

# NextSeq 550Dx istraživački režim

Referentni vodič za instrument



Ovaj dokument i njegov sadržaj su u vlasništvu kompanije Illumina, Inc. i njenih podružnica („Illumina”) i namenjeni su isključivo za ugovorno korišćenje njenih kupaca u vezi sa korišćenjem proizvoda koji su ovde opisani i ni za šta drugo. Ovaj dokument i njegov sadržaj ne smeju se koristiti niti distribuirati ni za koju drugu svrhu niti se smeju prenositi, otkrivati ili reprodukovati ni na koji način bez prethodnog pisanog pristanka kompanije Illumina. Illumina ne prenosi nikakvu licencu pod patentom, robnom markom, autorskim pravom ili javnim pravom niti sličnim pravima bilo kog trećeg lica prema ovom dokumentu.

Stručna i adekvatno obučena lica moraju strogo i izričito da poštuju uputstva u ovom dokumentu kako bi se obezbedila ispravna i bezbedna upotreba ovde opisanih proizvoda. Pre upotrebe tih proizvoda obavezno je u potpunosti pročitati i razumeti celokupnu sadržinu ovog dokumenta.

UKOLIKO NE PROČITATE I NE PRATITE OVO UPUTSTVO U CELOSTI, TO MOŽE DA DOVEDE DO OŠTEĆENJA PROIZVODA, POVREDA LICA, KAO ŠTO SU KORISNICI ILI DRUGA LICA, I OŠTEĆENJA DRUGE IMOVINE I TIME ĆE SE PONIŠTITI SVAKA GARANCIJA KOJA SE ODNOSI NA PROIZVOD.

KOMPANIJA ILLUMINA NE PREUZIMA NIKAKVU ODGOVORNOST USLED NEADEKVATNE UPOTREBE OVDE OPISANIH PROIZVODA (UKLJUČUJUĆI I NJIHOVE DELOVE ILI SOFTVER).

© 2021. Illumina, Inc. Sva prava zadržana.

Svi žigovi su vlasništvo kompanije Illumina, Inc. ili odgovarajućih vlasnika. Konkretno informacije o žigovima potražite na adresi [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Istorija revizija

Dokument	Datum	Opis promene
Br. dokumenta 1000000041922 v03	Oktobar 2021.	Dodata je napomena o 7-dnevnom tajmeru u Proverama za cikluse sekvenciranja Ažuriran je tok rada sekvenciranja dodavanjem odeljka za kreiranje ciklusa obrade pomoću softvera Local Run Manager (Lokalni menadžer za pokretanje). Promenjena je granica stabilnosti Dodat Infinium Methylation EPIC tipovima BeachChip-a Ažurirane su slike ikona tako da odražavaju promene korisničkog interfejsa.
Br. dokumenta 1000000041922 v02	Novembar 2020.	Ažurirana je slika u poglavlju Obavljanje ručnog ispiranja za prikaz novih kertridža za ispiranje reagensa i ispiranje pufera. Ažurirane informacije statusne trake sa dodatnim bojama.
Br. dokumenta 1000000041922 v01	Mart 2018.	Dodate su informacije o usluzi Illumina Proactive usluzi praćenja u poglavlju Konfigurisanje podešavanja sistema.
Br. dokumenta 1000000041922 v00	Novembar 2017.	Početno izdanje.

# Sadržaj

Poglavlje 1 Pregled .....	1
O ovom vodiču .....	1
Uvod .....	1
Dodatni resursi .....	2
Komponente instrumenta .....	3
Pregled kompleta reagenasa .....	6
Pregled potrošnog materijala za sekvenciranje .....	6
Poglavlje 2 Početak rada .....	11
Uključivanje instrumenta .....	11
Prilagođavanje podešavanja sistema .....	12
Potrošni materijal i oprema koje obezbeđuje korisnik .....	13
Poglavlje 3 Sekvenciranje .....	15
Uvod .....	15
Tok rada sekvenciranja .....	16
Priprema kertridža reagensa .....	16
Priprema protočne ćelije .....	17
Priprema biblioteka za sekvenciranje .....	17
Podešavanje ciklusa sekvenciranja .....	18
Praćenje napretka obrade .....	24
Automatsko ispiranje nakon obrade .....	26
Poglavlje 4 Skeniranje .....	27
Uvod .....	27
Tok rada skeniranja .....	28
Preuzmite DMAP fasciklu .....	28
Postavite BeadChip na adapter .....	29
Podešavanje skeniranja .....	30
Praćenje napretka skeniranja .....	32
Poglavlje 5 Održavanje .....	35
Uvod .....	35
Obavljanje ručnog ispiranja .....	35
Zamena filtera za vazduh .....	38
Softverska ažuriranja .....	39
Opcije ponovnog pokretanja i isključivanja .....	41
Dodatak A Otklanjanje problema .....	43
Uvod .....	43
Otklanjanje problema sa datotekama .....	43
Otklanjanje grešaka automatske provere .....	44
Kontejner za potrošene reagense je pun .....	46

