

# NextSeq 550Dx Research Mode (Mod de cercetare)

Ghid de referință pentru instrument



Prezentul document și conținutul său constituie proprietatea Illumina, Inc. și a afiliaților săi („Illumina”) și sunt destinate exclusiv pentru utilizarea contractuală de către client în legătură cu folosirea produsului sau produselor descrise în prezentul document și în niciun alt scop. Acest document și conținutul său nu trebuie utilizate sau distribuite pentru niciun alt scop și/sau nici comunicate, divulgate sau reproduse în orice alt mod și în orice formă fără consimțământul prealabil acordat în scris de Illumina. Illumina nu transmite, în temeiul brevetelor sale, mărcilor sale comerciale, drepturilor sale de autor sau în temeiul dreptului comun, nicio licență și nici drepturi similare ale oricărui terți prin acest document.

Instrucțiunile din acest document trebuie respectate în mod strict și explicit de către personalul calificat și corespunzător instruit pentru a asigura utilizarea corespunzătoare și în siguranță a produsului descris/produselor descrise în acest document. Înainte de utilizarea acestui produs/acestor produse, întreg conținutul acestui document trebuie citit și înțeles în întregime.

FAPTUL DE A NU CITI COMPLET ȘI DE A NU RESPECTA ÎN MOD EXPLICIT TOATE INSTRUCȚIUNILE CUPRINSE ÎN PREZENTUL DOCUMENT POATE DUCE LA DETERIORAREA PRODUSULUI SAU PRODUSELOR, LA VĂTĂMAREA PERSOANELOR, INCLUSIV A UTILIZATORILOR SAU ALTOR PERSOANE ȘI LA DAUNE ALE ALTOR PROPRIETĂȚI ȘI VA ANULA ORICE GARANȚIE APLICABILĂ PRODUSULUI SAU PRODUSELOR.

ILLUMINA NU ÎȘI ASUMĂ NICIO RĂSPUNDERE CARE DECURGE DIN UTILIZAREA INADECVATĂ A PRODUSULUI SAU PRODUSELOR DESCRISE ÎN PREZENTUL DOCUMENT (INCLUSIV A COMPONENTELOR SAU SOFTWARE-ULUI ACESTORA).

© 2021 Illumina, Inc. Toate drepturile rezervate.

Toate mărcile comerciale sunt proprietatea Illumina, Inc. sau a proprietarilor lor respectivi. Pentru informații specifice privind mărcile comerciale, consultați [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Istoricul reviziilor

Document	Data	Descrierea modificării
Nr. document 1000000041922 v03	Octombrie 2021	A fost adăugat un anunț despre cronometrul de 7 zile în Verificările pentru rulările de secvențiere A fost actualizat fluxul de lucru Secvențiere prin adăugarea unei secțiuni despre crearea unei rulări cu ajutorul programului Local Run Manager. S-a modificat limita de stabilitate S-a adăugat Infinium Methylation EPIC la tipurile BeachChip S-au actualizat imaginile pictogramelor pentru a reflecta modificările aduse interfeței.
Nr. document 1000000041922 v02	Noiembrie 2020	S-a actualizat figura din Efectuarea unei spălări manuale pentru a reflecta noile cartușe de spălare pentru reactivi și de spălare pentru soluția-tampon. S-au actualizat informațiile despre bara de stare cu culori suplimentare.
Nr. document 1000000041922 v01	Martie 2018	S-au adăugat informații despre serviciul de monitorizare Illumina Proactive în secțiunea Configurarea setărilor de sistem.
Nr. document 1000000041922 v00	Noiembrie 2017	Versiunea inițială.

# Cuprins

Capitolul 1 Prezentare generală .....	1
Despre acest Ghid .....	1
Introducere .....	1
Resurse suplimentare .....	2
Componentele instrumentului .....	3
Prezentare generală a setului de reactivi .....	6
Prezentare generală a consumabilelor de secvențiere .....	6
Capitolul 2 Noțiuni de bază .....	11
Pornirea instrumentului .....	11
Particularizarea setărilor de sistem .....	12
Consumabile și echipamente furnizate de utilizator .....	13
Capitolul 3 Secvențiere .....	15
Introducere .....	15
Fluxul de lucru de secvențiere .....	16
Pregătirea cartușului cu reactivi .....	16
Pregătirea Flow Cell .....	17
Pregătirea bibliotecilor pentru secvențiere .....	17
Configurarea unei rulări de secvențiere .....	18
Monitorizarea progresului rulării .....	25
Spălarea automată după efectuarea rulării .....	26
Capitolul 4 Scanare .....	27
Introducere .....	27
Fluxul de lucru al scanării .....	28
Descărcarea folderului DMAP .....	28
Încărcarea BeadChip pe adaptor .....	29
Configurarea unei scanări .....	30
Monitorizarea progresului scanării .....	32
Capitolul 5 Întreținere .....	35
Introducere .....	35
Efectuarea unei spălări manuale .....	35
Înlocuirea filtrului de aer .....	38
Actualizări de software .....	39
Opțiuni privind repornirea și închiderea .....	41
Anexa A Depanare .....	43
Introducere .....	43
Fișierele de depanare .....	43
Soluționarea erorilor de verificare automată .....	44
Containerul pentru reactivi utilizați este plin .....	46

Fluxul de lucru al rehibridizării .....	47
BeadChip și erorile de scanare .....	48
Rețete particularizate și foldere pentru rețete .....	50
Mesaj de eroare RAID .....	50
Configurarea setărilor de sistem .....	51
Anexa B Analiză în timp real .....	55
Prezentare generală a analizei în timp real .....	55
Fluxul de lucru de analiză în timp real .....	56
Anexa C Fișierele și folderurile de ieșire .....	59
Fișierele de ieșire pentru secvențiere .....	59
Structura folderului de ieșire .....	62
Scanarea fișierelor de ieșire .....	63
Structura folderului de ieșire pentru scanare .....	63
Index .....	65
Asistență tehnică .....	69

# Capitolul 1 Prezentare generală

Despre acest Ghid .....	1
Introducere .....	1
Resurse suplimentare .....	2
Componentele instrumentului .....	3
Prezentare generală a setului de reactivi .....	6
Prezentare generală a consumabilelor de secvențiere .....	6

## Despre acest Ghid

Acest ghid de referință al instrumentului oferă instrucțiuni privind utilizarea instrumentului NextSeq 550Dx în modul de cercetare (RUO).

## Introducere

### Caracteristici de secvențiere

- ▶ **Secvențiere cu rată de transfer mare** – instrumentul NextSeq™ 550Dx permite secvențierea bibliotecilor de ADN.
- ▶ **Analiză în timp real (RTA)** – efectuează procesarea imaginilor și definirea bazelor. Pentru mai multe informații, consultați *Analiză în timp real* la pagina 55.
- ▶ **Capacitatea de analizare a datelor pe instrument** – modulele software-ului de analiză AS specificate pentru rulare pot analiza datele de rulare.
- ▶ **Lansare dublă** – instrumentul NextSeq 550Dx conține unități de disc separate care acceptă modulele Diagnosticare (Dx) și Cercetare (RUO).

### Caracteristici de scanare a matricelor

- ▶ **Scanarea matricelor integrată în software-ul de control** – instrumentul NextSeq 550Dx vă permite să treceți de la scanarea matricelor la secvențiere cu debit mare pe același instrument, folosind același software de control.
- ▶ **Capacitate imagistică extinsă** – sistemul de imagistică din instrumentul NextSeq 550Dx include software și modificări de etapă care permit imagistica unei suprafețe mai mari pentru a se optimiza scanarea BeadChip.
- ▶ **Tipuri BeadChip** – tipurile compatibile BeadChip includ CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC și Karyomap-12.
- ▶ **Adaptor BeadChip** – un adaptor BeadChip reutilizabil permite încărcarea ușoară a unui BeadChip pe instrument.
- ▶ **Analiza datelor** – utilizați software-ul BlueFuse® Multi pentru a analiza datele matricelor.

## Resurse suplimentare

Documentația de mai jos poate fi descărcată de pe site-ul web Illumina.

Resursă	Descriere
<i>Ghidul de pregătire a locului destinat instrumentului NextSeq 550Dx (nr. document 100000009869)</i>	Furnizează specificații pentru spațiul din laborator, cerințe electrice și considerații cu privire la mediu.
<i>Ghid de conformitate și siguranță a instrumentului NextSeq 550Dx (nr. document 100000009868)</i>	Furnizează informații cu privire la considerații legate de siguranța funcționării, declarații de conformitate și etichetarea instrumentelor.
<i>Ghid de conformitate pentru cititorul RFID (nr. document 1000000030332)</i>	Furnizează informații cu privire la cititorul RFID cu care este prevăzut instrumentul, certificările conformității și considerațiile legate de siguranță.
<i>Ghidul de referință pentru instrumentul NextSeq 550Dx - Modul Cercetare (nr. document 1000000041922)</i>	Furnizează instrucțiuni pentru operarea instrumentului și cu privire la procedurile de depanare. Se va utiliza atunci când operați instrumentul NextSeq 550Dx în modul Cercetare împreună cu software-ul de control NextSeq (NCS) v3.0.
<i>Ghidul sistemului NextSeq 550 (nr. document 15069765)</i>	Furnizează instrucțiuni pentru operarea instrumentului și cu privire la procedurile de depanare. Se va utiliza atunci când instrumentul NextSeq 550Dx funcționează în modul Cercetare împreună cu software-ul de control NextSeq (NCS) v4.0 sau o versiune ulterioară.
<i>Ghidul sistemului NextSeq 550</i>	Furnizează o imagine de ansamblu a componentelor instrumentului, instrucțiuni de operare a instrumentului și proceduri de întreținere și depanare.
<i>Ajutor BaseSpace</i>	Furnizează informații cu privire la utilizarea BaseSpace™ Sequence Hub și la opțiunile de analiză disponibile.

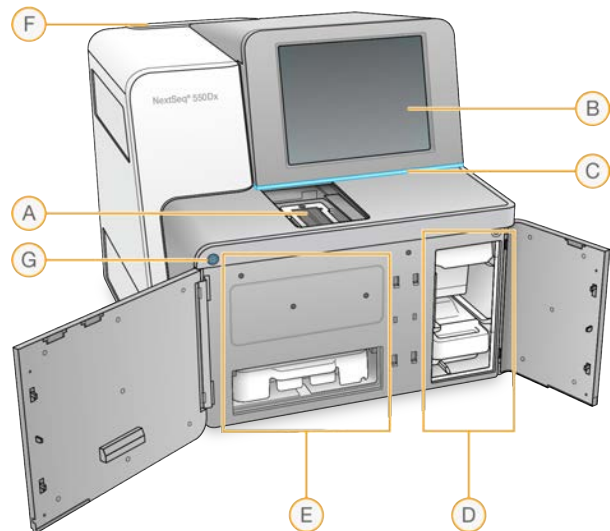
Vizitați [pagina de asistență NextSeq 550Dx](#) de pe site-ul web Illumina pentru a consulta documentația, pentru a descărca software, pentru instruire online și pentru întrebări frecvente.

Vizitați [paginile de asistență NextSeq 550Dx](#) de pe site-ul web Illumina pentru a consulta documentația, pentru a descărca software, pentru instruire online și pentru întrebări frecvente.

## Componentele instrumentului

Instrumentul NextSeq 550Dx include un monitor cu ecran tactil, o bară de stare și 4 compartimente.

**Figura 1** Componentele instrumentului



- A **Compartimentul imaginistic** – găzduiește Flow Cell în timpul unei rulări de secvențiere.
- B **Monitorul cu ecran tactil** – permite configurarea pe instrument cu ajutorul interfeței software-ului de operare.
- C **Bara de stare** – indică starea instrumentului ca în curs de procesare (albastru), necesitând atenție (portocaliu), gata de secvențiere (verde), în curs de inițializare (alternând între albastru și alb), încă neinițializată (alb) sau necesitând o spălare în următoarele 24 de ore (galben).
- D **Compartimentul pentru soluție-tampon** – conține cartușul cu soluție-tampon și containerul pentru reactivi utilizați.
- E **Compartimentul pentru reactivi** – conține cartușul cu reactivi.
- F **Compartimentul filtrului de aer** – găzduiește filtrul de aer. Accesați filtrul prin partea din spate a instrumentului.
- G **Butonul de pornire** – pornește sau oprește alimentarea electrică a instrumentului și computerul instrumentului.

## Compartimentul imaginistic

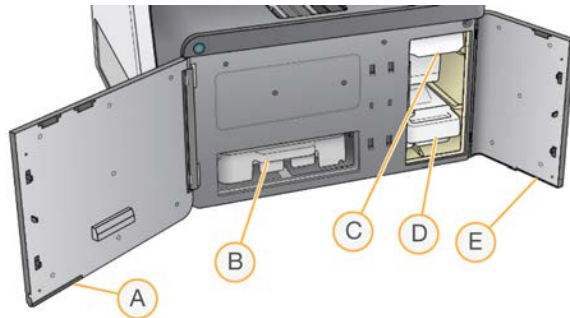
Compartimentul imaginistic adăpostește platforma, care include trei piciorușe de aliniere pentru poziționarea Flow Cell. După încărcarea Flow Cell, ușa compartimentului imaginistic se închide automat și deplasează componentele în poziție.

## Compartimentele pentru reactivi și pentru soluție-tampon

Configurarea unei rulări de secvențiere pe instrumentul NextSeq 550Dx necesită acces la compartimentul pentru reactivi și la compartimentul pentru soluție-tampon pentru a încărca consumabilele pentru rulare și pentru a goli containerul de reactivi utilizați.



**Figura 2** Compartimentele pentru reactivi și pentru soluție-tampon



- A **Ușa compartimentului pentru reactivi** – închide compartimentul pentru reactivi cu un zăvor de sub zona din dreapta jos a ușii. Compartimentul pentru reactivi conține cartușul cu reactivi.
- B **Cartușul cu reactivi** – cartușul cu reactivi este o consumabilă de unică folosință preumplută.
- C **Cartușul cu soluție-tampon** – cartușul cu soluție-tampon este o consumabilă de unică folosință preumplută.
- D **Containerul pentru reactivi utilizați** – reactivii utilizați sunt colectați în vederea eliminării după fiecare rulare.
- E **Ușa compartimentului pentru soluție-tampon** – închide compartimentul pentru soluție-tampon cu un zăvor de sub colțul din stânga jos al ușii.

## Compartimentul filtrului de aer

Compartimentul filtrului de aer găzduiește filtrul de aer și este amplasat în partea din spate a instrumentului. Înlocuiți filtrul de aer la fiecare 90 de zile. Pentru informații privind înlocuirea filtrului, consultați [Înlocuirea filtrului de aer la pagina 38](#).



## Software-ul NextSeq 550Dx




Software-ul instrumentului include aplicații integrate care efectuează rulări de secvențiere.

- ▶ **Software de control NextSeq (NCS)** – software-ul de control vă ghidează prin etapele de configurare a unei rulări de secvențiere.
- ▶ **Software de analiză în timp real (RTA)** – pentru secvențierea rulărilor, RTA efectuează analize de imagine și definirea bazelor în timpul rulării. Instrumentul NextSeq 550Dx folosește RTA v2, care include diferențe importante de arhitectură și de caracteristici față de versiunile anterioare. Pentru mai multe informații, consultați [Analiză în timp real la pagina 55](#).

## Pictogramele de stare

O pictogramă de stare din colțul din dreapta sus al NCS semnalează orice schimbare a condițiilor în timpul configurării rulării sau în timpul rulării.

Pictogramă de stare	Denumire stare	Descriere
	Status OK (Stare OK)	Sistemul este normal.
	Processing (În procesare)	Sistemul procesează.

Pictogramă de stare	Denumire stare	Descriere
	Warning (Avertizare)	A survenit o avertizare. Avertizările nu opresc o rulare și nu necesită acțiune înainte de a continua.
	Error (Eroare)	S-a produs o eroare. Erorile necesită acțiune înainte de a continua cu rularea.
	Service Needed (Este nevoie de service)	A survenit o notificare ce necesită atenție. Consultați mesajul pentru informații suplimentare.

Când are loc o schimbare a condiției, pictograma luminează intermitent pentru a vă alerta. Selectați pictograma pentru a vedea o descriere a condiției. Selectați **Acknowledge** (Constatare) pentru a accepta mesajul și **Close** (Închidere) pentru a închide caseta de dialog.

## NOTĂ

Constatarea unui mesaj resetează pictograma, iar mesajul devine estompat. Mesajul este în continuare vizibil utilizatorului dacă acesta selectează pictograma, dar dispare după ce NCS este restartat.

## Butonul de pornire

Butonul de pornire de pe partea din față a NextSeq 550Dx pornește alimentarea electrică a instrumentului și a computerului instrumentului. Butonul de pornire efectuează următoarele acțiuni, în funcție de starea de alimentare electrică a instrumentului. În mod implicit, NextSeq 550Dx pornește în modul de diagnosticare.

Pentru informații privind pornirea inițială a instrumentului, consultați [Pornirea instrumentului la pagina 11](#).

Pentru informații privind închiderea instrumentului, consultați [Închiderea instrumentului la pagina 41](#).

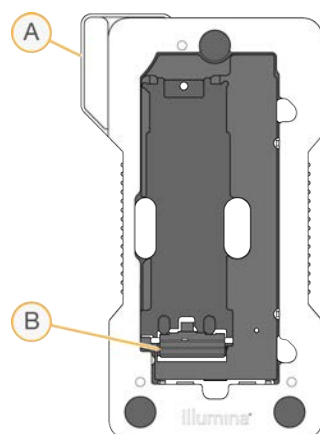
Stare de alimentare	Acțiune
Alimentarea electrică a instrumentului este oprită	Apăsați butonul pentru a porni alimentarea electrică.
Alimentarea electrică a instrumentului este pornită	Apăsați butonul pentru a opri alimentarea electrică. Pe ecran apare o casetă de dialog pentru a confirma închiderea instrumentului.
Alimentarea electrică a instrumentului este pornită	Țineți apăsat butonul de pornire timp de 10 secunde pentru o închidere hard a instrumentului și a computerului instrumentului. Folosiți această metodă pentru a opri instrumentul doar dacă instrumentul nu reacționează.

**NOTĂ** Oprirea instrumentului în timpul unei rulări de secvențiere încheie rularea imediat. Încheierea unei rulări este definitivă. Consumabilele pentru rulare nu pot fi refolosite și datele de secvențiere din cadrul rulării nu sunt salvate.

## Prezentare generală a adaptorului BeadChip reutilizabil

Adaptorul BeadChip reutilizabil stabilizează BeadChip în timpul scanării. BeadChip este fixat în raftul încadrat al adaptorului cu clema de retenție. Apoi, adaptorul BeadChip este încărcat pe platformă în compartimentul imagistic.

Figura 3 Adaptorul BeadChip reutilizabil



- A Adaptorul BeadChip
- B Clema de retenție

## Prezentare generală a setului de reactivi

### Prezentare generală a consumabilelor de secvențiere

Consumabilele de secvențiere necesare pentru funcționarea NextSeq 550Dx sunt furnizate separat într-un set de unică folosință. Fiecare set include un Flow Cell, un cartuș cu reactivi, un cartuș cu soluție tampon și un tampon de diluare bibliotecii. Pentru mai multe informații, consultați prospectul pentru *setul de reactivi cu debit mare NextSeq 550Dx v2 (300 de cicluri)*, *setul de reactivi cu debit mare NextSeq 550Dx v2.5 (300 de cicluri)* sau *setul de reactivi cu debit mare NextSeq 550Dx v2.5 (75 de cicluri)*.

Flow Cell, cartușul cu reactivi și cartușul cu soluție tampon utilizează identificarea prin radiofrecvență (RFID) pentru a asigura cu precizie urmărirea și compatibilitatea consumabilelor.

#### ATENȚIE

Seturile de reactivi cu debit mare NextSeq 550Dx v2.5 necesită NOS 1.3 sau o versiune ulterioară pentru ca instrumentul să accepte cartușul Flow Cell v2.5. Finalizați actualizările software înainte de pregătirea probelor și a consumabilelor, pentru a evita irosirea de reactivi și/sau probe.

#### NOTĂ

Păstrați consumabilele de secvențiere depozitate în cutiile lor până când sunteți pregătiți să le folosiți.

### Etichetarea compatibilității kiturilor

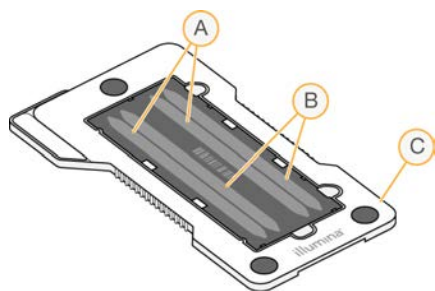
Componentele kitului sunt etichetate cu indicatori codificați cromatic pentru a afișa compatibilitatea între Flow Cells și cartușele cu reactivi. Utilizați întotdeauna un cartuș cu reactivi compatibil și o Flow Cell. Cartușul cu soluție-tampon este universal.

