju laiku programinė įranga 4
 - automatinis naujinimas 40
 - inicijavimas 11
 - konfigūracijos nuostatos 50
 - rankinis naujinimas 40
 - serijos trukmė 15-16
 - vaizdo analizė, bazių priskyrimas 4

Q

Q įverčiai 58

R

- RAID klaidos pranešimas 50
- reagentai
 - rinkinyje 6
 - tinkamas šalinimas 21
- reagentų kasetė
 - apžvalga 8
 - rezervuaras Nr. 28 36
 - rezervuaras Nr. 6 22
- reagentų skyrius 3
- RFID sekimas 6
- RunInfo.xml 43, 59
- RUO režimas 12

S

- sankaupos vieta
 - failai 59
- sankaupų generavimas 15, 25
- sankaupų praleidimas per filtrą 58
- sankaupų vieta
 - šablonų generavimas 56
- sekos nustatymas
 - įvadas 15
- sekos nustatymo darbo eiga 16
- sekos parametrai
 - autonominis režimas 23
- sekoskaita
 - įvadas 15
 - naudotojo pateikiamos eksploatacinės medžiagos 13
- sekoskaitos darbo eiga 56
- serijos metrika 24
- serijos parametrai
 - „BaseSpace“ režimas 22
 - redagavimo parametrai 22
- serijos sąranka, papildoma parinktis 13
- serijos trukmė 15-16
- sistemos naudotojo vardas ir slaptažodis 11
- sistemos nuostatos 12
- suderinamumas
 - pratekamoji kiuvetė, reagentų kasetė 6
 - RFID sekimas 6, 8

Š

- šablono generavimas 56
- šablonų generavimas 56

T

- takelių numeravimas 60
- takelių poros 60
- techninė pagalba 69
- tyrumo filtras 58
- trikčių šalinimas 44
 - deklaracijos ir sanaupos failų pakeitimas 49
 - konkrečių serijų failai 43
 - negalima nuskaityti „BeadChip“ brūkšninio kodo 48
 - nuskaitymo registravimo triktis 48
 - nuskaitymui būdingi failai 44
 - panaudotų reagentų talpykla 46
 - žemos kokybės metrika 46

U

- universalioji kopijavimo paslauga 25

V

- vaizdavimas, 2 kanalų sekoskaita 57
- valdymo programinė įranga 4
- valdyti prietaisą
 - išjungti 41

Techninė pagalba

Dėl techninės pagalbos kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos tarnybą.

Interneto svetainė www.illumina.com
El. paštas: techsupport@illumina.com

„Illumina“ klientų aptarnavimo telefono numeriai

Regionas	Nemokamas telefono numeris	Regioninis
Šiaurės Amerika	+1.800.809.4566	
Airija	+353 1800936608	+353 016950506
Australija	+1.800.775.688	
Austrija	+43 800006249	+43 19286540
Belgija	+32 80077160	+32 34002973
Danija	+45 80820183	+45 89871156
Hongkongas, Kinija	800960230	
Ispanija	+34 911899417	+34 800300143
Italija	+39 800985513	+39 236003759
Japonija	0800.111.5011	
Jungtinė Karalystė	+44 8000126019	+44 2073057197
Kinija	400.066.5835	
Naujoji Zelandija	0800.451.650	
Nyderlandai	+31 8000222493	+31 207132960
Norvegija	+47 800 16836	+47 21939693
Pietų Korėja	+82 80 234 5300	
Prancūzija	+33 805102193	+33 170770446
Singapūras	+1.800.579.2745	
Suomija	+358 800918363	+358 974790110
Švedija	+46 850619671	+46 200883979
Šveicarija	+41 565800000	+41 800200442
Taivanas, Kinija	00806651752	
Vokietija	+49 8001014940	+49 8938035677
Kitos šalys	+44 1799 534000	

Saugos duomenų lapai (SDL) prieinami „Illumina“ interneto svetainėje support.illumina.com/sds.html.

Produkto dokumentaciją galima atsisiųsti iš interneto svetainės support.illumina.com.



„Illumina“

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 JAV

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ne Šiaurės Amerikoje)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Naudoti tik moksliniams tyrimams.

Negalima naudoti atliekant diagnostikos procedūras.

© 2021 m. „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

illumina®