Tok rada ponovne hibridizacije .....	46
BeadChip i greške u skeniranju .....	48
Prilagođeni recepti i fascikle sa receptima .....	49
Poruka o RAID grešci .....	50
Konfigurisanje podešavanja sistema .....	50
Dodatak B Softver Real-Time Analysis .....	53
Pregled softvera Real-Time Analysis .....	53
Tok rada softvera Real-Time Analysis .....	54
Dodatak C Izlazne datoteke i fascikle .....	59
Izlazne datoteke pri sekvenciranju .....	59
Struktura izlazne fascikle .....	62
Izlazne datoteke skeniranja .....	63
Struktura izlazne fascikle skeniranja .....	63
Indeks .....	65
Tehnička pomoć .....	69

# Poglavlje 1 Pregled

O ovom vodiču .....	1
Uvod .....	1
Dodatni resursi .....	2
Komponente instrumenta .....	3
Pregled kompleta reagenasa .....	6
Pregled potrošnog materijala za sekvenciranje .....	6

## O ovom vodiču

Ovaj referentni vodič za instrumente sadrži uputstva za upotrebu instrumenta NextSeq 550Dx u istraživačkom (RUO) režimu.

## Uvod

### Funkcije sekvenciranja

- ▶ **Sekvenciranje velike propusnosti** – Instrument NextSeq™ 550Dx omogućava sekvenciranje DNK biblioteka.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** – Obavlja obradu slika i određivanje očitanih baza. Više informacija pogledajte u odeljku *Softver Real-Time Analysis na strani 53*.
- ▶ **Mogućnost analize podataka na instrumentu** – Moduli za analizu softvera Local Run Manager navedeni za obradu mogu da analiziraju podatke dobijene obradom.
- ▶ **Pokretanje sistema u dva režima** – Instrument NextSeq 550Dx sadrži posebne hard diskove koji podržavaju dijagnostički (Dx) i istraživački (RUO) režim.

### Funkcije skeniranja niza

- ▶ **Integrisano skeniranje niza u kontrolnom softveru** – Instrument NextSeq 550Dx vam omogućava da prelazite između skeniranja niza i sekvenciranja visoke propusnosti na istom instrumentu korišćenjem istog kontrolnog softvera.
- ▶ **Proširene mogućnosti snimanja** – Sistem za snimanje instrumenta NextSeq 550Dx uključuje softverske i modifikacije postolja koje omogućavaju snimanje veće površine radi prilagođavanja BeadChip skeniranja.
- ▶ **BeadChip tipovi** – Kompatibilni BeadChip tipovi uključuju CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC i Karyomap-12.
- ▶ **BeadChip adapter** – Višekratni BeadChip adapter omogućava lako postavljanje BeadChip-a na instrument.
- ▶ **Analiza podataka** – Koristite BlueFuse® Multi softver za analizu podataka niza.

## Dodatni resursi

Sledeća dokumentacija je dostupna za preuzimanje sa veb-sajta kompanije Illumina.

Resurs	Opis
<i>Vodič za pripremu mesta za instrument NextSeq 550Dx (br. dokumenta 100000009869)</i>	Sadrži specifikacije laboratorijskog prostora, potrebne specifikacije električne mreže i mere zaštite okruženja.
<i>Vodič za bezbednost i usklađenost za instrument NextSeq 550Dx (br. dokumenta 100000009868)</i>	Pružuje informacije o radnim bezbednosnim napomenama, izjavama usaglašenosti i označavanju instrumenta.
<i>Vodič za usaglašenost RFID čitača (br. dokumenta 1000000030332)</i>	Pružuje informacije o RFID čitaču u instrumentu, sertifikatima usaglašenosti i bezbednosnim napomenama.
<i>Referentni vodič za istraživački režim instrumenta NextSeq 550Dx (br. dokumenta 1000000041922)</i>	Pružuje informacije o radu instrumenta i postupcima otklanjanja problema. Služi pri radu instrumenta NextSeq 550Dx u istraživačkom režimu sa kontrolnim softverom NextSeq Control Software (NCS) v3.0.
<i>Vodič za sistem NextSeq 550 (br. dokumenta 15069765)</i>	Pružuje informacije o radu instrumenta i postupcima otklanjanja problema. Služi pri radu instrumenta NextSeq 550Dx u istraživačkom režimu sa kontrolnim softverom NextSeq Control Software (NCS) v4.0 ili novijom verzijom.
<i>NextSeq 550 sistemski vodič</i>	Pružuje pregled komponenti instrumenta, uputstva za rad na instrumentu i postupke za održavanje i rešavanje problema.
<i>Pomoć za BaseSpace</i>	Pružuje informacije o korišćenju čvorišta BaseSpace™ Sequence Hub i dostupnim opcijama analiza.