Fiecare Flow Cell și cartuș cu reactivi este etichetat **High** (Mare) sau **Mid** (Mediu). Verificați întotdeauna eticheta când pregătiți consumabilele pentru o rulare.

Tipul de kit	Marcarea pe etichetă
Componentele kitului cu debit mare	
Componentele kitului cu debit mediu	

## Prezentare generală Flow Cell

Figura 4 Cartuș Flow Cell



- A Perechea de culoare A – Culoarele 1 și 3
- B Perechea de culoare B – Culoarele 2 și 4
- C Cadrul cartușului Flow Cell

Flow Cell este un substrat pe bază de sticlă pe care sunt generate grupurile de celule și pe care se efectuează reacția de secvențiere. Flow Cell este încorporat într-un cartuș Flow Cell.

Flow Cell conține 4 culoare care sunt reprezentate imagistic în perechi.

- ▶ Culoarele 1 și 3 (perechea de culoare A) sunt reprezentate imagistic în același timp.
- ▶ Culoarele 2 și 4 (perechea de culoare B) sunt reprezentate imagistic atunci când reprezentarea imagistică a perechii de culoare A este finalizată.

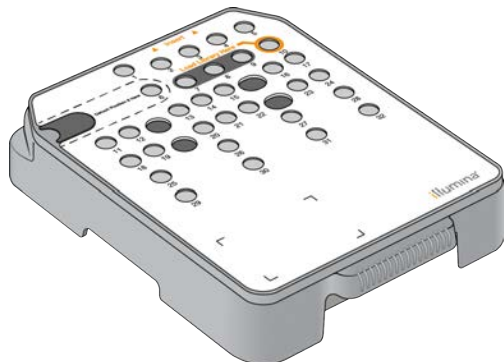
Deși Flow Cell are 4 culoare, o singură bibliotecă sau un singur set de biblioteci cumulate este secvențiat (ă) pe Flow Cell. Bibliotecile sunt încărcate în cartușul cu reactivi dintr-un singur rezervor și sunt transferate automat către Flow Cell pe toate cele 4 culoare.

Fiecare culoar este reprezentat imagistic în mici zone imagistice, denumite dale. Pentru mai multe informații, consultați [Dalele Flow Cell la pagina 59](#).

## Prezentare generală a cartușului cu reactivi

Cartușul cu reactivi este un consumabil de unică folosință cu urmărire RFID și rezervoare cu folii de sigilare care sunt preumplute cu reactivi pentru clustering (grupare) și secvențiere.

Figura 5 Cartuș cu reactivi



Cartușul cu reactivi include un rezervor desemnat pentru încărcarea bibliotecilor pregătite. După ce începe rularea, bibliotecile sunt transferate automat din rezervor în Flow Cell.

Câteva rezervoare sunt rezervate pentru spălarea automată după efectuarea rulării. Soluția de spălare este pompată din cartușul cu soluție-tampon în rezervoarele rezervate, prin sistem și apoi în containerul cu reactivi utilizați.

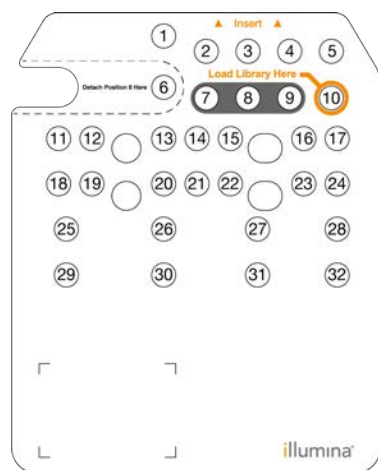


### AVERTIZARE

Acest set de reactivi conține substanțe chimice potențial periculoase. Se pot produce vătămări corporale prin inhalare, ingerare, contact cu pielea și contact cu ochii. Purtați echipament de protecție, inclusiv protecție pentru ochi, mănuși și halat de laborator corespunzătoare riscului de expunere. Manipulați reactivii folosiți ca deșeuri chimice și eliminați-i în conformitate cu legile și reglementările regionale, naționale și locale aplicabile. Pentru informații suplimentare privind mediul, sănătatea și siguranța, consultați Fișele cu date de securitate la adresa [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

## Rezervoarele rezervate

Figura 6 Rezervoare numerotate



Poziție	Descriere
7, 8 și 9	Rezervate pentru amorsele personalizate opționale
10	Încărcarea bibliotecilor

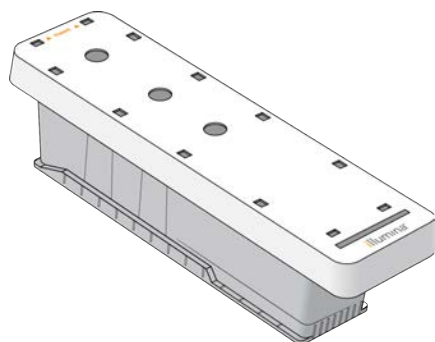
## Rezervorul amovibil din poziția nr. 6

Cartușul cu reactivi preumplut include un reactiv de denaturare în poziția 6 care conține formamidă. Pentru a facilita eliminarea în siguranță a oricărui reactiv neutilizat după rularea de secvențiere, rezervorul din poziția 6 poate fi scos. Pentru mai multe informații, consultați [Scoaterea rezervorului utilizat din poziția nr. 6 la pagina 22](#).

## Prezentare generală a cartușului cu soluție-tampon

Cartușul cu soluție-tampon este o consumabilă de unică folosință care conține trei rezervoare preumplute cu soluții-tampon și cu soluție de spălare. Conținutul cartușului cu soluție-tampon este suficient pentru secvențierea unei Flow Cell.

Figura 7 Cartuș cu soluție-tampon





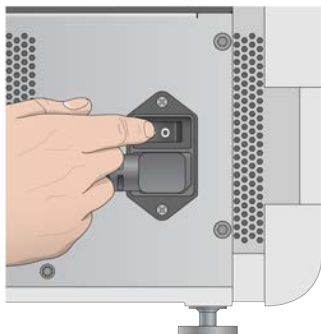
# Capitolul 2 Noțiuni de bază

Pornirea instrumentului .....	11
Particularizarea setărilor de sistem .....	12
Consumabile și echipamente furnizate de utilizator .....	13

## Pornirea instrumentului

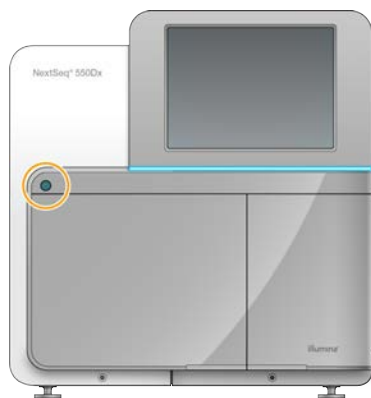
Aționați întrerupătorul de alimentare electrică în poziția I (pornit).

**Figura 8** Întrerupătorul de alimentare amplasat pe partea din spate a instrumentului



- 1 Apăsați pe butonul de pornire de deasupra compartimentului pentru reactivi. Butonul de pornire pornește alimentarea electrică a instrumentului și computerul și software-ul integrat al instrumentului.

**Figura 9** Întrerupătorul de alimentare amplasat pe partea din față a instrumentului



- 2 Așteptați până când sistemul de operare a finalizat încărcarea. Software-ul de control NextSeq (NCS) lansează și inițializează automat sistemul. După finalizarea etapei de inițializare, se deschide Ecranul de pornire.
- 3 Introduceți numele și parola de utilizator pentru Local Run Manager. Pentru informații privind parolele, consultați *Parolele de utilizator de la pagina 1*. Pentru informații privind configurarea unui cont în Local Run Manager, consultați *Setări și sarcini administrative de la pagina 1*.
- 4 Selectați **Login** (Autentificare). Se deschide Ecranul de pornire cu pictogramele Sequence (Secvențiere), Local Run Manager, Manage Instrument (Gestionare instrument) și Perform Wash (Efectuare spălare).



## Indicatorii de mod al instrumentului

Modul implicit al NextSeq 550Dx este modul de diagnosticare. Următoarele de pe ecranul NCS indică modul instrumentului.

Mod	Ecran de pornire	Bară color	Orientare pictograme de stare
Diagnostic Mode (Mod de diagnosticare)	Welcome to NextSeqDx (Bun venit la NextSeqDx)	Albastră	Horizontală
Research Mode (Mod de cercetare)	Welcome to NextSeq (Bun venit la NextSeq)	Portocalie	Verticală

## Particularizarea setărilor de sistem

Software-ul de operare include setări de sistem care pot fi particularizate pentru identificarea instrumentului, preferințele privind introducerea de date, setările audio și locația folderului de ieșire. Pentru a modifica setările de configurare a rețelei, consultați [Configurarea setărilor de sistem la pagina 51](#).

Opțiuni de particularizare:

- ▶ Particularizarea identificării instrumentului (avatar și pseudonim)
- ▶ Setarea opțiunii de introducere date și a indicatorului audio
- ▶ Setarea opțiunilor de configurare a rulării
- ▶ Opțiuni privind închiderea
- ▶ Configurarea pornirii instrumentului după verificarea anterior rulării
- ▶ Optarea pentru trimiterea de date de performanță a instrumentului către Illumina
- ▶ Desemnarea unui folder de ieșire pentru rulare

## Particularizarea avatarului și pseudonimului pentru instrument

- 1 Din ecranul de întâmpinare, selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
- 2 Selectați **System Customization** (Particularizare sistem).
- 3 Pentru a atribui o imagine preferată pentru instrumentul dvs., selectați **Browse** (Navigare) și navigați la imagine.
- 4 În câmpul Nick Name (Pseudonim), introduceți un nume preferat pentru instrument.
- 5 Selectați **Save** (Salvare) pentru a salva setările și pentru a avansa pe ecran. Imaginea și numele apar în colțul din stânga sus al fiecărui ecran.

## Setarea opțiunii de tastatură și a indicatorului audio

- 1 Din ecranul de întâmpinare, selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
- 2 Selectați **System Customization** (Particularizare sistem).
- 3 Bifați caseta de selectare **Use on-screen keyboard** (Utilizare tastatură pe ecran) pentru a activa tastatura pe ecran pentru introducerea de date în instrument.
- 4 Bifați caseta de selectare **Play audio** (Redare audio) pentru a activa indicatorii audio pentru următoarele evenimente.
  - ▶ La inițializarea instrumentului
  - ▶ Atunci când este demarată o rulare
  - ▶ Atunci când se produc anumite erori

- ▶ Atunci când este necesară interacțiunea cu utilizatorul
- ▶ Atunci când s-a încheiat o rulare

5 Selectați **Save** (Salvare) pentru a salva setările și pentru a avansa pe ecran.

## Setarea opțiunilor de configurare a rulării

- 1 Din ecranul Manage Instrument (Gestionare instrument), selectați **System Customization** (Particularizare sistem).
- 2 Bifați caseta de selectare **Use Advanced Load Consumables** (Utilizați consumabile avansate pentru încărcare) pentru a activa opțiunea de a încărca toate consumabilele pentru rulare de pe un singur ecran.
- 3 Bifați caseta de selectare **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Ignorați confirmarea verificării anterior rulării) pentru a începe secvențierea automat după o verificare automată reușită.
- 4 Selectați **Save** (Salvare) pentru a salva setările și pentru a ieși din ecran.

## Setarea opțiunii de purjare automată

- 1 Din ecranul Manage Instrument (Gestionare instrument), selectați **System Customization** (Particularizare sistem).
- 2 Bifați caseta de selectare **Purge Consumables at End of Run** (Purjați consumabilele la finalul rulării) pentru a purja reactivii neutilizați din cartușul cu reactivi în containerul cu reactivi utilizați, în mod automat, după fiecare rulare.

**NOTĂ** Purjarea consumabilelor adaugă automat timp suplimentar la fluxul de lucru.

- 3 Selectați **Save** (Salvare) pentru a salva setările și pentru a ieși din ecran.

## Consumabile și echipamente furnizate de utilizator

Consumabilele și echipamentele indicate mai jos sunt utilizate împreună cu instrumentul NextSeq 550Dx. Următoarele consumabile și echipamente sunt folosite pentru pregătirea consumabilelor, secvențiere și întreținerea instrumentului. Pentru mai multe informații, consultați *Ghidul sistemului NextSeq 550*.

## Consumabile pentru secvențiere

Consumabil	Furnizor	Scop
Șervețele cu alcool, alcool izopropilic 70% sau Etanol, 70%	VWR, nr. catalog 95041-714 (sau echivalentul) Furnizor general pentru laboratoare	Curățarea Flow Cell și uz general
Șervețele pentru laborator, fără scame	VWR, nr. catalog 21905-026 (sau echivalentul)	Curățarea Flow Cell și uz general

## Consumabile pentru întreținere și depanare

Consumabil	Furnizor	Scop
NaOCl, 5% (hipoclorit de sodiu)	Sigma-Aldrich, nr. catalog 239305 (sau un echivalent adecvat destinat utilizării în laborator)	Spălarea instrumentului folosind metoda de spălare manuală după efectuarea ciclului; diluat la 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, nr. catalog P7949	Spălarea instrumentului folosind opțiunile de spălare manuală; diluat la 0,05%
Apă destinată utilizării în laborator	Furnizor general pentru laboratoare	Spălarea instrumentului (metoda de spălare manuală)
Filtru de aer	Illumina, nr. catalog 20022240	Filtrarea aerului care este aspirat de instrument pentru răcire

### Îndrumări cu privire la apa destinată utilizării în laborator

Folosiți întotdeauna apă destinată utilizării în laborator sau apă deionizată pentru a efectua procedurile specifice instrumentului. Nu utilizați niciodată apă de la robinet. Utilizați exclusiv tipurile de apă de mai jos sau echivalentul acestora:

- ▶ Apă deionizată
- ▶ Illumina PW1
- ▶ Apă de 18 Megaohmi (MΩ)
- ▶ Apă tratată cu sistemul Milli-Q
- ▶ Apă tratată cu sistemul Super-Q
- ▶ Apă destinată utilizării în cadrul procedurilor de biologie moleculară

## Echipament

Articol	Sursa
Congelator, temperaturi între -25°C și -15°C, sistem fără gheață	Furnizor general pentru laboratoare
Frigider, între 2°C și 8°C	Furnizor general pentru laboratoare

# Capitolul 3 Secvențiere

Introducere .....	15
Fluxul de lucru de secvențiere .....	16
Pregătirea cartușului cu reactivi .....	16
Pregătirea Flow Cell .....	17
Pregătirea bibliotecilor pentru secvențiere .....	17
Configurarea unei rulări de secvențiere .....	18
Monitorizarea progresului rulării .....	25
Spălarea automată după efectuarea rulării .....	26

## Introducere

Pentru a efectua o rulare de secvențiere pe instrumentul NextSeq 550Dx, pregătiți un cartuș cu reactivi și un Flow Cell, apoi urmați solicitările software-ului pentru a configura și a iniția rulare. Generarea și secvențierea grupurilor de celule sunt realizate pe instrument. După rulare, începe automat o spălare a instrumentului, care utilizează componente deja încărcate în instrument.

## Generarea grupurilor de celule

În timpul generării grupurilor de celule, molecule individuale de ADN sunt legate de suprafața Flow Cell și apoi amplificate pentru a forma grupuri de celule.

## Secvențiere

Grupurile de celule sunt reprezentate imagistic utilizând chimia de secvențiere pe două canale și combinații de filtre specifice fiecăreia dintre nucleotidele etichetate fluorescent. După ce reprezentarea imagistică a unei dale de pe Flow Cell este finalizată, este reprezentată imagistic următoarea dală. Procesul este repetat pentru fiecare ciclu de secvențiere. În urma analizei imaginilor, software-ul efectuează definirea bazelor, filtrarea și evaluarea calității prin scoruri.

## Analiză

Pe măsură ce rulare progresa, software-ul de operare transferă automat fișierele de definire a bazelor (BCL) în locația de ieșire specificată pentru analiza secundară.

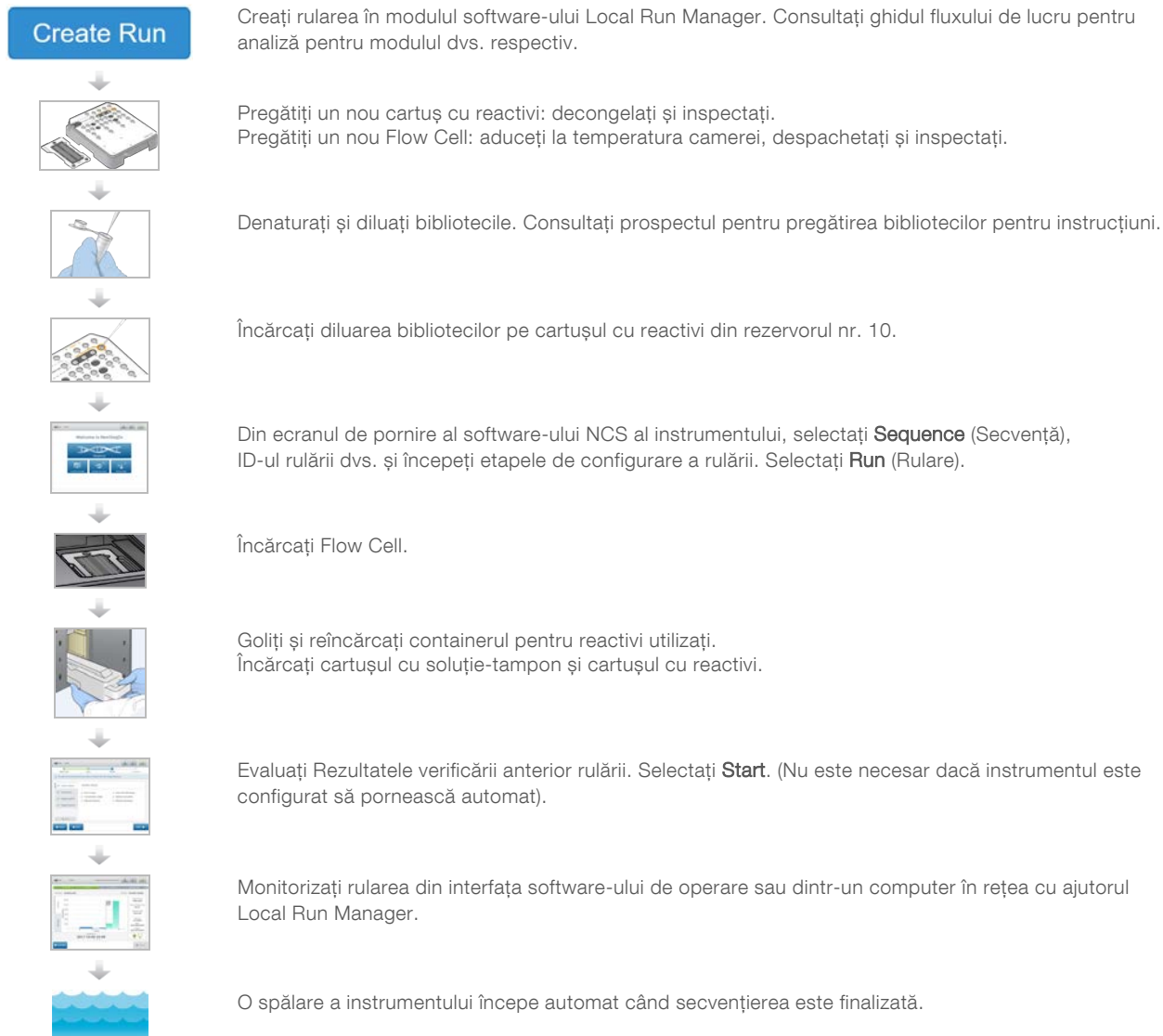
## Durata rulării de secvențiere

Durata rulării de secvențiere depinde de numărul de cicluri efectuate. Lungimea de rulare maximă este o rulare cu secvențiere la ambele capete de 150 de cicluri per citire (2 x 150), plus până la 8 cicluri fiecare pentru 2 citiri de indexuri.

## Numărul de cicluri dintr-o citire

În cadrul unei rulări de secvențiere, numărul de cicluri efectuate într-o citire este mai mare cu un 1 ciclu decât numărul de cicluri analizate. De exemplu, o rulare de 150 de cicluri cu secvențiere la ambele capete efectuează citiri de 151 de cicluri (2 x 151) pentru un total de 302 cicluri. La sfârșitul rulării, 2 x 150 de cicluri sunt analizate. Ciclul suplimentar este necesar pentru calculele de etapizare și preetapizare.

## Fluxul de lucru de secvențiere



## Pregătirea cartușului cu reactivi

Asigurați-vă că respectați cu atenție îndrumările privind cartușul cu reactivi, pentru o secvențiere cu succes.

- 1 Scoateți cartușul cu reactivi de la depozitarea la temperaturi între  $-25^{\circ}\text{C}$  și  $-15^{\circ}\text{C}$ .
- 2 Alegeți una din următoarele metode pentru a decongela reactivii. Nu cufundați cartușul. După ce cartușul este decongelat, uscați-l înainte de a trece la pasul următor.

Temperatură	Timp de decongelare	Limită de stabilitate
Baie cu apă între $15^{\circ}\text{C}$ și $30^{\circ}\text{C}$	60 de minute	A nu se depăși 6 ore
între $2^{\circ}\text{C}$ și $8^{\circ}\text{C}$	7 ore	A nu se depăși 7 zile

**NOTĂ** Dacă mai mult de un cartuș se decongelează în aceeași baie cu apă, lăsați să treacă un timp de decongelare suplimentar.

- 3 Răsturnați cartușul de cinci ori pentru a amesteca reactivii.
- 4 Inspectați fundul cartușului pentru a vă asigura că reactivii sunt decongețați și nu prezintă precipitate. Confirmați că pozițiile 29, 30, 31 și 32 sunt decongelate, deoarece acestea sunt cele mai mari și decongelarea lor durează cel mai mult.
- 5 Loviți ușor masa de laborator pentru a reduce bulele de aer. Pentru cele mai bune rezultate, treceți direct la încărcarea probei și la configurarea rulării.



#### AVERTIZARE

Acest set de reactivi conține substanțe chimice potențial periculoase. Se pot produce vătămări corporale prin inhalare, ingerare, contact cu pielea și contact cu ochii. Purtați echipament de protecție, inclusiv protecție pentru ochi, mănuși și halat de laborator corespunzătoare riscului de expunere. Manipulați reactivii folosiți ca deșeuri chimice și eliminați-i în conformitate cu legile și reglementările regionale, naționale și locale aplicabile. Pentru informații suplimentare privind mediul, sănătatea și siguranța, consultați Fișele cu date de securitate la adresa [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

## Pregătirea Flow Cell

- 1 Scoateți o cutie nouă cu Flow Cell de la depozitarea la temperaturi între 2°C și 8°C.
- 2 Îndepărtați ambalajul de folie de pe cutie și dați deoparte la temperatura ambiantă timp de 30 de minute.

**NOTĂ** Dacă ambalajul de folie este intact, Flow Cell poate rămâne la temperatura ambiantă până la 12 ore. Evitați răcirea și încălzirea repetate ale Flow Cell.

## Pregătirea bibliotecilor pentru secvențiere

Denaturați și diluați bibliotecile la un volum de încărcare de 1,3 ml. În practică, concentrația de încărcare poate varia în funcție de metodele de pregătire și de cuantificare a bibliotecilor. Diluarea bibliotecilor de probe depinde de complexitatea fondurilor de oligonucleotide. Pentru indicații privind pregătirea bibliotecilor de probe pentru secvențiere, inclusiv diluarea și cumularea bibliotecilor, consultați secțiunea Instrucțiuni de utilizare pentru setul aplicabil de pregătire a bibliotecilor. Optimizarea densității grupurilor de celule pe NextSeq 550Dx este necesară.

## Denaturarea și diluarea bibliotecilor

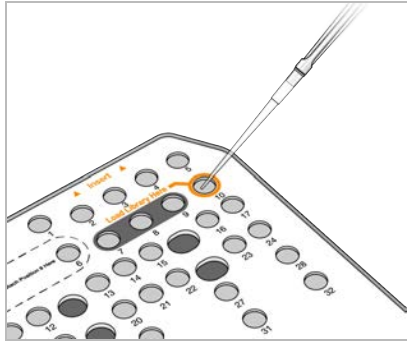
Denaturați și diluați bibliotecile dvs. la un volum de încărcare de 1,3 ml și o concentrație de încărcare de 1,8 pM. În practică, concentrația de încărcare poate varia în funcție de metodele de pregătire și de cuantificare a bibliotecilor. Pentru instrucțiuni, consultați prospectul pentru pregătirea bibliotecilor.

## Încărcarea bibliotecilor în cartușul cu reactivi

- 1 Curățați folia de sigilare care acoperă rezervorul nr. 10 etichetat **Load Library Here** (Încărcați biblioteca aici) folosind un șervețel care nu lasă scame.
- 2 Străpungeți folia de sigilare cu un vârf curat de pipetă de 1 ml.

- 3 Încărcați 1,3 ml din bibliotecile pregătite în rezervorul nr. 10 etichetat **Load Library Here** (Încărcați biblioteca aici). Evitați să atingeți folia de sigilare în timp ce eliberați bibliotecile.

**Figura 10** Încărcarea bibliotecilor



## Configurarea unei rulări de secvențiere

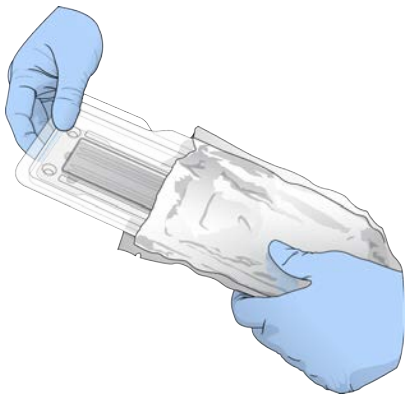
### Conectarea la BaseSpace

- 1 Introduceți numele de utilizator și parola BaseSpace.
- 2 Selectați **Next** (Înainte).

### Încărcarea Flow Cell

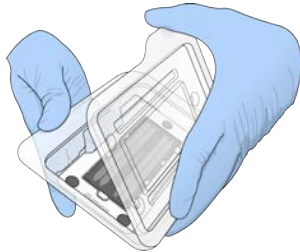
- 1 Îndepărtați Flow Cell folosit într-o rulare anterioară.
- 2 Scoateți Flow Cell din ambalajul de folie.

**Figura 11** Scoaterea din ambalajul de folie



- 3 Desfaceți ambalajul capsulă din plastic transparent și scoateți Flow Cell.

**Figura 12** Scoaterea din ambalajul capsulă

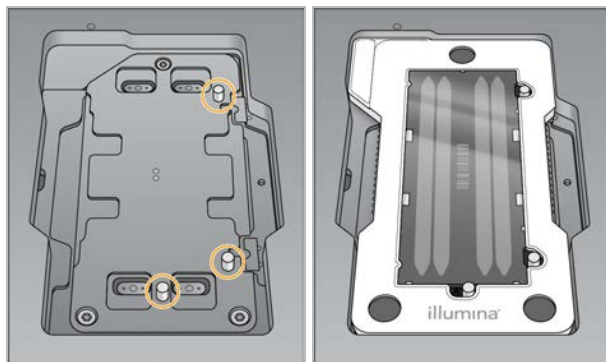


- 4 Curățați suprafața de sticlă a Flow Cell cu un șervețel cu alcool care nu lasă scame. Uscați sticla cu un șervețel de laborator care nu lasă scame.

**NOTĂ** Asigurați-vă că suprafața de sticlă a Flow Cell este curată. Dacă este cazul, repetați pasul de curățare.

- 5 Aliniați Flow Cell peste piciorușele de aliniere și așezați Flow Cell pe platformă.

**Figura 13** Încărcarea Flow Cell



- 6 Selectați **Load (Încărcare)**.  
Ușa se închide automat, ID-ul Flow Cell apare pe ecran și senzorii sunt verificați.

**NOTĂ** Țineți-vă mâinile la distanță de ușa Flow Cell în timp ce aceasta se închide, pentru a evita prinderea lor.

- 7 Selectați **Next (Înainte)**.

## Golirea containerului pentru reactivi utilizați

- 1 Deschideți ușa compartimentului pentru soluție-tampon cu zăvorul de sub colțul din stânga jos al ușii.
- 2 Scoateți containerul pentru reactivi utilizați și eliminați conținutul în conformitate cu standardele aplicabile.



**Figura 14** Scoaterea containerului pentru reactivi utilizați



**NOTĂ** În timp ce scoateți containerul, țineți cealaltă mână dedesubt, pentru sprijin.

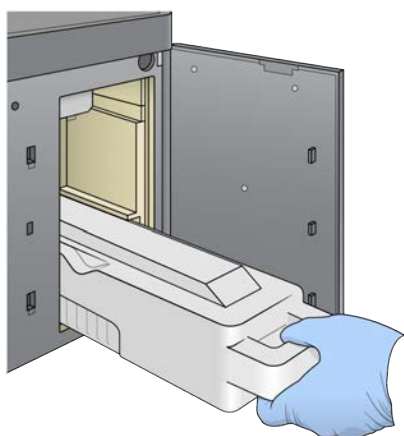


#### AVERTIZARE

Acest set de reactivi conține substanțe chimice potențial periculoase. Se pot produce vătămări corporale prin inhalare, ingerare, contact cu pielea și contact cu ochii. Purtați echipament de protecție, inclusiv protecție pentru ochi, mănuși și halat de laborator corespunzătoare riscului de expunere. Manipulați reactivii folosiți ca deșeuri chimice și eliminați-i în conformitate cu legile și reglementările regionale, naționale și locale aplicabile. Pentru informații suplimentare privind mediul, sănătatea și siguranța, consultați Fișele cu date de securitate la adresa [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

- 3 Glisați containerul pentru reactivi utilizați golit în compartimentul pentru soluție-tampon până când se oprește. Un declic audibil indică faptul că este în poziție containerul.

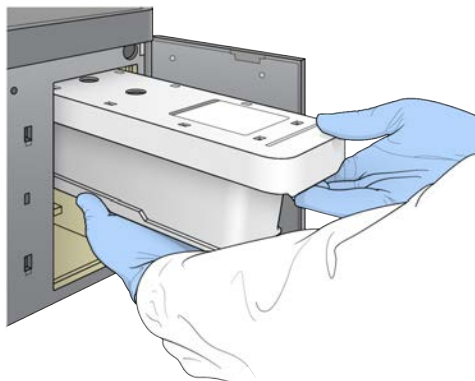
**Figura 15** Încărcarea containerului pentru reactivi utilizați golit



## Încărcarea cartușului cu soluție-tampon

- 1 Scoateți cartușul cu soluție-tampon utilizată din compartimentul de sus.  
Este necesară forță pentru a ridica și apoi pentru a trage în afară cartușul cu soluție-tampon.
- 2 Glisați un nou cartuș cu soluție-tampon în compartimentul pentru soluție-tampon până când se oprește.  
Un declic audibil indică faptul că este în poziție cartușul, ID-ul cartușului cu soluție-tampon apare pe ecran și senzorul este verificat.

Figura 16 Încărcarea cartușului cu soluție-tampon



- 3 Închideți ușa compartimentului pentru soluție-tampon și selectați **Next** (Înainte).

## Încărcarea cartușului cu reactivi

- 1 Deschideți ușa compartimentului pentru reactivi cu zăvorul de sub colțul din dreapta jos al ușii.
- 2 Scoateți cartușul cu reactivi utilizați din compartimentul pentru reactivi. Eliminați conținutul neutilizat în conformitate cu standardele aplicabile.



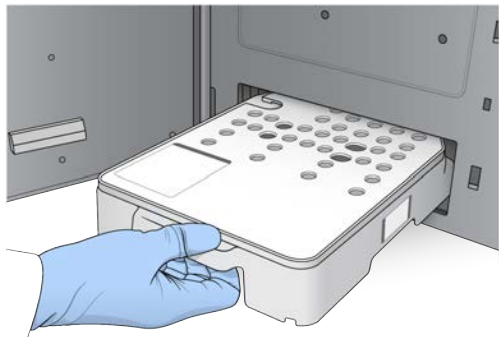
### AVERTIZARE

Acest set de reactivi conține substanțe chimice potențial periculoase. Se pot produce vătămări corporale prin inhalare, ingerare, contact cu pielea și contact cu ochii. Purtați echipament de protecție, inclusiv protecție pentru ochi, mănuși și halat de laborator corespunzătoare riscului de expunere. Manipulați reactivii folosiți ca deșeuri chimice și eliminați-i în conformitate cu legile și reglementările regionale, naționale și locale aplicabile. Pentru informații suplimentare privind mediul, sănătatea și siguranța, consultați Fișele cu date de securitate la adresa [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

**NOTĂ** Pentru a facilita eliminarea în siguranță a reactivului neutilizat, rezervorul din poziția 6 poate fi scos. Pentru mai multe informații, consultați *Scoaterea rezervorului utilizat din poziția nr. 6 la pagina 22*.

- 3 Glisați cartușul cu reactivi în compartimentul pentru reactivi până când se oprește, apoi închideți ușa compartimentului pentru reactivi.

**Figura 17** Încărcarea cartușului cu reactivi

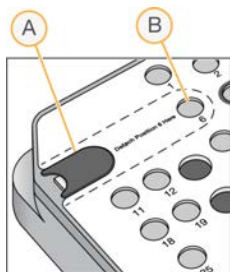


4. Selectați **Load** (Încărcare).  
Software-ul deplasează cartușul în poziție automat (~30 secunde), ID-ul cartușului cu reactivi apare pe ecran și senzorii sunt verificați.
5. Selectați **Next** (Înainte).

## Scoaterea rezervorului utilizat din poziția nr. 6

1. După ce ați scos cartușul cu reactivi **folosit** din instrument, îndepărtați capacul de protecție din cauciuc de pe locașul de lângă poziția nr. 6.

**Figura 18** Poziția amovibilă nr. 6



- A Capac de protecție din cauciuc
- B Poziția nr. 6

2. Apăsați pe urechiușa de plastic transparent și împingeți spre stânga pentru a scoate rezervorul.
3. Eliminați rezervorul în conformitate cu standardele aplicabile.

## Specificarea parametrilor de rulare

Pașii de pe ecranul Run Setup (Configurarea rulării) diferă în funcție de configurația sistemului:

- ▶ **BaseSpace sau BaseSpace Onsite** – ecranul Run Setup (Configurarea rulării) listează rulările care au fost configurate utilizând fila BaseSpace Prep. Dacă rularea prevăzută nu apare pe ecranul Run Setup (Configurarea rulării), asigurați-vă că rularea este marcată pentru secvențiere în BaseSpace.
- ▶ **Standalone (Autonom)** – ecranul Run Setup (Configurarea rulării) include câmpuri pentru definirea parametrilor de rulare.

## Selectarea rulării disponibile (configurarea BaseSpace)


- 1 Selectați un nume de rulare din lista de rulări disponibile.  
Utilizați săgețile sus și jos pentru a derula lista sau introduceți un nume de rulare în câmpul Search (Căutare).
- 2 Selectați **Next** (Înainte).
- 3 Confirmați parametrii de rulare.
  - ▶ **Run Name** (Numele rulării) – numele rulării așa cum a fost atribuit în BaseSpace.
  - ▶ **Library ID** (ID-ul bibliotecii) – numele bibliotecilor colectate, astfel cum sunt atribuite în BaseSpace.
  - ▶ **Recipe** (Rețetă) – numele rețetei, fie **NextSeq High** (NextSeq mare), fie **NextSeq Mid** (NextSeq mediu), în funcție de cartușul cu reactivi utilizat pentru rulare.
  - ▶ **Read Type** (Tipul citirii) – citire unică sau cu secvențiere la ambele capete.
  - ▶ **Read Length** (Lungimea citirii) – numărul de cicluri pentru fiecare citire.
  - ▶ **[Opțional]** Amorse personalizate, dacă este cazul.
  - ▶ **Run parameters** (Parametrii de rulare) – modificați numărul de citiri sau numărul de cicluri pe citire.
  - ▶ **Amorse personalizate** – modificați setările pentru amorsele personalizate. Pentru mai multe informații, consultați *Ghidul pentru amorsele personalizate NextSeq (nr. document 15057456)*.
  - ▶ **Purge consumables for this run** (Purjați consumabilele pentru această rulare) – modificați setarea pentru a purja consumabilele automat după rulare curentă.
- 4 Selectați **Next** (Înainte).

## Introducerea parametrilor de rulare (configurarea autonomă)

- 1 Introduceți un nume de rulare preferat.
- 2 **[Opțional]** Introduceți un ID de bibliotecă după preferință.
- 3 Selectați un tip de citire, fie **Single Read** (Citire unică), fie **Paired End** (Cu secvențiere la ambele capete).
- 4 Introduceți numărul de cicluri pentru fiecare citire din rulare de secvențiere.
  - ▶ **Read 1** (Citire 1) – introduceți o valoare de până la 151 de cicluri.
  - ▶ **Index 1** – introduceți numărul de cicluri necesare pentru amorsa indexului 1 (i7).
  - ▶ **Index 2** – introduceți numărul de cicluri necesare pentru amorsa indexului 2 (i5).
  - ▶ **Read 2** (Citire 2) – introduceți o valoare de până la 151 de cicluri. Această valoare este, de obicei, același număr de cicluri ca Read 1 (Citire 1).




Software-ul de control confirmă intrările dvs. folosind următoarele criterii:

  - ▶ Ciclurile totale nu depășesc ciclurile maxime permise
  - ▶ Ciclurile pentru Read 1 (Citire 1) sunt mai multe decât cele 5 cicluri utilizate pentru generarea șabloanelor
  - ▶ Ciclurile de citire a indexului nu depășesc ciclurile Read 1 (Citire 1) și Read 2 (Citire 2)
- 5 **[Opțional]** Dacă utilizați amorse particularizate, bifați caseta de selectare pentru amorsele folosite. Pentru mai multe informații, consultați *Ghidul pentru amorsele personalizate NextSeq (nr. document 15057456)*.
  - ▶ **Read 1** (Citire 1) – amorsă particularizată pentru Read 1.
  - ▶ **Index 1** – amorsă particularizată pentru Index 1.
  - ▶ **Index 2** – amorsă particularizată pentru Index 2.
  - ▶ **Read 2** (Citire 2) – amorsă particularizată pentru Read 2.

- 6 **[Opțional]** Selectați butonul **Advanced Settings**  (Setări avansate) pentru a modifica parametrii de rulare.
- ▶ Din meniul derulant **Recipe (Rețetă)**, selectați o rețetă. Sunt enumerate doar rețete compatibile.
  - ▶ **Output folder location** (Locația folderului de ieșire) – modificați locația folderului de ieșire pentru rularea curentă. Selectați **Browse** (Navigare) pentru a naviga la o locație din rețea.
  - ▶ **Included file** (Fișier inclus) – selectați fișierele care trebuie incluse în folderul de ieșire, care pot fi utile dacă este necesară o analiză suplimentară. De exemplu, fișiere manifest și liste de probe.
  - ▶ **Purge consumables for this run** (Purjați consumabile pentru această rulare) – modificați setarea pentru a purja consumabilele automat după rularea curentă.
  - ▶ **Use run monitoring for this run** (Utilizați monitorizarea rulării pentru această rulare) – modificați setarea pentru a utiliza monitorizarea rulării în BaseSpace.
- 7 Selectați **Next** (Înainte).

## Evaluarea verificării anterior rulării

Software-ul efectuează o verificare a sistemului automată anterior rulării. În timpul verificării, următorii indicatori apar pe ecran:

- ▶ **Bifa**  **gri** – verificarea nu a fost încă efectuată.
- ▶ **Pictograma**  **de progres** – verificarea este în curs.
- ▶ **Bifa**  **verde** – verificarea a reușit.
- ▶ **✗ roșu** – verificarea a reușit. Pentru orice elemente care nu au trecut de verificare, este necesară o acțiune înainte de a putea continua. Consultați [Soluționarea erorilor de verificare automată la pagina 44](#).

Pentru a opri o verificare automată anterior rulării în curs, selectați butonul **Cancel** (Anulare). Pentru a reporni verificarea, selectați butonul **Retry** (Reîncercare). Verificarea se reia la prima verificare incompletă sau eșuată.

Pentru a vizualiza rezultatele fiecărei verificări individuale dintr-o categorie, selectați fila **Category** (Categorie).

Dacă instrumentul nu este configurat să inițieze rularea automat, inițiați rularea după ce verificarea automată anterior rulării este finalizată.

## Inițierea rulării

Atunci când verificarea automată anterior rulării este finalizată, selectați **Start**. Rularea de secvențiere începe.

Pentru a configura sistemul să inițieze rularea automat după o verificare cu succes, consultați [Setarea opțiunilor de configurare a rulării la pagina 13](#).



### ATENȚIE

Asigurați-vă că rămâneți autentificat în Windows. Dacă vă deconectați de la sistemul Windows în timpul unei rulări de secvențiere, rularea se oprește.

**NOTĂ** Reactivii nu pot rămâne inactivi în instrument mai mult de 24 de ore.

## Monitorizarea progresului rulării

1 Monitorizarea progresului rulării, intensitățile și scorurile de calitate ca metrici apar pe ecran.

**NOTĂ** După ce selectați Home (Ecran de pornire), nu mai este posibil să reveniți pentru a vizualiza metricile de rulare. Cu toate acestea, metricile rulării sunt accesibile pe BaseSpace sau pot fi vizualizate de pe un computer autonom folosind Sequencing Analysis Viewer (Vizualizator analiză de secvențiere) (SAV).

## Cicluri pentru metricile rulării

Metricile rulării apar în puncte diferite din cadrul unei rulări.

- ▶ În timpul etapei de generare a grupurilor de celule, nu apar metrici.
- ▶ Primele 5 cicluri sunt rezervate generării de șabloane.
- ▶ Metricile rulării apar după ciclul 25, inclusiv densitatea grupurilor de celule, grupurile de celule care trec de filtru, randamentul și scorurile de calitate.

## Transferul de date

Stare	Local Run Manager	Folder ieșire
Conectat		
Conectat, transferă date		
Deconectat		
Dezactivat		

Dacă transferul de date este întrerupt în timpul rulării, datele sunt stocate temporar pe computerul instrumentului. Atunci când conexiunea este restaurată, transferul de date se reia automat. Dacă conexiunea nu este restaurată înainte de încheierea rulării, transferați datele manual de pe computerul instrumentului înainte de a iniția o rulare ulterioară.

## Serviciul de copiere universal

NextSeq 550Dx include un serviciu de copiere universal (Universal Copy Service). RTA2 solicită serviciului să copieze fișiere dintr-o locație sursă într-o locație de destinație și serviciul procesează solicitările de copiere în ordinea primirii. Dacă se produce o excepție, fișierul este retrimis în coadă pentru copiere, în funcție de numărul de fișiere din coada de copiere.

## Vizualizatorul pentru analiza de secvențiere

Software-ul Sequencing Analysis Viewer (Vizualizator analiză de secvențiere) arată metrici de secvențiere generați în timpul rulării. Metricii apar sub formă de diagrame, grafice și tabele pe baza datelor generate de RTA și scrise în fișiere InterOp. Metricii sunt actualizați pe măsură ce rularea progresează. Selectați **Refresh** (Actualizare) în orice moment în timpul rulării pentru a vizualiza metricii actualizați. Pentru mai multe informații, consultați *Ghidul de utilizator pentru Sequencing Analysis Viewer (Vizualizator analiză de secvențiere)* (partea nr. 15020619).

Opțiunea Sequencing Analysis Viewer (Vizualizator analiză de secvențiere) este inclusă în software-ul instalat pe computerul instrumentului. Puteți instala Sequencing Analysis Viewer (Vizualizator analiză de secvențiere) și pe un alt computer conectat la aceeași rețea ca și instrumentul de monitorizare a metricilor de rulare de la distanță.

## Spălarea automată după efectuarea rulării

Atunci când rularea de secvențiere este finalizată, software-ul inițiază o spălare automată după efectuarea rulării, folosind soluția de spălare furnizată în cartușul cu soluție-tampon și NaOCl furnizat în cartușul cu reactiv.

Spălarea automată după efectuarea rulării durează aproximativ 90 de minute. Atunci când spălarea este finalizată, butonul Home (Pornire) devine activ. Rezultatele de secvențiere rămân vizibile pe ecran în timpul spălării.

## După spălare

După spălare, dispozitivele de aspirație rămân în poziția în jos, pentru a preveni pătrunderea aerului în sistem. Lăsați cartușele în poziție până la următoarea rulare.

# Capitolul 4 Scanare

Introducere .....	27
Fluxul de lucru al scanării .....	28
Descărcarea folderului DMAP .....	28
Încărcarea BeadChip pe adaptor .....	29
Configurarea unei scanări .....	30
Monitorizarea progresului scanării .....	32

## Introducere

Pentru a efectua o scanare pe instrumentul NextSeq 550Dx, aveți nevoie de următoarele componente pentru rulare:

- ▶ Un BeadChip hibridizat și colorat
- ▶ Adaptorul reutilizabil BeadChip
- ▶ Fișierele de decodare a hărții (DMAP) pentru BeadChip-ul utilizat
- ▶ Un fișier manifest pentru tipul de BeadChip utilizat
- ▶ Un fișier de grupări de celule pentru tipul de BeadChip utilizat

Fișierele de ieșire sunt generate în timpul scanării și apoi sunt puse în coadă pentru transfer în folderul de ieșire specificat.

Efectuați analiza utilizând software-ul BlueFuse Multi, care necesită ca datele de scanare să fie disponibile într-un format de fișier de definiție a genotipului (GTC). În mod implicit, instrumentul NextSeq 550Dx generează date normalizate și definiții de genotip asociate în format de fișier GTC. Opțional, puteți configura instrumentul pentru a genera fișiere de date suplimentare de intensitate (IDAT). Pentru mai multe informații, consultați *Configurarea scanării BeadChip* la pagina 53.

## Clientul de decodare a fișierului

Folderul DMAP conține informații care identifică locațiile bead-urilor de pe BeadChip și cuantifică semnalul asociat cu fiecare bead. Un folder DMAP este unic pentru fiecare cod de bare BeadChip.

Decode File Client Utility (Utilitarul clientului de decodare a fișierului) vă permite să descărcați folderele DMAP direct de pe serverele Illumina folosind protocolul HTTP standard.

Pentru acces la Decode File Client (Clientul de decodare a fișierului), accesați [pagina de asistență pentru Decode File Client \(Clientul de decodare a fișierului\)](#) de pe site-ul Illumina ([support.illumina.com/array/array\\_software/decode\\_file\\_client/downloads.html](http://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html)). Instalați Decode File Client (Clientul de decodare a fișierului) pe un computer cu acces la locația din rețea a folderului DMAP.

Pentru mai multe informații, consultați *Descărcarea folderului DMAP* la pagina 28.

## Fișierele manifest și fișierele grupărilor de celule

Pentru fiecare BeadChip, software-ul necesită acces la un fișier manifest și la un fișier de grupări de celule. Fiecare fișier manifest și fiecare fișier de grupări de celule sunt unice pentru un anumit tip de BeadChip. Asigurați-vă că utilizați fișiere de grupări de celule care includ NS550 în numele fișierului. Aceste fișiere sunt compatibile cu sistemul NextSeq 550Dx.

- ▶ **Fișierele manifest** – fișierele manifest descriu SNP sau conținutul probei de pe un BeadChip. Fișierele manifest folosesc formatul de fișier \*.bpm.

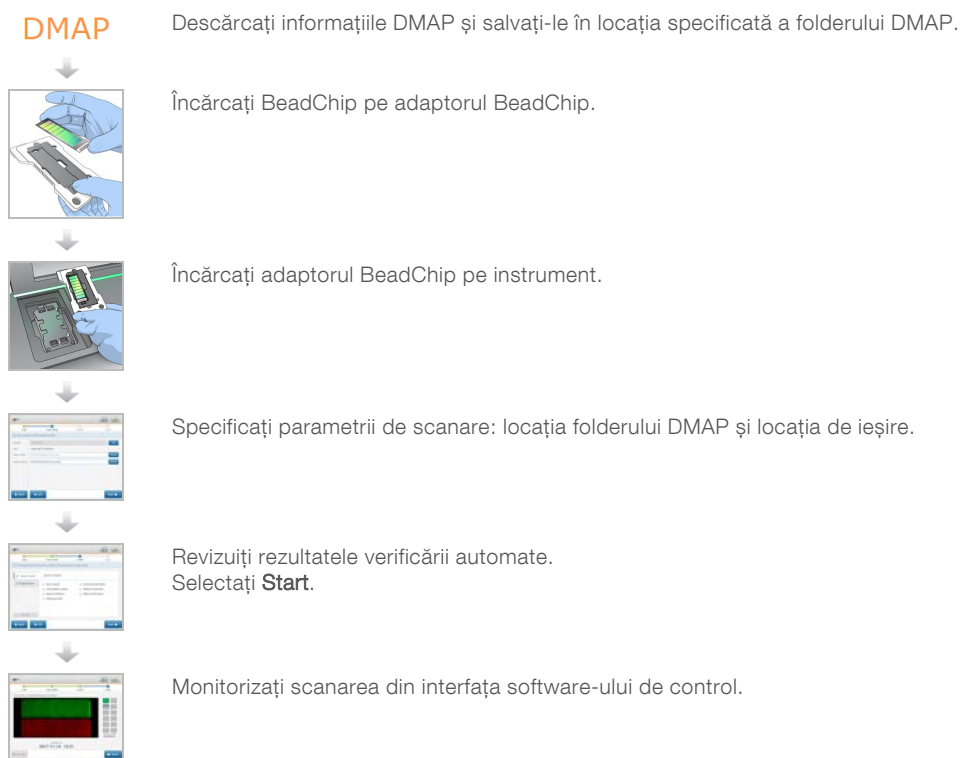


- ▶ **Fișierele de grupări de celule** – fișierele de grupări de celule descriu pozițiile grupărilor de celule pentru matricea genotipului Illumina și sunt utilizate la analiza datelor pentru a determina genotipul. Fișierele de grupări de celule folosesc formatul de fișier \*.egt.

Locația fișierelor este specificată pe ecranul BeadChip Scan Configuration (Configurarea scanării BeadChip). Din ecranul NCS Home (Ecran de întâmpinare NCS), selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument), **System Configuration** (Configurarea sistemului), apoi **BeadChip Scan Configuration** (Configurarea scanării BeadChip).

Când este instalat instrumentul NextSeq 550Dx, reprezentantul Illumina descarcă aceste fișiere și specifică calea în software-ul de control. Nu este necesară modificarea acestor fișiere decât în cazul pierderii sau dacă este disponibilă o nouă versiune. Pentru mai multe informații, consultați [Înlocuirea fișierelor manifest sau a fișierelor grupărilor de celule la pagina 50](#).

## Fluxul de lucru al scanării



## Descărcarea folderului DMAP

Puteți accesa folderul DMAP folosind Decode File Client (Clientul de decodare a fișierului) în funcție de cont sau de BeadChip (vizualizare implicită).

## Accesați folderul DMAP prin intermediul contului

- 1 Din fila principală a Decode File Client (Client pentru decodarea fișierului), selectați o opțiune de descărcare:
  - ▶ AutoPilot
  - ▶ BeadChips nu au fost încă descărcate în întregime
  - ▶ Toate BeadChips

- ▶ BeadChips în funcție de comanda de achiziție
  - ▶ BeadChip în funcție de codul de bare
- 2 Introduceți informațiile necesare.
  - 3 Localizați folderul DMAP pe care doriți să îl descărcați.
  - 4 Asigurați-vă că aveți suficient spațiu liber pe destinația de descărcare.
  - 5 Începeți descărcarea. Vizualizați starea descărcării în fila Download Status and Log (Stare descărcare și jurnal).
  - 6 Salvați folderul DMAP în locația specificată a folderului DMAP.

## Accesați folderul DMAP prin intermediul BeadChip

- 1 Identificați BeadChips folosind 2 dintre următoarele opțiuni:
  - ▶ Codul de bare BeadChip
  - ▶ ID casetă BeadChips
  - ▶ Numărul de comandă de achiziție
  - ▶ Numărul de comandă de vânzare
- 2 Localizați folderul DMAP pe care doriți să îl descărcați.
- 3 Asigurați-vă că aveți suficient spațiu liber pe destinația de descărcare.
- 4 Începeți descărcarea. Vizualizați starea descărcării în fila Download Status and Log (Stare descărcare și jurnal).
- 5 Salvați folderul DMAP în locația specificată a folderului DMAP.

## Încărcarea BeadChip pe adaptor

- 1 Apăsați în jos pe clema de retenție a adaptorului. Clema se înclină ușor înapoi pentru a se deschide.
- 2 Ținând BeadChip de margini, poziționați BeadChip cu codul de bare lângă clema de retenție și așezați BeadChip pe raftul încastat al adaptorului.

**Figura 19** Încărcarea BeadChip pe adaptor



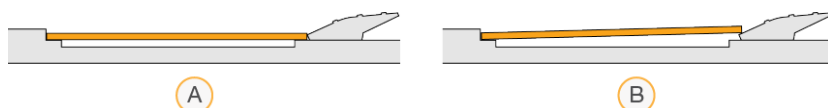
- 3 Cu ajutorul orificiilor de o parte și de alta a BeadChip, asigurați-vă că BeadChip este așezat în raftul încastat al adaptorului.

**Figura 20** Plasați și securizați Bead Chip



- 4 Eliberați ușor clema de retenție pentru a securiza BeadChip.
- 5 Inspectați BeadChip din lateral pentru a vă asigura că BeadChip este așezat plat pe adaptor. Repoziționați BeadChip, dacă este necesar.

**Figura 21** Verificați poziția BeadChip



- A Poziție corectă – BeadChip este plat pe adaptor atunci când este eliberată clema.  
B Poziție incorectă – BeadChip nu este plat atunci când este eliberată clema.

## Configurarea unei scanări

- 1 Din ecranul de start, selectați **Experiment**, apoi selectați **Scan** (Scanare). Comanda Scan (Scanare) deschide ușa compartimentului imagistic, eliberează consumabilele dintr-o rulare anterioară (dacă există) și deschide seria de ecrane de configurare a scanării. O scurtă întârziere este normală.

## Descărcarea consumabilelor de secvențiere

Dacă există consumabile de secvențiere utilizate atunci când configurați o scanare, software-ul vă solicită să descărcați cartușul cu reactivi și cartușul tampon înainte de a trece la pasul următor.

- 1 Dacă vi se solicită, scoateți consumabilele de secvențiere utilizate de la un ciclu de secvențiere anterior.
  - a Scoateți cartușul cu reactivi din compartimentul pentru reactivi. Eliminați conținutul neutilizat în conformitate cu standardele aplicabile.
  - b Scoateți cartușul cu soluție-tampon din compartimentul de sus.



### AVERTIZARE

Acest set de reactivi conține substanțe chimice potențial periculoase. Se pot produce vătămări corporale prin inhalare, ingerare, contact cu pielea și contact cu ochii. Purtați echipament de protecție, inclusiv protecție pentru ochi, mănuși și halat de laborator corespunzătoare riscului de expunere. Manipulați reactivii folosiți ca deșeuri chimice și eliminați-i în conformitate cu legile și reglementările regionale, naționale și locale aplicabile. Pentru informații suplimentare privind mediul, sănătatea și siguranța, consultați Fișele cu date de securitate la adresa [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

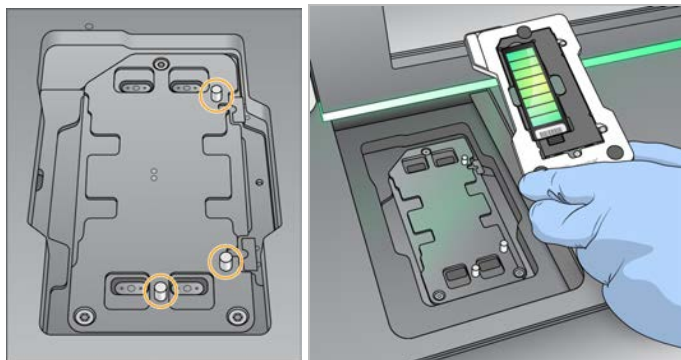
- 2 Scoateți Flow Cell din Compartimentul imagistic.

- 3 Închideți ușile compartimentului pentru reactivi și ale compartimentului pentru soluție-tampon.

## Încărcarea adaptorului BeadChip

- 1 Utilizați piciorușele de aliniere pentru a poziționa adaptorul BeadChip pe platformă.

Figura 22 Încărcarea adaptorului BeadChip






- 2 Selectați **Load** (Încărcare).  
Ușa se închide automat, ID-ul BeadChip apare pe ecran și senzorii sunt verificați. O scurtă întârziere este normală. În cazul în care codul de bare BeadChip nu poate fi citit, apare o casetă de dialog care vă permite să introduceți manual codul de bare. Consultați *Software-ul nu poate citi codul de bare BeadChip* la pagina 48.
- 3 Selectați **Next** (Înainte).

## Configurarea scanării

- 1 În ecranul Scan Setup (Configurarea scanării), confirmați următoarele informații:
  - ▶ **Cod de bare** – software-ul citește codul de bare BeadChip atunci când este încărcat BeadChip. În cazul în care codul de bare a fost introdus manual, apare butonul Edit (Editare) pentru alte modificări.
  - ▶ **Tip** – câmpul tip BeadChip este autopopulat pe baza codului de bare BeadChip.
  - ▶ **Locația DMAP** – locația folderului DMAP este specificată pe ecranul Scan Configuration BeadChip (Configurarea scanării BeadChip). Pentru a schimba locația doar pentru scanarea curentă, selectați **Browse** (Navigare) și navigați la locația corectă.
  - ▶ **Locația de ieșire** – locația de ieșire este specificată pe ecranul BeadChip Scan Configuration (Configurare a scanării BeadChip). Pentru a schimba locația doar pentru scanarea curentă, selectați **Browse** (Navigare) și navigați la locația preferată.
- 2 Selectați **Next** (Înainte).

## Evaluarea verificării anterior rulării

Software-ul efectuează o verificare a sistemului automată anterior rulării. În timpul verificării, următorii indicatori apar pe ecran:

- ▶ **Bifa**  **gri** – verificarea nu a fost încă efectuată.
- ▶ **Pictograma**  **de progres** – verificarea este în curs.
- ▶ **Bifa**  **verde** – verificarea a reușit.

- ▶ **✗ roșu** – verificarea a reușit. Pentru orice elemente care nu au trecut de verificare, este necesară o acțiune înainte de a putea continua. Consultați *Soluționarea erorilor de verificare automată la pagina 44*.

Pentru a opri o verificare automată anterior rulării în curs, selectați butonul **Cancel** (Anulare). Pentru a reporni verificarea, selectați butonul **Retry** (Reîncercare). Verificarea se reia la prima verificare incompletă sau eșuată.

Pentru a vizualiza rezultatele fiecărei verificări individuale dintr-o categorie, selectați fila Category (Categorie).

Dacă instrumentul nu este configurat să inițieze rularea automat, inițiați rularea după ce verificarea automată anterior rulării este finalizată.

## Pornirea scanării

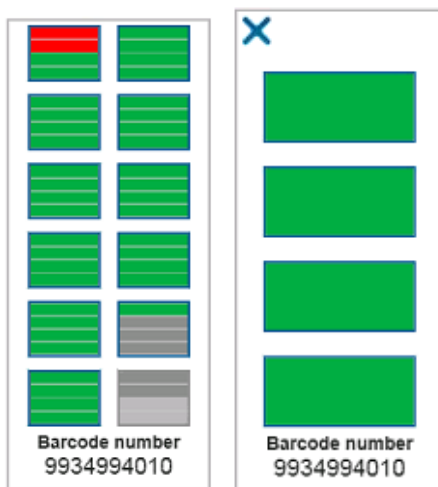
Atunci când verificarea automată este finalizată, selectați **Start**. Începe scanarea.

Pentru a configura sistemul să inițieze scanarea automat după o verificare cu succes, consultați *Setarea opțiunilor de configurare a rulării la pagina 13*.

## Monitorizarea progresului scanării

- 1 Monitorizați progresul scanării utilizând imaginea BeadChip. Fiecare culoare de pe imagine indică starea scanării.
  - ▶ **Gri deschis** – nescanat.
  - ▶ **Gri închis** – scanat, dar neînregistrat.
  - ▶ **Verde** – scanat și înregistrat cu succes.
  - ▶ **Roșu** – scanarea și înregistrarea au eșuat.Dacă înregistrarea nu reușește, puteți rescana eșantioanele care conțin secțiuni eșuate. Consultați *Eșecul scanării BeadChip la pagina 49*.
- 2 Selectați imaginea BeadChip pentru a comuta între o vizualizare completă și o vizualizare detaliată a unui eșantion selectat.
  - ▶ Vizualizarea completă arată eșantioanele de pe BeadChip și secțiunile din fiecare eșantion.
  - ▶ Vizualizarea detaliată arată fiecare secțiune din eșantionul selectat.

**Figura 23** Imaginea BeadChip: vizualizare completă și vizualizare detaliată



**NOTĂ** Încheierea unei scanări este definitivă. Dacă încheiați scanarea înainte de finalizarea scanării, datele scanării *nu* sunt salvate.

## Transferul de date

Datele sunt plasate în coadă pentru a fi transferate în folderul de ieșire a scanării atunci când scanarea este completă. Datele sunt scrise temporar pe computerul instrumentului. Folderul temporar este șters automat de pe computerul instrumentului atunci când este pornită o scanare ulterioară.

Timpul necesar pentru a transfera date depinde de conexiunea la rețea. Înainte de a începe o scanare ulterioară, asigurați-vă că datele au fost scrise în folderul de ieșire. Pentru a verifica, asigurați-vă că fișierele GTC sunt prezente în folderul cu coduri de bare. Pentru mai multe informații, consultați *Structura folderului de ieșire pentru scanare la pagina 63*.

În cazul în care conexiunea este întreruptă, transferul de date se reia automat atunci când conexiunea este restabilă. Fiecare fișier are un cronometru de 1 oră după ce a fost plasat în coadă pentru transferul în folderul de ieșire. Când cronometrul expiră sau dacă instrumentul este repornit înainte de finalizarea transferului, datele nu sunt scrise în folderul de ieșire.



# Capitolul 5 Întreținere

Introducere .....	35
Efectuarea unei spălări manuale .....	35
Înlocuirea filtrului de aer .....	38
Actualizări de software .....	39
Opțiuni privind repornirea și închiderea .....	41

## Introducere

Procedura de întreținere include spălări manuale ale instrumentului și înlocuirea filtrului de aer. Sunt descrise, de asemenea, opțiunile de oprire și de repornire a instrumentului.

- ▶ **Instrument washes** (Spălări instrument) – o spălare automată după efectuarea rulării după fiecare rulare de secvențiere menține performanța instrumentului. Cu toate acestea, o spălare manuală este necesară periodic în anumite condiții. Consultați *Efectuarea unei spălări manuale la pagina 35*.
- ▶ **Air filter replacement** (Înlocuire filtru de aer) – înlocuirea regulată a filtrului de aer asigură un flux de aer corespunzător prin instrument.

## Întreținerea preventivă

Illumina recomandă să planificați un serviciu de întreținere preventivă în fiecare an. Dacă nu aveți un contract de service, contactați Managerul de cont din teritoriul dvs. sau departamentul de Asistență tehnică Illumina pentru a face aranjamentele necesare pentru un serviciu de întreținere preventivă facturabil.

## Efectuarea unei spălări manuale

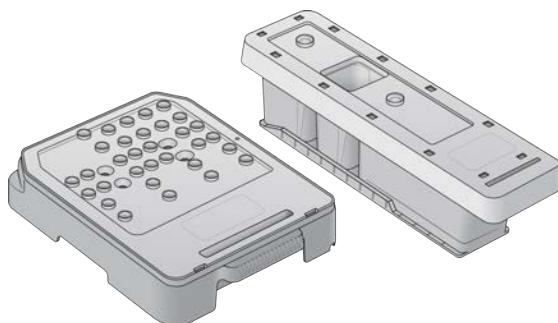
Spălările manuale sunt inițiate din Ecranul de pornire. Opțiunile de spălare includ Quick Wash (Spălare rapidă) și Manual Post-Run Wash (Spălare manuală după efectuarea rulării).

Tipuri de spălare	Descriere
Quick Wash (Spălare rapidă) Durata: 20 de minute	Spală sistemul cu o soluție de spălare furnizată de utilizator, din apă de laborator și Tween 20 (cartuș de spălare pentru soluție-tampon). <ul style="list-style-type: none"><li>• Necesară la fiecare 14 zile în care instrumentul este inactiv cu cartușul cu reactivi și cartușul cu soluție-tampon montate.</li><li>• Necesară la fiecare 7 zile în care instrumentul este în stare uscată (cu cartușul cu reactivi și cartușul cu soluție-tampon scoase).</li></ul>
Manual Post-Run Wash (Spălare manuală după efectuarea rulării) Durata: 90 de minute	Spală sistemul cu o soluție de spălare furnizată de utilizator, din apă de laborator și Tween 20 (cartuș de spălare pentru soluție-tampon) și hipoclorit de sodiu de 0,12% (cartuș de spălare pentru reactivi). Necesară dacă spălarea automată după efectuarea rulării nu a fost efectuată.

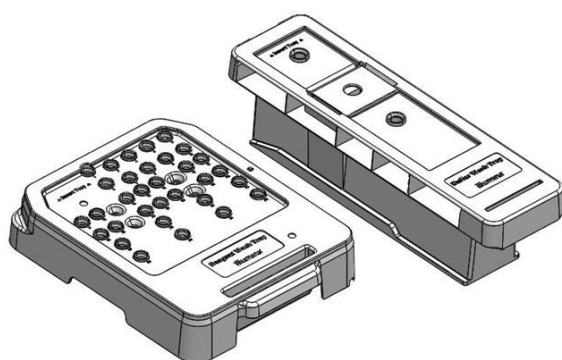
O spălare manuală necesită cartușul de spălare pentru reactivi și cartușul de spălare pentru soluția-tampon furnizate împreună cu instrumentul, precum și un Flow Cell utilizat. Un Flow Cell utilizat poate fi folosit de până la 20 de ori pentru spălarea instrumentului.



**Figura 24** Cartuș de spălare pentru reactivi și cartuș de spălare pentru soluția-tampon în stilul original.



**Figura 25** Cartuș de spălare pentru reactivi și cartuș de spălare pentru soluția-tampon în stilul nou.



## Pregătirea pentru o spălare manuală după efectuarea rulării

Alegeți fie să vă pregătiți pentru o spălare manuală după efectuarea rulării conform descrierii de mai jos, fie să vă pregătiți pentru o spălare rapidă (secțiunea următoare). Dacă intenționați să efectuați o spălare manuală după efectuarea rulării, săriți peste secțiunea despre spălarea rapidă și continuați cu *Încărcarea unui Flow Cell utilizat și a cartușelor de spălare la pagina 38*.

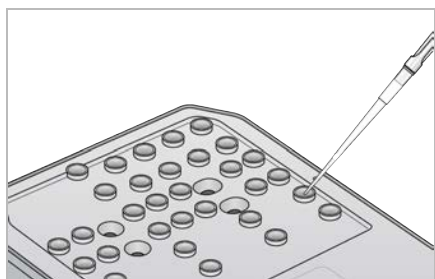
Consumabile furnizate de utilizator	Volum și descriere
NaOCl	1 ml, diluat la 0,12% Încărcată în cartușul de spălare pentru reactivi (poziția nr. 28)
100% Tween 20 Apă de laborator	Utilizată pentru a prepara 125 ml de soluție de spălare Tween 20 cu concentrația de 0,05% Încărcată în cartușul de spălare pentru soluție-tampon (rezervorul central)

**NOTĂ** Folosiți întotdeauna o diluare proaspătă de NaOCl preparată în ultimele **24 de ore**. Dacă preparați un volum mai mare de 1 ml, stocați diluarea rămasă la o temperatură între 2°C și 8°C, pentru utilizarea în următoarele 24 de ore. Altfel, eliminați diluarea rămasă de NaOCl.

- Combinați următoarele volume într-o eprubetă de microcentrifugă, pentru a rezulta 1 ml cu concentrația de NaOCl de 0,12%:
  - ▶ NaOCl cu concentrația 5% (24 μl)
  - ▶ Apă de laborator (976 μl)
- Răsturnați eprubeta pentru a amesteca.

- Adăugați 1 ml de NaOCl cu concentrația 0,12% în cartușul de spălare pentru reactivi. Rezervorul corect este echivalent cu poziția nr.28 pe cartușul preumplut.

Figura 26 Încărcarea NaOCl



- Combițați următoarele volume pentru a rezulta o soluție de spălare cu concentrația de Tween 20 de 0,05%:

Cartuș de spălare pentru soluția-tampon în stilul original

- ▶ 100% Tween 20 (62 µl)
- ▶ Apă de laborator (125 ml)
- ▶ Adăugați 125 ml de soluție de spălare în rezervorul central al cartușului de spălare pentru soluție-tampon.

Cartuș de spălare pentru soluția-tampon în stilul nou

- ▶ 100% Tween 20 (75 µl)
- ▶ Apă de laborator (150 ml)
- ▶ Adăugați 150 ml de soluție de spălare în rezervorul central al cartușului de spălare pentru soluție-tampon.

- Selecțați **Perform Wash** (Efectuare spălare) și apoi selecțați **Manual Post-Run Wash** (Spălare manuală după efectuarea rulării).

## Pregătirea pentru o spălare rapidă

Vă puteți pregăti pentru o spălare rapidă conform descrierii de mai jos, ca o alternativă la [Pregătirea pentru o spălare manuală după efectuarea rulării la pagina 36](#).

Consumabile furnizate de utilizator	Volum și descriere
100% Tween 20 Apă de laborator	Utilizată pentru a prepara 40 ml de soluție de spălare Tween 20 cu concentrația de 0,05% Încărcată în cartușul de spălare pentru soluție-tampon (rezervorul central)

- Combițați următoarele volume pentru a rezulta o soluție de spălare cu concentrația de Tween 20 de 0,05%:
  - ▶ 100% Tween 20 (20 µl)
  - ▶ Apă de laborator (40 ml)
- Adăugați 40 ml de soluție de spălare în rezervorul central al cartușului de spălare pentru soluție-tampon.
- Selecțați **Perform Wash** (Efectuare spălare) și apoi selecțați **Quick Wash** (Spălare rapidă).

## Încărcarea unui Flow Cell utilizat și a cartușelor de spălare

- 1 Dacă un Flow Cell utilizat nu este prezent, încărcați un Flow Cell utilizat. Selectați **Load** (Încărcare), apoi selectați **Next** (Înainte).
- 2 Scoateți containerul pentru reactivi utilizați și eliminați conținutul în conformitate cu standardele aplicabile.



### AVERTIZARE

Acest set de reactivi conține substanțe chimice potențial periculoase. Se pot produce vătămări corporale prin inhalare, ingerare, contact cu pielea și contact cu ochii. Purtați echipament de protecție, inclusiv protecție pentru ochi, mănuși și halat de laborator corespunzătoare riscului de expunere. Manipulați reactivii folosiți ca deșeuri chimice și eliminați-i în conformitate cu legile și reglementările regionale, naționale și locale aplicabile. Pentru informații suplimentare privind mediul, sănătatea și siguranța, consultați Fișele cu date de securitate la adresa [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 3 Glisați containerul pentru reactivi utilizați golit în compartimentul pentru soluție-tampon până când se oprește.
- 4 Scoateți cartușul cu soluție-tampon utilizat din rularea anterioară, dacă este prezent.
- 5 Încărcați cartușul de spălare pentru soluție-tampon care conține soluția de spălare.
- 6 Scoateți cartușul cu reactivi utilizat din rularea anterioară, dacă este prezent.
- 7 Încărcați cartușul de spălare pentru reactivi.
- 8 Selectați **Next** (Înainte). Verificarea anterioară spălării începe automat.

## Inițierea spălării

- 1 Selectați **Start**.
- 2 Când spălarea este finalizată, selectați **Home** (Ecran de pornire).

## După spălare

După spălare, dispozitivele de aspirație rămân în poziția în jos, pentru a preveni pătrunderea aerului în sistem. Lăsați cartușele în poziție până la următoarea rulare.

## Înlocuirea filtrului de aer

Sistemele noi sunt livrate cu trei filtre de aer de rezervă. Acestea trebuie să fie depozitate și utilizate atunci când se primește din partea instrumentului o solicitare de a schimba filtrul.

Filtrul de aer asigură fluxul de aer prin instrument. Software-ul afișează o notificare de înlocuire a filtrului de aer o dată la 90 de zile. Când vi se solicită acest lucru, selectați **Remind in 1 day** (Reamintire peste 1 zi) sau urmați procedura de mai jos și selectați **Filter Changed** (Filtru schimbat). Numărătoarea inversă de 90 de zile se resetează după selectarea **Filter Changed** (Filtru schimbat).

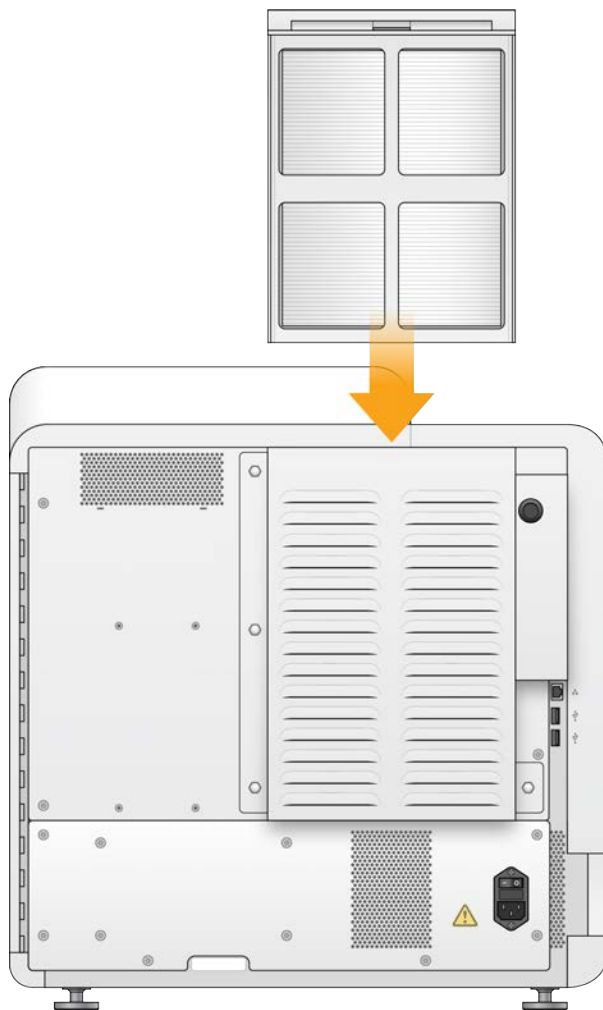
- 1 Scoateți noul filtru de aer din ambalaj și scrieți data la care îl instalați pe cadrul filtrului.
- 2 Pe partea din spate a instrumentului, apăsați pe partea de sus a tăvii pentru filtru pentru a elibera tava.
- 3 Apucați partea de sus a tăvii pentru filtru și trageți în sus pentru a ridica tava complet în afara instrumentului.

- 4 Scoateți și eliminați vechiul filtru de aer.
- 5 Introduceți noul filtru de aer în tavă.

**NOTĂ** Filtrul de aer nu funcționează corect dacă este pus invers. Asigurați-vă că introduceți filtrul de aer în tavă astfel încât să puteți vedea săgeata verde „Up” (În sus) și să nu puteți vedea eticheta de avertizare. Săgeata trebuie să arate către mânerul tăvii pentru filtru.

- 6 Glisați tava pentru filtru în instrument. Împingeți în jos partea de sus a tăvii pentru filtru până când se fixează cu un declic în poziție.

**Figura 27** Introducerea filtrului de aer




## Actualizări de software

Actualizările de software sunt ambalate într-un pachet software numit System Suite (Suita de sisteme), care include următorul software:

- ▶ Software de control NextSeq (NCS)
- ▶ Rețete NextSeq

- ▶ RTA2
- ▶ NextSeq Service Software (NSS)
- ▶ Sequencing Analysis Viewer (Vizualizator analiză de secvențiere) (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

Puteți instala actualizări de software automat utilizând o conexiune la internet sau manual dintr-o rețea sau un USB.

- ▶ **Actualizări automate** – pentru instrumentele conectate la o rețea cu acces la internet, apare o  pictogramă de alertă pe butonul Manage Instrument (Gestionare instrument) de pe ecranul de pornire când este disponibilă o actualizare.
- ▶ **Actualizări manuale** – descărcați programul de instalare System Suite (Suita de sisteme) din [pagina de asistență a instrumentului NextSeq 550Dx](#) de pe site-ul Illumina.

## Actualizări de software automate

- 1 Selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
- 2 Selectați **Software Update** (Actualizări de software).
- 3 Selectați **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Instalați actualizarea deja descărcată din BaseSpace).
- 4 Selectați **Update** (Actualizare) pentru a începe actualizarea. Se deschide o casetă de dialog pentru a confirma comanda.
- 5 Urmați instrucțiunile asistentului de instalare:
  - a Acceptați acordul de licență.
  - b Revizuiți notele privind această versiune.
  - c Revizuiți lista de software inclus în actualizare.

Când actualizarea este completă, software-ul de control repornește automat.

**NOTĂ** Dacă este inclusă o actualizare a firmware-ului, este necesară o repornire automată a sistemului după actualizarea firmware-ului.

## Actualizări de software manuale

- 1 Descărcați programul de instalare al System Suite (Suitei sistemelor) de pe site-ul Illumina și salvați-l într-o locație din rețea.  
Alternativ, copiați fișierul de instalare a software-ului pe o unitate USB portabilă.
- 2 Selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
- 3 Selectați **Software Update** (Actualizări de software).
- 4 Selectați **Manually install the update from the following location** (Instalarea manuală a actualizării de la următoarea locație).
- 5 Selectați **Browse** (Navigare) pentru a naviga la locația fișierului de instalare a software-ului, apoi selectați **Update** (Actualizare).

- 6 Urmați instrucțiunile asistentului de instalare:
  - a Acceptați acordul de licență.
  - b Revizuiți notele privind această versiune.
  - c Revizuiți lista de software inclus în actualizare.

Când actualizarea este completă, software-ul de control repornește automat.

**NOTĂ** Dacă este inclusă o actualizare a firmware-ului, este necesară o repornire automată a sistemului după actualizarea firmware-ului.

## Opțiuni privind repornirea și închiderea

Accesați următoarele caracteristici selectând butonul Reboot / Shutdown (Repornire/oprire):

- ▶ Reboot to RUO (Repornire în RUO) – instrumentul se deschide în modul Cercetare.
- ▶ Restart – instrumentul se deschide în modul Diagnosticare.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Restart la Dx din RUO) – instrumentul se deschide în modul Diagnosticare.
- ▶ Shutdown (Închidere) – când este repornită alimentarea electrică, instrumentul se deschide în modul Diagnosticare.
- ▶ Exit to Windows (Ieșire în Windows) – în funcție de permisiuni, puteți închide NCS și vizualiza Windows.

## Restart în modul de diagnosticare

Utilizați comanda Restart pentru a închide în siguranță instrumentul și pentru a reporni în modul de diagnosticare. Modul de diagnosticare este modul de pornire implicit.

- 1 Selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
- 2 Selectați **Reboot / Shutdown** (Repornire/oprire).
- 3 Selectați **Restart**.

## Închiderea instrumentului

- 1 Selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
- 2 Selectați **Reboot / Shutdown** (Repornire/oprire).
- 3 Selectați **Shutdown** (Închidere).

Comanda Shutdown (Închidere) oprește în siguranță software-ul și oprește alimentarea electrică a instrumentului. Așteptați cel puțin 60 de secunde înainte de a reporni instrumentul.

**NOTĂ** În mod implicit, instrumentul pornește în modul de diagnosticare atunci când este pornit de la buton.



### ATENȚIE

*Nu* mutați instrumentul. Deplasarea necorespunzătoare a instrumentului poate afecta alinierea optică și poate compromite integritatea datelor. Dacă trebuie să schimbați locul instrumentului, contactați reprezentantul Illumina.

## Leșirea în Windows

Comanda Exit to Windows (leșire în Windows) oferă acces la sistemul de operare al instrumentului și la orice folder de pe computerul instrumentului. Comanda oprește în siguranță software-ul și iese în Windows. Numai un utilizator Administrator poate ieși în Windows.

- 1 Selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
- 2 Selectați **Reboot / Shutdown** (Repornire/oprire).
- 3 Selectați **Exit to Windows** (leșire în Windows).

# Anexa A Depanare

Introducere .....	43
Fișierele de depanare .....	43
Soluționarea erorilor de verificare automată .....	44
Containerul pentru reactivi utilizați este plin .....	46
Fluxul de lucru al rehibridizării .....	47
BeadChip și erorile de scanare .....	48
Rețete particularizate și foldere pentru rețete .....	50
Mesaj de eroare RAID .....	50
Configurarea setărilor de sistem .....	51

## Introducere

Pentru probleme de calitate a rulărilor sau de performanță, contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina. Consultați *Asistență tehnică la pagina 69*.

## Fișierele de depanare

Un reprezentant al departamentului de Asistență tehnică Illumina poate solicita copii ale fișierelor specifice rulării sau ale fișierelor specifice scanării, pentru a soluționa problemele. De obicei, următoarele fișiere sunt folosite pentru depanare.

## Fișiere de depanare pentru rulările de secvențiere

Fișier cheie	Folder	Descriere
Fișierul cu informații despre rulare (RunInfo.xml)	Folderul rădăcină	Conține următoarele informații: <ul style="list-style-type: none"><li>• Denumirea rulării</li><li>• Numărul de cicluri din rulare</li><li>• Numărul de cicluri din fiecare citire</li><li>• Dacă citirea este o citire indexată</li><li>• Numărul de rânduri și dale de pe Flow Cell</li></ul>
Fișierul cu parametrii de rulare (RunParameters.xml)	Folderul rădăcină	Conține informații despre parametrii de rulare și componentele rulării. Informațiile includ RFID, numărul de serie, numărul de componentă și data expirării.
Fișierul de configurare RTA (RTAConfiguration.xml)	Folderul rădăcină	Conține setările de configurare RTA pentru rulare. Fișierul RTAConfiguration.xml este creat la începutul rulării.
Fișiere InterOp (*.bin)	InterOp	Fișiere de raportare binare. Fișierele InterOp sunt actualizate pe întreg parcursul rulării.
Fișiere jurnal	Logs (Jurnale)	Fișierele jurnal descriu fiecare etapă realizată de instrument pentru fiecare ciclu și listează versiunile de software și de firmware utilizate cu rularea. Fișierul denumit [InstrumentName]_CurrentHardware.csv listează numerele de serie ale componentelor instrumentului.
Fișiere jurnal de erori (*ErrorLog*.txt)	RTA logs (Jurnale RTA)	Jurnalul erorilor RTA. Fișierele jurnal de erori sunt actualizate de fiecare dată când survine o eroare.
Fișiere jurnal globale (*GlobalLog*.tsv)	RTA logs (Jurnale RTA)	Jurnalul tuturor evenimentelor RTA. Fișierele jurnal globale sunt actualizate pe întreg parcursul rulării.
Fișiere jurnal pentru culoar (*LaneLog*.txt)	RTA logs (Jurnale RTA)	Jurnalul evenimentelor RTA de procesare. Fișierele jurnal pentru culoar sunt actualizate pe întreg parcursul rulării.



## Erori RTA

Pentru a remedia erorile RTA, verificați mai întâi jurnalul de erori RTA, care este stocat în folderul RTALogs. Acest fișier nu este prezent pentru rulările cu succes. Includeți jurnalul de erori atunci când raportați problemele către departamentul de Asistență tehnică Illumina.

## Fișierele de depanare pentru scanările matricelor

Fișier cheie	Folder	Descriere
Fișierul scanării parametrilor (ScanParameters.xml)	Folderul rădăcină	Conține informații despre parametrii de scanare. Informațiile includ data scanării, codul de bare BeadChip, locația fișierului de grupări de celule și locația fișierului manifest.
Fișiere jurnal	Logs (Jurnale)	Fișierele jurnal descriu fiecare etapă efectuată pe instrument în timpul scanării.
Fișiere de metrice	[Cod de bare]	Metricii sunt furnizați ca valori ale eșantionului și ca valori ale secțiunii. <b>[Barcode]_sample_metrics.csv</b> – pentru fiecare eșantion și canal (roșu și verde), afișează Percent Off Image (Procentaj din imagine), Percent Outliers (Excepții procentuale), P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev, and Min Registration Score (Scor minim de înregistrare). <b>[Barcode]_section_metrics.csv</b> – pentru fiecare secțiune și dală, afișează Laser Z-position (Poziția Z a laserului), Through Focus Z-position (Poziția Z prin focus), Red FWHM (FWHM roșu), Green FWHM (FWHM verde), Red Avg Pixel Intensity (Intensitate medie a pixelilor roșii), Green Avg Pixel Intensity (Intensitate medie a pixelilor verzi), Red Registration Score (Scorul de înregistrare roșu) și Green Registration Score (Scorul de înregistrare verde).
Fișierul rescannerii	[Cod de bare]	<b>[Barcode]_rescan.flowcell</b> – afișează locațiile dalelor ajustate pentru o rescannerie, care includ o suprapunere crescută de la dală la dală.

## Soluționarea erorilor de verificare automată

Dacă se produc erori în timpul verificării automate, utilizați următoarele acțiuni recomandate pentru a soluționa erorile.

### Verificările pentru rulările de secvențiere

Dacă o verificare anterior rulării eșuează, RFID al cartușului cu reactivi nu este blocat și poate fi utilizat pentru o rulare ulterioară. Cu toate acestea, RFID-urile pentru Flow Cells, cartușele cu reactivi și cartușele cu soluție-tampon RFID vor fi blocate în timpul unei inițializări a software-ului de control, care poate fi necesară pentru a rezolva o eroare. Utilizatorul trebuie să îndepărteze Flow Cell, cartușul cu reactivi și cartușul cu soluție-tampon din instrument înainte de repornirea sistemului. În plus, RFID-urile pentru consumabile sunt blocate după ce foliile de sigilare au fost străpunse. Odată ce un RFID pentru Flow Cell este citit de software, începe un cronometru de 7 ore înainte ca acel Flow Cell să fie considerat blocat și inutilizabil.

Verificări de sistem	Acțiune recomandată
Doors Closed (Uși închise)	Asigurați-vă că ușile compartimentului sunt închise.
Consumables Loaded (Consumabile încărcate)	Senzorii pentru consumabile nu înregistrează semnale. Asigurați-vă că fiecare consumabil este încărcat corespunzător. În ecranele de configurare a rulării, selectați <b>Back</b> (Înapoi) pentru a reveni la etapa de încărcare și pentru a repeta configurarea rulării.

Verificări de sistem	Acțiune recomandată
Required Software (Software necesar)	Componente critice ale software-ului lipsesc. Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Instrument Disk Space (Spațiu disc pe instrument)	Unitatea de disc a instrumentului nu are suficient spațiu pe disc pentru a efectua o rulare. Este posibil ca datele dintr-o rulare anterioară să nu se fi transferat. Ștergeți datele de rulare de pe unitatea de disc a instrumentului.
Network Connection (Conexiune la rețea)	Conexiunea la rețea a fost întreruptă. Verificați starea rețelei și conexiunea fizică la rețea.
Network Disk Space (Spațiu disc în rețea)	Serverul de rețea este plin.
Temperatură	Acțiune recomandată
Temperature (Temperatură)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Temperature Sensors (Senzori de temperatură)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Fans (Ventilatoare)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Imaging System (Sistem imagistică)	Acțiune recomandată
Imaging Limits (Limite imagistică)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Z Steps-and-Settle	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Bit Error Rate (Eroare rată de biți)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Flow Cell Registration (Înregistrare Flow Cell)	Este posibil ca Flow Cell să nu fie așezat corespunzător. <ul style="list-style-type: none"> <li>În ecranele de configurare a rulării, selectați <b>Back</b> (Înapoi) pentru a reveni la etapa Flow Cell. Ușa compartimentului imagistic se deschide.</li> <li>Descărcați și încărcăți din nou Flow Cell pentru a vă asigura că este așezat corespunzător.</li> </ul>
Reagent Delivery (Livrare reactiv)	Acțiune recomandată
Valve Response (Reacție valvă)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Pump (Pompă)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Buffer Mechanism (Mecanism tampon)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Spent Reagents Empty (Golire reactivi utilizați)	Goliți containerul pentru reactivi utilizați și reîncărcați containerul gol.

## Verificări de scanări ale matricelor

Verificări de sistem	Acțiune recomandată
Doors Closed (Uși închise)	Asigurați-vă că ușile compartimentului sunt închise.
Consumables Loaded (Consumabile încărcate)	Senzorii pentru consumabile nu înregistrează semnale. Asigurați-vă că fiecare consumabil este încărcat corespunzător. În ecranele de configurare a rulării, selectați <b>Back</b> (Înapoi) pentru a reveni la etapa de încărcare și pentru a repeta configurarea rulării.
Required Software (Software necesar)	Componente critice ale software-ului lipsesc. Efectuați o actualizare manuală a software-ului pentru a restaura toate componentele software.
Verify Input Files (Verificarea fișierelor de intrare)	Calea către fișierul grupurilor de celule și fișierul manifest trebuie să fie corectă și fișierele trebuie să existe.
Instrument Disk Space (Spațiu disc pe instrument)	Unitatea de disc a instrumentului nu are suficient spațiu pe disc pentru a efectua o rulare. Este posibil ca datele dintr-o rulare anterioară să nu se fi transferat. Ștergeți datele de rulare de pe unitatea de disc a instrumentului.
Network Connection (Conexiune la rețea)	Conexiunea la rețea a fost întreruptă. Verificați starea rețelei și conexiunea fizică la rețea.
Network Disk Space (Spațiu disc în rețea)	Fie contul BaseSpace este plin, fie serverul de rețea este plin.

Imaging System (Sistem imagistică)	Acțiune recomandată
Imaging Limits (Limite imagistică)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Z Steps-and-Settle	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Bit Error Rate (Eroare rată de biți)	Contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina.
Auto-Center (Centrul auto)	Descărcați adaptorul BeadChip. Asigurați-vă că BeadChip este așezat în adaptor și apoi reîncărcați adaptorul.

## Containerul pentru reactivi utilizați este plin

Întotdeauna inițiați o rulare cu un container pentru reactivi utilizați gol.

Dacă inițiați o rulare fără să goliți containerul pentru reactivi utilizați, senzorii sistemului declanșează software-ul, făcându-l să întrerupă rularea atunci când containerul este plin. Senzorii sistemului nu pot întrerupe o rulare în timpul grupării (clustering), al resintetizării cu secvențiere la ambele capete sau al spălării automate după efectuarea rulării.

Atunci când rulare este întreruptă, se deschide o casetă de dialog cu opțiuni de ridicare a dispozitivelor de aspirație și de golire a containerului plin.

## Golirea containerului pentru reactivi utilizați

- 1 Selectați **Raise Sippers** (Ridicare dispozitive de aspirație).
- 2 Scoateți containerul pentru reactivi utilizați și eliminați conținutul corespunzător.
- 3 Puneți la loc containerul gol în compartimentul pentru soluție-tampon.
- 4 Selectați **Continue** (Continuare). Rulare se reia automat.

## Fluxul de lucru al rehibridizării

O rulare de rehibridizare ar putea fi necesară dacă metricii generați în primele câteva cicluri prezintă intensități sub 2500. Unele biblioteci cu diversitate scăzută pot prezenta intensități sub 1000, ceea ce este de așteptat și nu poate fi rezolvat prin rehibridizare.

**NOTĂ** Comanda End Run (Încheiați rularea) este definitivă. Rularea nu poate fi reluată, consumabilele pentru rulare nu pot fi reutilizate și datele de secvențiere din cadrul rulării nu sunt salvate.

Când terminați o rulare, software-ul efectuează următorii pași înainte de finalizarea rulării:

- ▶ Plasează Flow Cell într-o stare sigură.
- ▶ Deblochează RFID-ul Flow Cell pentru o rulare ulterioară.
- ▶ Alocă o dată de expirare rehibridizării Flow Cell.
- ▶ Scrie jurnalele de rulare pentru ciclurile finalizate. O întârziere este normală.
- ▶ Ocolește spălarea automată ulterioară rulării.

Când începeți o rulare de rehibridizare, software-ul efectuează următorii pași pentru a efectua rularea:

- ▶ Creează un folder de rulare bazat pe un nume al rulării unic.
- ▶ Verifică dacă data de rehibridizare a Flow Cell nu a expirat.
- ▶ Amorsează reactivi O întârziere este normală.
- ▶ Ignoră pasul de grupare a celulelor.
- ▶ Îndepărtează amorsa anterioară de la Read 1 (Citire 1).
- ▶ Hibridizează o amorsa proaspătă pentru Read 1 (Citire 1).
- ▶ Continuă prin Read 1 (Citire 1) și restul rulării pe baza parametrilor de rulare specificați.

## Punctele de încheiere a unei rulări de rehibridizare

Rehibridizarea ulterioară este posibilă numai dacă încheiați rularea în următoarele puncte:

- ▶ **După ciclul 5** – intensitățile apar după înregistrarea șablonului, ceea ce necesită primele 5 cicluri de secvențiere. Deși este sigură încheierea unei rulări după ciclul 1, se recomandă încheierea după ciclul 5. Nu încheiați o rulare în timpul generării grupurilor de celule.
- ▶ **Read 1 or Index 1 Read** (Citire 1 sau Citire Index 1) – încheiați rularea *înainte* de începerea resintezei cu secvențiere la ambele capete. Flow Cell nu poate fi salvată pentru o rehibridizare ulterioară după ce începe resinteza cu secvențiere la ambele capete.

## Necesarul de consumabile

O rulare de rehibridizare necesită un nou cartuș cu reactivi NextSeq 550Dx și un cartuș cu soluție-tampon, indiferent de momentul în care a fost oprită rularea.

## Încheierea rulării curente

- 1 Select **End Run** (Finalizați rularea). Când vi se solicită să confirmați comanda, selectați **Yes** (Da).
- 2 Când vi se solicită să salvați Flow Cell, selectați **Yes** (Da). Rețineți data de expirare pentru rehibridizare.

- 3 Îndepărtați Flow Cell salvată și depozitați-o la temperaturi cuprinse între 2°C și 8°C până când sunteți gata să configurați rularea de rehibridizare.

**NOTĂ** Puteți păstra Flow Cell până la 7 zile la temperaturi cuprinse între 2°C și 8°C, în carcasa de plastic, **fără** ambalajul de desicant. Pentru rezultate optime, rehibridizați Flow Cell salvată în maximum 3 zile.

## Efectuarea unei spălări manuale

- 1 Din ecranul de întâmpinare, selectați **Perform Wash** (Efectuați spălarea).
- 2 Din ecranul Wash Selection (Selecția spălării), selectați **Manual Post-Run Wash** (Spălare manuală după efectuarea rulării). Consultați *Efectuarea unei spălări manuale la pagina 35*.

**NOTĂ** Dacă nu ați scos cartușul cu reactivi și cartușul cu soluție-tampon de la rularea oprită, le puteți utiliza pentru spălarea manuală. În caz contrar, efectuați spălarea manuală cu cartușul de spălare pentru reactivi și cartușul de spălare pentru soluția-tampon.

## Configurați o nouă rulare în fila BaseSpace Prep

- 1 Dacă instrumentul este configurat pentru BaseSpace sau BaseSpace Onsite, configurați o nouă rulare în fila Prep, utilizând aceiași parametri ca la rularea inițială.

**SFAT** Faceți clic pe fila Pools (Seturi cumulate), selectați ID-ul setului corespunzător pentru a păstra setările anterioare de rulare, apoi atribuiți un nume unic pentru noua rulare.

## Configurarea unei rulări pe instrument

- 1 Pregătiți un nou cartuș cu reactivi.
- 2 Dacă Flow Cell salvată a fost stocată, permiteți-i să atingă temperatura camerei (15-30 de minute).
- 3 Curățați și încărcați Flow Cell salvată.
- 4 Scoateți containerul pentru reactivi utilizați și eliminați conținutul corespunzător, apoi reîncărcați containerul gol.
- 5 Încărcați cartușul nou cu soluție-tampon și cartușul nou cu reactivi.
- 6 Din ecranul Run Setup (Configurarea rulării), selectați una dintre următoarele opțiuni:
  - ▶ **BaseSpace sau BaseSpace Onsite** – selectați rularea și confirmați parametrii de rulare.
  - ▶ **Standalone** (Autonom) – introduceți numele rulării și specificați aceiași parametri ca și la rularea inițială.
- 7 Selectați **Next** (Înainte) pentru a continua cu verificarea anterioară rulării și pentru a iniția rularea.

## BeadChip și erorile de scanare

### Software-ul nu poate citi codul de bare BeadChip

Când apare caseta de dialog cu codul de bare, selectați una dintre următoarele opțiuni:

- ▶ Selectați **Rescan** (Rescanare). Software-ul încearcă să citească din nou codul de bare.

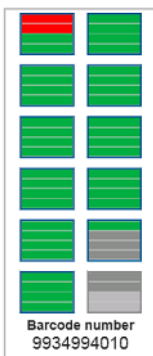
- ▶ Selectați câmpul de text și introduceți codul de bare numeric așa cum se arată în imagine. În funcție de BeadChip, numerele codurilor de bare pot avea până la 12 cifre. Selectați **Save** (Salvare). Imaginea codului de bare este stocată în folderul de ieșire.
- ▶ Selectați **Cancel** (Anulare). Ușa compartimentului imagistic se deschide pentru a descărca adaptorul BeadChip.

## Eșecul scanării BeadChip

Imaginile sunt înregistrate după ce sunt scanate. Înregistrarea identifică bead-urile corelând locațiile de pe imaginea scanată cu informațiile furnizate în harta bead-urilor sau în folderul DMAP.

Secțiunile care nu reușesc să fie înregistrate sunt indicate în roșu pe imaginea BeadChip.

Figura 28 BeadChip cu secțiuni eșuate



După ce scanarea este completă și datele de scanare sunt scrise în folderul de ieșire, butonul Rescan (Rescanare) devine activ.

Când este selectat Rescan (Rescanare), software-ul efectuează următorii pași:

- ▶ Rescanează eșantioanele care conțin secțiuni eșuate folosind o suprapunere crescută între dale.
- ▶ Generează fișiere de ieșire în folderul de ieșire original.
- ▶ Suprascrie fișierele de ieșire anterioare pentru secțiuni eșuate.
- ▶ Crește numărătoarea scanării cu 1 pentru fiecare rescaneare, dar face acest lucru în fundal. Software-ul nu redenumeste folderul de ieșire.

## Rescanarea sau începerea unei noi scanări

- 1 Selectați **Rescan** (Rescanare) pentru a scana eșantioane care conțin secțiuni eșuate.
- 2 Dacă scanarea continuă să eșueze, încheiați scanarea.
- 3 Scoateți BeadChip-ul și adaptorul și inspectați BeadChip de praf sau scame. Utilizați aer din butelie sau altă metodă de eliminare a prafului sub compresie pentru a curăța resturile.
- 4 Reîncărcați BeadChip și începeți o nouă scanare.

Când se inițiază o nouă scanare, software-ul efectuează următorii pași:

- ▶ Scanează întregul BeadChip.
- ▶ Generează fișiere de ieșire într-un folder de ieșire nou.
- ▶ Crește numărătoarea scanării cu 1 pe baza numărului de scanări de la ultima rescaneare.

## Înlocuirea fișierelor manifest sau a fișierelor grupărilor de celule

- 1 Accesați pagina de asistență Illumina ([support.illumina.com](http://support.illumina.com)) pentru acel BeadChip pe care îl utilizați, apoi faceți clic pe fila **Descărcări**.
- 2 Descărcați fișierele care vor fi înlocuite sau actualizate și copiați fișierele în locația preferată din rețea.

**NOTĂ** Asigurați-vă că selectați fișiere manifest și de grupuri de celule care sunt compatibile cu sistemul de instrumente NextSeq 550Dx. Fișierele compatibile includ **NS550** în numele fișierului.

- 3 Numai dacă locația s-a schimbat, actualizați locația pe ecranul BeadChip Scan Configuration (Configurarea scanării BeadChip), după cum urmează:
  - a Din ecranul NCS Home (Ecran de întâmpinare NCS), selectați **Manage Instrument** (Gestionare instrument).
  - b Selectați **System Configuration** (Configurarea sistemului).
  - c Selectați **BeadChip Scan Configuration** (Configurarea scanării BeadChip).
- 4 Selectați **Browse** (Navigare) și navigați la locația fișierelor înlocuite sau actualizate.

## Rețete particularizate și foldere pentru rețete

Nu modificați rețetele originale. Faceți întotdeauna o copie a rețetei originale cu un nume nou. Dacă o rețetă originală este modificată, actualizatorul de software nu mai poate recunoaște rețeta pentru actualizări ulterioare și versiunile mai noi nu sunt instalate.

Stocați rețetele particularizate în dosarul de rețete corespunzător. Folderele pentru rețete sunt organizate după cum urmează.

- 📁 **Particularizate**
  - 📁 **Mari** – rețete particularizate cu un kit cu debit mare.
  - 📁 **Medii** – rețete particularizate cu un kit cu debit mediu.
- 📁 **Mari** – rețete originale cu un kit cu debit mare.
- 📁 **Medii** – rețete originale cu un kit cu debit mediu.
- 📁 **Spălare** – conține rețeta de spălare manuală.

## Mesaj de eroare RAID

Computerul NextSeq 550Dx este dotat cu patru unități de disc, două pentru modul de diagnosticare și două pentru modul de cercetare. Dacă o unitate de disc începe să aibă probleme, sistemul generează un mesaj de eroare RAID și vă sugerează să contactați departamentul de Asistență tehnică Illumina. De obicei este necesară înlocuirea unității de disc.

Puteți continua cu etapele de configurare a rulării și cu operarea normală. Scopul mesajului este să programați acest serviciu dinainte, pentru a evita întreruperile în operarea normală a instrumentului. Avertizarea RAID poate fi constatată doar de către un administrator. Utilizarea instrumentului dvs. cu o singură unitate de disc poate duce la pierderea datelor.

## Configurarea setărilor de sistem

Sistemul este configurat în timpul instalării. Cu toate acestea, dacă este necesară o modificare sau dacă sistemul trebuie reconfigurat, utilizați opțiunile de configurare a sistemului. Numai un cont de administrator Windows are permisiunea de a accesa opțiunile de configurare a sistemului.

- ▶ **Network Configuration** (Configurarea rețelei) – oferă opțiuni pentru setările adresei IP, pentru adresa serverului de nume de domeniu (DNS), pentru numele computerului și numele de domeniu.

## Setarea configurării rețelei

- 1 Din ecranul Manage Instrument (Gestionare instrument), selectați **System Configuration** (Configurare sistem).
- 2 Selectați **Obtain an IP address automatically** (Obținere automată adresă IP) pentru a obține adresa IP utilizând serverul DHCP.

**NOTĂ** Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) este un protocol de rețea standard utilizat în rețele IP pentru distribuirea dinamică a parametrilor de configurare a rețelei.

Alternativ, selectați **Use the following IP address** (Se utilizează următoarea adresă IP) pentru a conecta manual instrumentul la un alt server, după cum urmează. Contactați-l pe administratorul dvs. de rețea pentru adresele specifice unității dvs.

- ▶ Introduceți adresa IP. Adresa IP este o serie de 4 numere separate printr-un punct, similară 168.62.20.37, de exemplu.
  - ▶ Introduceți masca de subrețea, care este o subdiviziune a rețelei IP.
  - ▶ Introduceți gateway-ul implicit, care este ruterul din rețeaua care vă conectează la internet.
- 3 Selectați **Obtain a DNS server address automatically** (Obținere automată adresă server DNS) pentru a conecta instrumentul la serverul de nume de domeniu asociat cu adresa IP.  
Alternativ, selectați **Use the following DNS server address** (Se utilizează următoarea adresă server DNS) pentru a conecta manual instrumentul la serverul de nume de domeniu, după cum urmează.
    - ▶ Introduceți adresa DNS preferată. Adresa DNS este numele de server folosit pentru a translata nume de domeniu în adrese IP.
    - ▶ Introduceți adresa DNS alternativă. Adresa alternativă este utilizată dacă adresa DNS preferată nu poate translata un anumit nume de domeniu într-o adresă IP.
  - 4 Selectați **Save** (Salvare) pentru a avansa la ecranul Computer.

**NOTĂ** Numele computerului instrumentului este atribuit computerului instrumentului în timpul fabricării acestuia. Orice modificări ale numelui computerului pot afecta conectivitatea și necesită un administrator de rețea.

- 5 Conectați computerul instrumentului la un domeniu sau la un grup de lucru după cum urmează.
  - ▶ **Pentru instrumentele conectate la internet** – selectați **Member of Domain** (Membru domeniu), apoi introduceți numele domeniului asociat cu conexiunea la internet din unitatea dvs. Schimbările de domeniu necesită un nume de utilizator administrator și o parolă aferentă.
  - ▶ **Pentru instrumentele neconectate la internet** – selectați **Member of Work Group** (Membru grup de lucru), apoi introduceți numele unui grup de lucru. Numele grupului de lucru este unic pentru unitatea dvs.



6 Selectați **Save** (Salvare).

## Setarea configurării analizei

- 1 Din ecranul Manage Instrument (Gestionare instrument), selectați **System Configuration** (Configurare sistem).
- 2 Selectați **Analysis Configuration** (Configurarea analizei).
- 3 Selectați dintre următoarele opțiuni pentru a specifica o locație în care trebuie transferate datele pentru analize ulterioare.
  - ▶ Selectați **BaseSpace** pentru a trimite date de secvențiere la Illumina BaseSpace. **[Opțional]** Bifați caseta de selectare **Output Folder** (Folder de ieșire), selectați **Browse** (Navigare) și navigați la o locație din rețeaua secundară pentru a salva fișiere BCL în plus față de BaseSpace.
  - ▶ Selectați **BaseSpace Onsite**. În câmpul Server Name (Numele serverului), introduceți calea completă către serverul dvs. BaseSpace Onsite. **[Opțional]** Bifați caseta de selectare **Output Folder** (Folder de ieșire), selectați **Browse** (Navigare) și navigați la o locație din rețeaua secundară pentru a salva fișiere BCL în plus față de serverul BaseSpace Onsite.
  - ▶ Selectați **Standalone instrument** (Instrument autonom) pentru a salva datele numai într-o locație din rețea. Selectați **Browse** (Navigare) și navigați la locația preferată din rețea. Software-ul de control generează automat numele folderului de ieșire.
    - ▶ **[Opțional]** Selectați **Use Run Monitoring** (Utilizați monitorizarea rulării) pentru a monitoriza rularea folosind instrumente de vizualizare pe BaseSpace. Este necesară o conectare la BaseSpace și o conexiune la internet.
- 4 Dacă ați selectat BaseSpace sau BaseSpace Onsite, configurați parametrii BaseSpace după cum urmează.
  - ▶ Introduceți un **User Name** (Nume de utilizator) și o **Password** (Parolă) BaseSpace pentru a înregistra instrumentul în BaseSpace.
  - ▶ Selectați **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Utilizare autentificare implicită și ocolire ecran de conectare BaseSpace) pentru a configura numele de utilizator și parola înregistrate ca autentificare implicită. Această configurație face abstracție de ecranul BaseSpace în timpul configurării rulării.
- 5 Selectați **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Trimitere date de performanță instrument către Illumina) (Trimitere informații despre starea de funcționare a instrumentului către Illumina) pentru a activa serviciul de monitorizare Illumina Proactive. Denumirea setării din interfața software poate diferi de denumirea din acest ghid, în funcție de versiunea de NCS în uz.

Cu această setare activată, datele de performanță a instrumentului sunt trimise către Illumina. Aceste date ajută Illumina să remedieze problemele mai ușor și să detecteze potențialele defecte, permițând o întreținere proactivă și maximizând timpul de funcționare al instrumentului. Pentru mai multe informații cu privire la beneficiile acestui serviciu, consultați *Nota tehnică Illumina Proactive (nr. document 1000000052503)*.

Acest serviciu:
  - ▶ Nu trimite date de secvențiere
  - ▶ Necesită ca instrumentul să fie conectat la o rețea cu acces la internet
  - ▶ Este dezactivat în mod implicit. Pentru a opta pentru acest serviciu, activați setarea **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Trimitere date de performanță instrument către Illumina).
- 6 Selectați **Save** (Salvare).

## Configurarea scanării BeadChip

- 1 Din ecranul Manage Instrument (Gestionare instrument), selectați **System Configuration** (Configurare sistem).
- 2 Selectați **BeadChip Scan Configuration** (Configurarea scanării BeadChip).
- 3 Pentru a specifica o locație implicită a folderului DMAP, selectați **Browse** (Navigare) și navigați la locația folderului preferat din rețeaua dvs. de unități.

**NOTĂ** Înainte de fiecare scanare, descărcați și copiați conținutul DMAP în această locație. Conținutul DMAP este necesar pentru fiecare BeadChip și este unic pentru fiecare cod de bare BeadChip.

- 4 Pentru a specifica o locație implicită de ieșire, selectați **Browse** (Navigare) și navigați la locația preferată din rețeaua dvs. de unități.
- 5 Selectați un format de fișier imagine pentru imaginile salvate. Tipul de imagine implicit este **JPG**.
- 6 Selectați un format de fișier de ieșire pentru datele de scanare. Tipul de fișier de ieșire implicit este **numai GTC**.
- 7 Selectați **Save** (Salvare).
- 8 Din ecranul Scan Map (Scanare hartă), specificați calea completă către fișierul manifest și fișierul de grupări de celule pentru fiecare tip BeadChip. Selectați **Browse** (Navigare) pentru fiecare tip de fișier și navigați la locația folderului care conține aceste fișiere.
- 9 **[Opțional]** Selectați **Hide Obsolete BeadChips** (Ascundeți BeadChips perimate) pentru a elimina BeadChips perimate din vizualizare.
- 10 Selectați **Save** (Salvare).



# Anexa B Analiză în timp real

Prezentare generală a analizei în timp real .....	55
Fluxul de lucru de analiză în timp real .....	56

## Prezentare generală a analizei în timp real

Instrumentul NextSeq 550Dx utilizează o implementare a software-ului Analiză în timp real (Real-Time Analysis – RTA) denumită RTA2. RTA2 rulează pe computerul instrumentului și extrage intensități din imagini, efectuează definirea bazelor și atribuie un scor de calitate definirii bazelor. RTA2 și software-ul de operare comunică printr-o interfață web HTTP și prin fișiere de memorie partajate. Dacă RTA2 este oprit, procesarea nu se reia și datele de rulare nu sunt salvate.

## Intrări RTA2

RTA2 necesită următoarele intrări în scopul procesării:

- ▶ Imaginile dalelor conținute în memoria locală a sistemului.
- ▶ **RunInfo.xml**, care este generat automat la începutul rulării și furnizează denumirea rulării, numărul de cicluri, dacă o citire este indexată și numărul de dale de pe Flow Cell.
- ▶ **RTA.exe.config**, care este un fișier de configurare a software-ului în format XML.

RTA2 primește comenzi de la software-ul de operare în legătură cu locația **RunInfo.xml** și cu faptul dacă este specificat un folder de ieșire opțional.

## Fișierele de ieșire RTA2

Imaginile pentru fiecare canal sunt **trecute** în memorie ca dale. Dalele sunt zone de imagistică mici de pe Flow Cell, definite drept câmpul de vizionare de către cameră. Din aceste imagini, software-ul produce ieșiri sub forma unui set de fișiere de definire a bazelor și de fișiere de filtrare a căror calitate este evaluată prin scoruri. Toate celelalte fișiere sunt fișiere de ieșire de suport.

Tip fișier	Descriere
Fișiere de definire a bazelor	Fiecare dală care este analizată este inclusă într-un fișier de definire de baze agregat (*.bcl.bgzf) pentru fiecare culoar și pentru fiecare ciclu. Fișierul de definire de baze agregat conține definirea bazelor și scorul de calitate asociat pentru fiecare grup de celule din respectivul culoar.
Fișiere de filtrare	Fiecare dală produce informații de filtrare care sunt agregate într-un fișier de filtrare (*.filter) pentru fiecare culoar. Fișierul de filtrare specifică dacă un grup de celule trece de filtre.
Fișiere cu locația grupurilor de celule	Fișierele cu locația grupurilor de celule (*.locs) conțin coordonatele X,Y pentru fiecare grup de celule dintr-o dală. Un fișier cu locația grupurilor de celule este generat pentru fiecare culoar în timpul generării de șabloane.
Fișiere cu indexuri pentru definirea bazelor	Un fișier cu indexuri pentru definirea bazelor (*.bci) este produs pentru fiecare culoar, pentru a păstra informațiile despre dala inițială. Fișierul cu indexuri conține o pereche de valori pentru fiecare dală, care reprezintă numărul dalei și numărul de grupuri de celule pentru dala respectivă.

RTA2 furnizează metrice în timp real pentru calitatea rulării, stocate ca fișiere InterOp. Fișierele InterOp constituie o ieșire binară care conține metrice la nivel de dală, ciclu și citire.

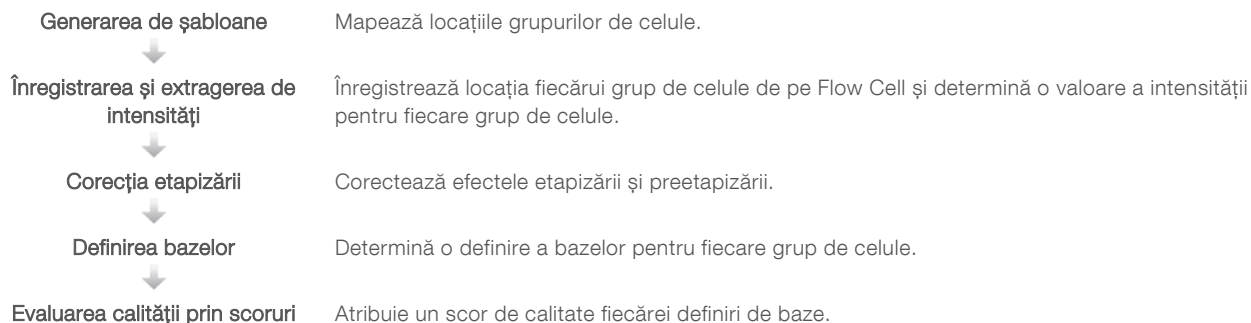
## Tratarea erorilor

RTA2 creează fișiere jurnal și le scrie în folderul RTALogs. Erorile sunt înregistrate într-un fișier de erori în formatul \*.tsv.

Următoarele fișiere jurnal și de erori sunt transferate către destinația de ieșire finală la încheierea procesării:

- ▶ \*GlobalLog\*.tsv rezumă evenimentele de rulare importante.
- ▶ \*LaneNLog\*.tsv listează evenimentele de procesare pentru fiecare culoar.
- ▶ \*Error\*.tsv listează erorile care au survenit în timpul unei rulări.
- ▶ \*WarningLog\*.tsv listează avertizările care au survenit în timpul unei rulări.

## Fluxul de lucru de analiză în timp real



### Generarea de șabloane

Prima etapă din fluxul de lucru RTA este generarea de șabloane, care definește poziția fiecărui grup de celule într-o dală folosind coordonatele X și Y.

Generarea de șabloane necesită date imagistice din primele 5 cicluri ale rulării. După ce este reprezentat imagistic ultimul ciclu de șablon pentru o dală, este generat șablonul.

**NOTĂ** Pentru a detecta un grup de celule în timpul generării de șabloane, trebuie să existe cel puțin 1 bază diferită de G în primele 5 cicluri. Pentru orice secvențe de indexuri, RTA2 necesită cel puțin 1 bază diferită de G în primele 2 cicluri.

Șablonul este folosit ca referință pentru etapa următoare, înregistrarea și extragerea de intensități. Pozițiile grupurilor de celule pentru întregul Flow Cell sunt scrise în fișierele cu locația grupurilor de celule (\*.locs), câte 1 fișier pentru fiecare culoar.

### Înregistrarea și extragerea de intensități

Înregistrarea și extragerea de intensități încep după generarea de șabloane.

- ▶ Înregistrarea aliniaza imagini produse în fiecare ciclu ulterior de imagistică pe baza șablonului.
- ▶ Extragerea de intensități determină o valoare a intensității pentru fiecare grup de celule din șablon pentru o imagine dată.

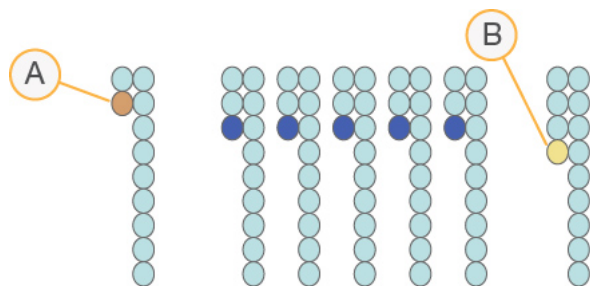
Dacă înregistrarea eșuează pentru orice imagini dintr-un ciclu, nicio definiție a bazelor nu este generată pentru respectiva dală din acel ciclu.

### Corecția etapizării

În timpul reacției de secvențiere, fiecare catenă de ADN dintr-un grup de celule se extinde cu 1 bază per ciclu. Etapizarea și preetapizarea au loc atunci când o catenă se defazează față de ciclul de încorporare curent.

- ▶ Etapizarea are loc atunci când o bază rămâne în urmă.
- ▶ Preetapizarea are loc atunci când o bază face un salt înainte.

**Figura 29** Etapizarea și preetapizarea



- A Citire cu o bază în curs de etapizare
- B Citire cu o bază în curs de preetapizare

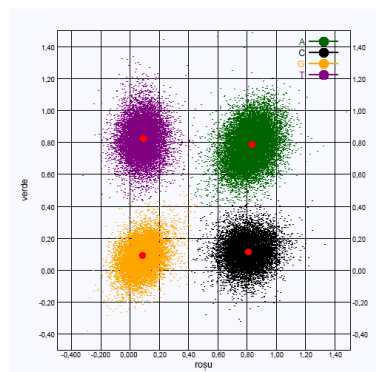
RTA2 corectează efectele etapizării și preetapizării, ceea ce maximizează calitatea datelor la fiecare ciclu de pe întreg parcursul rulării.

## Definirea bazelor

Definirea bazelor determină o bază (A, C, G sau T) pentru fiecare grup de celule al unei dale date, la un ciclu specific. Instrumentul NextSeq 550Dx folosește secvențierea bicanal, care necesită doar două imagini pentru a codifica datele pentru patru baze ADN, una din canalul roșu și una din canalul verde.

Intensitățile extrase dintr-o imagine comparată cu o altă imagine determină 4 populații distincte, fiecare corespunzând unei nucleotide. Procesul de definire a bazelor determină cărei populații îi aparține fiecare grup de celule.

**Figura 30** Vizualizarea intensităților grupurilor de celule



**Tabelul 1** Definiri de baze în secvențierea bicanal

Bază	Canalul roșu	Canalul verde	Rezultat
A	1 (activat)	1 (activat)	Grupurile de celule care prezintă intensitate atât pe canalul roșu, cât și pe canalul verde.
C	1 (activat)	0 (dezactivat)	Grupurile de celule care prezintă intensitate doar pe canalul roșu.
G	0 (dezactivat)	0 (dezactivat)	Grupurile de celule care nu prezintă nicio intensitate într-o poziție cunoscută a grupurilor de celule.
T	0 (dezactivat)	1 (activat)	Grupurile de celule care prezintă intensitate doar pe canalul verde.

## Grupurile de celule care trec de filtru

În timpul rulării, RTA2 filtrează datele brute, pentru a elimina citirile care nu ating pragul de calitate a datelor. Grupurile de celule care se suprapun și cele de slabă calitate sunt eliminate.

Pentru analiza bicanal, RTA2 utilizează un sistem bazat pe populații pentru a determina puritatea unei definiții de baze. Grupurile de celule trec de filtru (PF) atunci când nu mai mult de 1 definiție de baze din primele 25 de cicluri are o puritate < 0,63. Grupurile de celule care nu trec de filtru nu sunt definite de baze.

## Considerații cu privire la indexare

Procesul pentru citirile de indexuri diferă de definirea bazelor în timpul altor citiri.

Citirile de indexuri trebuie să înceapă cu cel puțin o bază alta decât G în fiecare dintre primele două cicluri. Dacă o citire de indexuri începe cu două definiții ale bazelor pentru G, nu este generată nicio intensitate a semnalului. Semnalul trebuie să fie prezent în oricare dintre primele două cicluri pentru a asigura efectuarea demultiplexării.

Pentru a crește robustețea demultiplexării, selectați secvențele de index care furnizează semnal în cel puțin un canal, preferabil în ambele canale, pentru fiecare ciclu. Urmând această instrucțiune, evitați combinații de indexuri care determină doar baze G în orice ciclu.

- ▶ Canalul roșu – A sau C
- ▶ Canalul verde – A sau T

Acest proces de definire a bazelor asigură precizie la analizarea probelor low-plex.

## Evaluarea calității prin scoruri

Un scor de calitate, sau scor Q, este o predicție a probabilității unei definiții incorecte a bazelor.

Un scor Q mai mare înseamnă că o definiție a bazelor este de o calitate mai bună și că este mai probabil să fie corectă.

Scorul Q este un mod compact de a comunica probabilitățile mici de erori. Scorurile de calitate sunt reprezentate ca Q(X), unde X este scorul. Următorul tabel prezintă relația dintre scorul de calitate și probabilitatea erorilor.

Scorul Q Q(X)	Probabilitatea erorilor
Q40	0,0001 (1 din 10.000)
Q30	0,001 (1 din 1.000)
<b>Q20</b>	0,01 (1 din 100)
Q10	0,1 (1 din 10)

**NOTĂ** Evaluarea calității prin scoruri se bazează pe o versiune modificată a algoritmului Phred.

Evaluarea calității prin scoruri calculează un set de factori de predicție pentru fiecare definiție a bazelor, apoi utilizează valorile factorilor de predicție pentru a căuta scorul Q într-un tabel de calitate. Tabelele de calitate sunt create pentru a furniza predicții de calitate de o acuratețe optimă pentru rulările generate de o configurație specifică a platformei de secvențiere și a versiunii de chimie.

După ce se determină scorul Q, rezultatele sunt înregistrate în fișierele de definiție a bazelor (\*.bcl.bgzf).

# Anexa C Fișierele și folderurile de ieșire

Fișierele de ieșire pentru secvențiere .....	59
Structura folderului de ieșire .....	62
Scanarea fișierelor de ieșire .....	63
Structura folderului de ieșire pentru scanare .....	63

## Fișierele de ieșire pentru secvențiere

Tip fișier	Descriere, locație și nume fișier
Fișiere de definire a bazelor	Fiecare dală analizată este inclusă într-un fișier de definire a bazelor, agregate într-un fișier pentru fiecare culoar, pentru fiecare ciclu. Fișierul agregat conține definirea bazelor și scorul de calitate codificat pentru fiecare grup de celule din respectivul culoar. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – fișierele sunt stocate într-un folder pentru fiecare culoar. [Cycle].bcl.bgzf, unde [Cycle] reprezintă numărul de ciclu în 4 cifre. Fișierele de definire a bazelor sunt comprimate cu ajutorul compresiei gzip în bloc.
Fișierul cu indexuri pentru definirea bazelor	Pentru fiecare culoar, un fișier binar cu indexuri listează informațiile despre dala inițială într-o pereche de valori pentru fiecare dală, care reprezintă numărul dalei și numărul de grupuri de celule pentru dala respectivă. Fișierele cu indexuri pentru definirea bazelor sunt create prima oară când un fișier de definire a bazelor este creat pentru respectivul culoar. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – fișierele sunt stocate într-un folder pentru fiecare culoar. s_[Lane].bci
Fișiere cu locația grupurilor de celule	Pentru fiecare dală, coordonatele X,Y pentru fiecare grup de celule sunt agregate într-un fișier cu locația grupurilor de celule pentru fiecare culoar. Fișierele cu locația grupurilor de celule sunt rezultatul generării de șabloane. Data\Intensities\L00[X] – fișierele sunt stocate într-un folder pentru fiecare culoar. s_[lane].locs
Fișiere de filtrare	Fișierul de filtrare specifică dacă un grup de celule trece de filtre. Informațiile de filtrare sunt agregate într-un fișier de filtrare pentru fiecare culoar și citire. Fișierele de filtrare sunt generate la ciclul 26, utilizând 25 de cicluri de date. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – fișierele sunt stocate într-un folder pentru fiecare culoar. s_[lane].filter
Fișiere InterOp	Fișiere de raportare binare. Fișierele InterOp sunt actualizate pe întreg parcursul rulării. Folderul InterOp
Fișierul de configurare RTA	Creat la începutul rulării, fișierul de configurare RTA listează setările pentru rulare. [Root folder], RTAConfiguration.xml
Fișierul cu informații despre rulare	Listează denumirea rulării, numărul de cicluri din fiecare citire, dacă citirea este o citire indexată și numărul de rânduri și dale de pe Flow Cell. Fișierul cu informații despre rulare este creat la începutul rulării. [Root folder], RunInfo.xml

## Dalele Flow Cell

Dalele sunt zone imagistici mici de pe Flow Cell, definite drept câmpul de vizionare al camerei. Numărul total de dale depinde de numărul de culoare, rânduri și suprafețe care sunt reprezentate imagistic pe Flow Cell, precum și de modul în care camerele conlucrează pentru a colecta imaginile. Flow Cell-urile cu debit mare au un total de 864 de dale.



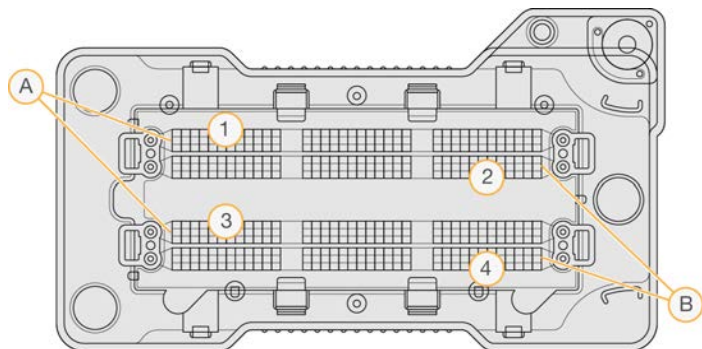
Tabelul 2 Dalele Flow Cell

Componentă Flow Cell	Debit mare	Descriere
Culoare	4	Un culoar este un canal fizic cu porturi dedicate de intrare și ieșire.
Suprafețe	2	Flow Cell este reprezentat imagistic pe 2 suprafețe, superioară și inferioară. Suprafața superioară a dalei 1 este reprezentată imagistic, apoi suprafața inferioară a aceleiași dale este reprezentată imagistic înainte de a se trece la următoarea dală.
Rânduri per culoar	3	Un rând este o coloană de dale pe un culoar.
Segmente de cameră	3	Instrumentul utilizează 6 camere pentru a reprezenta imagistic Flow Cell în 3 segmente pentru fiecare culoar.
Dale per rând per segment de cameră	12	O dală este zona de pe Flow Cell pe care camera o vede ca 1 imagine.
Total dale reprezentate imagistic	864	Numărul total de dale este egal cu culoarele × suprafețele × rândurile × segmentele de cameră × dalele per rând per segment.

## Numerotarea culoarelor

Culoarele 1 și 3, denumite perechea de culoare A, sunt reprezentate imagistic în același timp. Culoarele 2 și 4, denumite perechea de culoare B, sunt reprezentate imagistic atunci când reprezentarea imagistică a perechii de culoare A este finalizată.

Figura 31 Numerotarea culoarelor

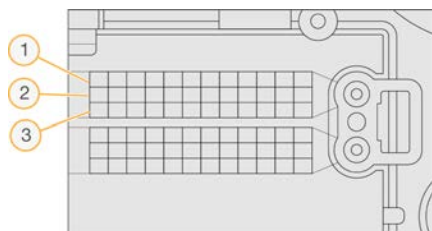


- A Perechea de culoare A – Culoarele 1 și 3
- B Perechea de culoare B – Culoarele 2 și 4

## Numerotarea rândurilor

Fiecare culoar este reprezentat imagistic în 3 rânduri. Rândurile sunt numerotate de la 1 la 3 pentru Flow Cell-urile cu debit mare.

Figura 32 Numerotarea rândurilor

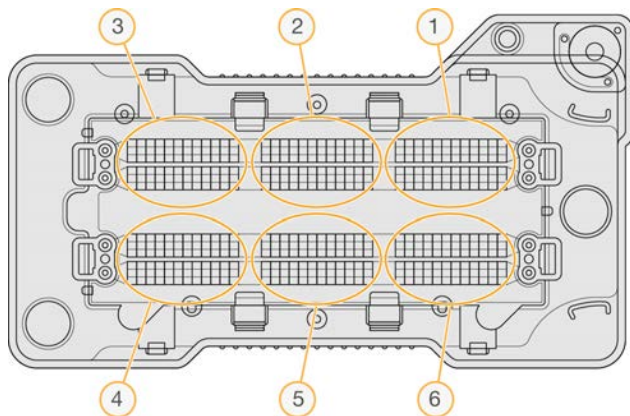


## Numerotarea camerelor

Instrumentul NextSeq 550Dx utilizează 6 camere pentru a reprezenta imagistic Flow Cell.

Camerele sunt numerotate de la 1 la 6. Camerele 1-3 obțin imagini pentru culoarul 1. Camerele 4-6 obțin imagini pentru culoarul 3. După ce culoarele 1 și 3 sunt reprezentate imagistic, modulul imagistic se deplasează pe axa X pentru a reprezenta imagistic culoarele 2 și 4.

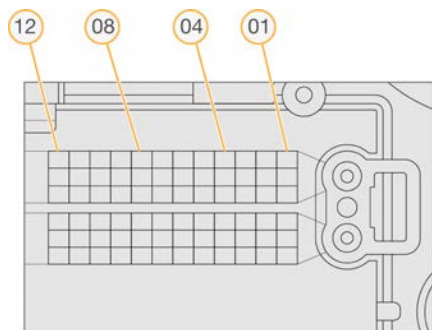
**Figura 33** Numerotarea camerelor și a segmentelor (Flow Cell cu debit mare afișat)



## Numerotarea dalelor

Există 12 dale în fiecare rând al fiecărui segment de cameră. Dalele sunt numerotate de la 01 la 12, indiferent de numărul șirului sau de segmentul de cameră și sunt reprezentate cu 2 cifre.

**Figura 34** Numerotarea dalelor



Numărul complet de dale include 5 cifre pentru a reprezenta locația, după cum urmează:

- ▶ **Suprafață** – 1 reprezintă suprafața superioară; 2 reprezintă suprafața inferioară
- ▶ **Rând** – 1, 2 sau 3
- ▶ **Cameră** – 1, 2, 3, 4, 5 sau 6
- ▶ **Dală** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 sau 12

**Exemplu:** numărul de dală 12508 indică suprafața superioară, rândul 2, camera 5 și dala 8.

Numărul de dală complet din 5 cifre este folosit în numele de fișier al imaginilor miniatură și al fișierelor de etapizare empirică. Pentru mai multe informații, consultați [Fișierele de ieșire pentru secvențiere la pagina 59](#).

## Structura folderului de ieșire

Software-ul de operare generează automat numele folderului de ieșire.

### 📁 Data

#### 📁 Intensities

##### 📁 BaseCalls

📁 L001 – fișiere de definire de baze pentru culoarul 1, agregate într-un fișier per ciclu.

📁 L002 – fișiere de definire de baze pentru culoarul 2, agregate într-un fișier per ciclu.

📁 L003 – fișiere de definire de baze pentru culoarul 3, agregate într-un fișier per ciclu.

📁 L004 – fișiere de definire de baze pentru culoarul 4, agregate într-un fișier per ciclu.

📁 L001 – un fișier agregat \*.locs pentru culoarul 1.

📁 L002 – un fișier agregat \*.locs pentru culoarul 2.

📁 L003 – un fișier agregat \*.locs pentru culoarul 3.

📁 L004 – un fișier agregat \*.locs pentru culoarul 4.

### 📁 Images

#### 📁 Focus

📁 L001 – imagini Focus pentru culoarul 1.

📁 L002 – imagini Focus pentru culoarul 2.

📁 L003 – imagini Focus pentru culoarul 3.

📁 L004 – imagini Focus pentru culoarul 4.

📁 InterOp – fișiere binare.

📁 Logs – fișiere jurnal care descriu etapele operaționale.

📁 Recipe – fișier cu rețeta specifică rulării, denumit cu ID-ul cartușului cu reactivi.

📁 RTALogs – fișiere jurnal care descriu etapele analizei.

📄 RTAComplete.txt

📄 RTAConfiguration.xml

📄 RunInfo.xml

📄 RunParameters.xml

## Scanarea fișierelor de ieșire

Tip fișier	Descriere, locație și nume fișier
Fișiere GTC	Fișier de definire a genotipului. Un fișier GTC este generat pentru fiecare eșantion scanat pe BeadChip. Numele fișierului include codul de bare și eșantionul scanat. <b>[cod de bare]_[eșantion].gtc</b>
Fișiere imagine	Fișierele de imagine sunt numite în funcție de zona scanată pe BeadChip. Numele include codul de bare, eșantionul și secțiunea de pe BeadChip, rând și canalul imagistic (roșu sau verde). <b>[cod de bare]_[eșantion]_[secțiune]_[rând]_[camera]_[dală]_[canal].jpg</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Codul de bare</b> – numele fișierului începe cu codul de bare BeadChip.</li> <li>• <b>Eșantion</b> – o zonă a BeadChip, care este numerotată ca rând (ROX), de sus în jos, și coloană (COX), de la stânga la dreapta.</li> <li>• <b>Secțiune</b> – un rând numerotat într-un eșantion.</li> <li>• <b>Rând</b> – BeadChip-urile sunt ilustrate ca o colecție de dale suprapuse. Prin urmare, pentru imagistica secțiunii se folosește doar 1 rând.</li> <li>• <b>Camera</b> – camera utilizată pentru a colecta imaginea.</li> <li>• <b>Dală</b> – o zonă imagistică definită drept câmpul vizual al camerei.</li> <li>• <b>Canal</b> – un canal este fie roșu, fie verde.</li> </ul>

## Structura folderului de ieșire pentru scanare

📁 [Dată]\_[Nume instrument]\_[Nr. scanare]\_[Cod de bare]

📁 [Cod de bare]

📁 Config

📄 Effective.cfg – înregistrează setările de configurare utilizate în timpul scanării.

📁 Focus – conține fișiere de imagine utilizate pentru focalizarea scanării.

📁 Jurnale – conține fișiere de jurnal care afișează fiecare pas efectuat în timpul scanării.

📁 PreScanDiagnosticFiles

📁 Scanarea codului de bare [Dată\_Oră]

📄 ProcessedBarcode.jpg – imaginea codului de bare BeadChip.

📄 Diagnosticarea scanării (fișiere jurnal)

📄 PreScanChecks.csv – înregistrează rezultatele verificării automate.

📄 fișiere GTC – fișiere de definire a genotipului (1 fișier pe eșantion).

📄 fișiere IDAT – [opțional] fișiere de date de intensitate (2 fișiere pe eșantion; 1 pe câte un canal).

📄 fișiere imagine – imagini ale scanării pentru fiecare eșantion, secțiune, rând, cameră, dală și canal.

📄 [Cod de bare]\_sample\_metrics.csv

📄 [Cod de bare]\_section\_metrics.csv

📄 ScanParameters.xml



# Index

## A

- actualizarea software-ului 39
- adaptor
  - încărcare BeadChip 31
  - orientare BeadChip 29
  - prezentare generală 5
- ajutor
  - documentație 2
- ajutor, tehnic 69
- alerte de stare 4
- algoritmul Phred 58
- analiză
  - fișiere de ieșire 59
- analiză, primară
  - semnalare puritate 58
- asistență clienți 69
- asistență tehnică 69
- audio 12

## B

- bara de stare 3
- BaseSpace 52
  - autentificare 18
- BeadChip
  - adaptor 5, 29
  - analiză 1
  - eșecul înregistrării 49
  - încărcare 31
  - nu se poate citi codul de bare 48
  - orientare cod de bare 29
  - tipuri 1
- butonul de pornire 5, 11

## C

- cartuș cu reactivi
  - prezentare generală 8
- cartuș cu soluție-tampon 9
- cartușul cu reactivi
  - rezervorul nr. 28 36
  - rezervorul nr. 6 22
- cartușul cu soluție-tampon 21
- cicluri într-o citire 15
- client decodare fișier 27
- Client decodarea fișierului
  - acces prin BeadChip 29
  - acces prin cont 28

- compartimentul imagistic 3
- compartimentul pentru reactivi 3
- compartimentul pentru soluție-tampon 3
- compatibilitate
  - flow cell, cartuș cu reactivi 6
  - urmărire RFID 6, 8
- componente
  - bara de stare 3
  - compartimentul imagistic 3
  - compartimentul pentru reactivi 3
  - compartimentul pentru soluție-tampon 3
- configurare BaseSpace 23
- configurarea rulării, opțiune avansată 13
- configurație 52
- configurație autonomă 23
- considerații cu privire la indexare 58
- consumabile 6
  - apă destinată utilizării în laborator 14
  - cartuș cu reactivi 8
  - cartuș cu soluție-tampon 9
  - cicluri de secvențiere 13
  - consumabile de spălare 35-36
  - flow cell 7
  - întreținerea instrumentului 14
- consumabile furnizate de utilizator 13-14

## D

- definirea bazelor 57
  - considerații cu privire la indexare 58
- depanare
  - containerul pentru reactivi utilizați 46
  - eșecul înregistrării scanării 49
  - fișiere specifice rulării 43
  - fișiere specifice scanării 44
  - înlocuirea fișierelor manifest și de grupări de celule 50
  - metrice calitate redusă 47
  - nu se poate citi codul de bare BeadChip 48
  - verificare anterior rulării 44
- documentație 2, 69
- durata rulării 15-16

## E

- erori la verificarea anterior rulării 44
- erori și avertizări 4, 55
- etapizare empirică 56
- etapizare, preetapizare 56

## F

- filtru de aer 4, 38
- filtru de puritate 58
- fișiere de definiție a bazelor 59
- fișiere de filtrare 59
- fișiere de ieșire 59
- fișiere de ieșire ale scanării
  - GTC, IDAT 63
- fișiere de ieșire, scanare
  - GTC, IDAT 63
- fișiere de ieșire, secvențiere 59
- fișiere de intrare, scanare
  - fișiere cu grupuri de celule 27
  - fișiere de grupări de celule 50
  - fișiere manifest 27, 50
  - folder DMAP 27
  - folder DMAP, descărcare 28
- fișiere GTC 63
- fișiere InterOp 43, 59
- fișiere locs 59
- flow cell
  - ambalare 17
  - curățare 17
  - dale 59
  - imagistică 61
  - număr rând 60
  - numerotarea culoarelor 60
  - numerotarea dalelor 61
  - perechi de culoare 7
  - piciorușe de aliniere 18
  - prezentare generală 7
  - rehibridizare 47
- flux de lucru
  - autentificare BaseSpace 18
  - BeadChip 31
  - cartușul cu reactivi 21
  - cartușul cu soluție-tampon 21
  - considerații cu privire la indexare 58
  - durata rulării 15-16
  - flow cell 18
  - hipoclorit de sodiu 36
  - metrici de rulare 25
  - mod autonom 23
  - mod BaseSpace 23
  - opțiune de încărcare avansată 13
  - pregătire flow cell 17
  - prezentare generală 16, 28
  - reactivi utilizați 19
  - secvențiere 56
  - verificare anterior rulării 24, 31

- flux de lucru de secvențiere 16
- fluxul de lucru de secvențiere 56
- folder DMAP
  - client decodare a fișierului 27
  - descărcare 28
- formamidă, poziția 6 22

## G

- generarea de șabloane 56
- generarea grupurilor de celule 15, 25
- gestionare instrument
  - oprire 42
- gestionarea instrumentului
  - închidere 41
- grupurile de celule care trec de filtru 58

## H

- hipoclorit de sodiu, spălare 36

## I

- imagistică, secvențiere bicanal 57
- instruire online 2
- instrument
  - avatar 12
  - butonul de pornire 5
  - indicatori de mod 12
  - închidere 41
  - pornire 11
  - pseudonim 12
  - repornire 41
  - restart 41
  - setări de configurare 51
- intensități 57

## Î

- închiderea instrumentului 41
- îndrumări cu privire la apa destinată utilizării 14
- întrerupătorul de alimentare electrică 11
- întreținere preventivă 35
- întreținere, preventivă 35
- întreținerea instrumentului
  - consumabile 14

## L

- locația folderului 23

- locația grupurilor de celule
  - fișiere 59
  - generarea de șabloane 56
- lungime de citire 15-16

## M

- Mesaj de eroare RAID 50
- metrici
  - cicluri pentru densitatea grupurilor de celule 25
  - cicluri pentru intensități 25
  - definirea bazelor 57
- metrici de rulare 25
- modul RUO 12

## N

- nume de utilizator și parolă 11
- nume de utilizator și parolă sistem 11
- numerotarea camerelor 61
- numerotarea culoarelor 60
- numerotarea dalelor 61
- numerotarea rândurilor 60

## O

- opțiune încărcare avansată 13

## P

- parametri de rulare
  - editare parametri 23
  - mod autonom 23
  - mod BaseSpace 23
- perechi de culoare 60
- pictograme
  - erori și avertizări 4
  - stare 4
- probabilitatea erorilor 58
- purjarea consumabilelor 13

## R

- reactivi
  - eliminarea corespunzătoare 21
  - la set 6
- reactivi utilizați
  - container plin 46
  - eliminare 19, 38

- rehibridizare amorsă 47
- rehibridizare, citire 1 47
- repornire
  - instrument 41
- repornire în modul de cercetare 12
- restart 41
- RunInfo.xml 43, 59

## S

- scoruri Q 58
- secvențiere
  - consumabile furnizate de utilizator 13
  - introducere 15
- serviciu de copiere universal 25
- serviciu de monitorizare Illumina Proactive 52
- setări de configurare 51
- setări de sistem 12
- software
  - actualizare automată 40
  - actualizare manuală 40
  - analiza imaginilor, definirea bazelor 4
  - durata rulării 15-16
  - inițializare 11
  - pe instrument 4
  - setări de configurare 51
- software-ul de analiză în timp real 4
  - etapizare 56
  - flux de lucru 56
  - rezultate 59
- software BlueFuse Multi 1
- software de control 4
- spălare
  - automată 26
  - consumabile furnizate de utilizator 35
  - spălare manuală 35
  - spălarea componentelor 35
- spălare după efectuarea rulării 26
- spălarea instrumentului 35

## T

- tastatură 12
- transfer de date
  - datele scanării 33
  - serviciu de copiere universal 25
- trec de filtru (PF) 58



## U

urmărire RFID 6

## V

verificare anterior rulării 24, 31

## W

Windows  
ieșire 42

# Asistență tehnică

Pentru asistență tehnică, contactați departamentul Asistență tehnică al Illumina.

**Site web:** [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
**E-mail:** [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Numere de telefon pentru Asistență clienți Illumina

Regiune	Număr de telefon gratuit	Regional
America de Nord	+1.800.809.4566	
Australia	+1.800.775.688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Belgia	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Coreea de Sud	+82 80 234 5300	
Danemarca	+45 80820183	+45 89871156
Elveția	+41 565800000	+41 800200442
Finlanda	+358 800918363	+358 974790110
Franța	+33 805102193	+33 170770446
Germania	+49 8001014940	+49 8938035677
Hong Kong, China	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Japonia	0800.111.5011	
Norvegia	+47 800 16836	+47 21939693
Noua Zeelandă	0800.451.650	
Regatul Unit	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapore	+1.800.579.2745	
Spania	+34 911899417	+34 800300143
Suedia	+46 850619671	+46 200883979
Taiwan, China	00806651752	
Țările de Jos	+31 8000222493	+31 207132960
Alte țări	+44.1799.534000	

Fișe cu date de securitate (SDS) – disponibile pe site-ul web Illumina la adresa [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Documentația produselor – disponibilă pentru descărcare de pe [support.illumina.com](http://support.illumina.com).





Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 S.U.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (în afara Americii de Nord)

[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

[www.illumina.com](http://www.illumina.com)

**A se utiliza exclusiv în scop de cercetare.  
A nu se utiliza în cadrul procedurilor de diagnosticare.**

© 2021 Illumina, Inc. Toate drepturile rezervate.

**illumina®**