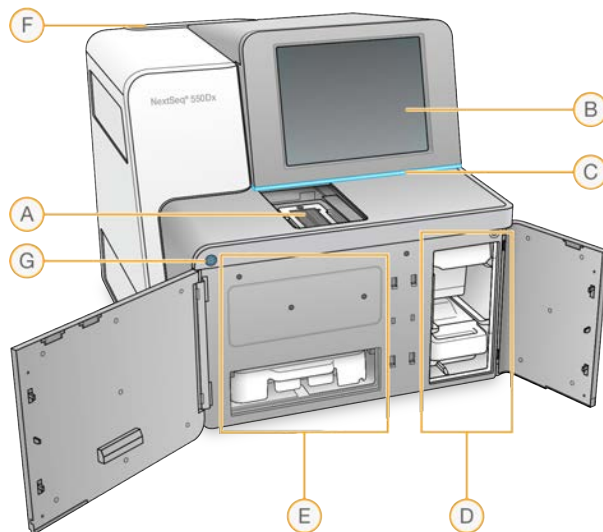
Posetite [stranicu za podršku za instrument NextSeq 550Dx](#) na veb-sajtu kompanije Illumina da biste pristupili dokumentaciji, preuzimanju softvera, onlajn obuci i često postavljanim pitanjima.

Posetite [stranice za podršku za NextSeq 550Dx](#) na veb-sajtu kompanije Illumina da biste pristupili dokumentaciji, preuzimanju softvera, onlajn obuci i često postavljanim pitanjima.

## Komponente instrumenta

Instrument NextSeq 550Dx se sastoji od monitora sa ekranom osetljivim na dodir, statusne trake i 4 odeljka.

Slika 1 Komponente instrumenta



- A **Odeljak za snimanje** – U njemu se nalazi protočna ćelija tokom obrade sekvenciranjem.
- B **Monitor sa ekranom osetljivim na dodir** – Omogućava konfigurisanje i podešavanje na instrumentu pomoću interfejsa operativnog softvera.
- C **Statusna traka** – Označava status instrumenta, na primer, obrada u toku (plava), zahteva pažnju (narandžasta), spremno za sekvenciranje (zelena), pokreće se (smeštanje plave i bele), nije još pokrenuto (bela) ili je neophodno ispiranje u sledeća 24 sata (žuta).
- D **Odeljak za pufer** – U njemu se nalazi kertridž za pufer i kontejner za potrošene reagense.
- E **Odeljak za reagense** – U njemu se nalazi kertridž reagensa.
- F **Odeljak filtera za vazduh** – U njemu se nalazi filter za vazduh. Filteru može da se pristupi sa zadnje strane instrumenta.
- G **Dugme za napajanje** – Uključuje i isključuje instrument i računar instrumenta.

### Odeljak za snimanje

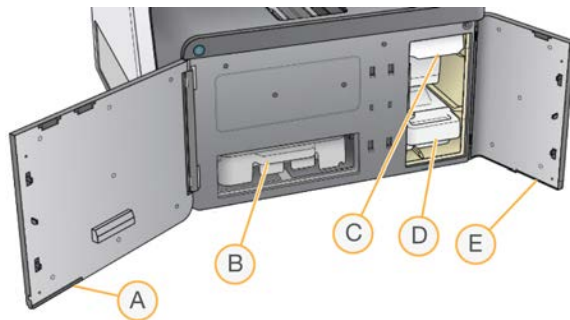
U odeljku za snimanje se nalazi postolja sa tri čiode za poravnavanje kojima se namešta protočna ćelija. Nakon postavljanja protočne ćelije, vratanca odeljka za snimanje automatski se zatvaraju, a komponente se smeštaju na svoje mesto.

### Odeljci za reagense i pufer

Za podešavanje obrade sekvenciranjem na instrumentu NextSeq 550Dx potreban je pristup odeljcima za reagense i pufer kako bi se umetnuo potrošni materijal i ispraznio kontejner za potrošene reagense.



Slika 2 Odeljci za reagense i pufer



- A **Vrata odeljka za reagense** – Zatvaraju odeljak za reagense rezom smeštenom u donjem desnom delu vrata. U odeljku za reagense nalazi se kertridž reagensa.
- B **Kertridž reagensa** – Kertridž reagensa je unapred napunjen potrošni materijal za jednokratnu upotrebu.
- C **Kertridž pufera** – Kertridž pufera je unapred napunjen potrošni materijal za jednokratnu upotrebu.
- D **Kontejner za potrošene reagense** – Nakon svake obrade prikupljaju se potrošeni reagensi radi bacanja u otpad.
- E **Vrata odeljka za pufer** – Zatvara odeljak za pufer rezom smeštenom u donjem levom uglu vrata.

## Odeljak filtera za vazduh

U odeljku filtera za vazduh koji se nalazi na poledini instrumenta nalazi se filter za vazduh. Zamenite filter za vazduh svakih 90 dana. Informacije o zameni filtera pogledajte u odeljku [Zamena filtera za vazduh na strani 38](#).



## Softver NextSeq 550Dx




Softver instrumenta uključuje integrisane aplikacije koje obavljaju sekvenciranje.

- ▶ **NextSeq Control Software (NCS)** – Kontrolni softver vas vodi kroz korake za podešavanje sekvenciranja.
- ▶ **Softver Real-Time Analysis (RTA)** – RTA analizira slike i određuje očitane baze tokom obrade. Instrument NextSeq 550Dx koristi RTA v2, koji uključuje značajne razlike u arhitekturi i karakteristikama u odnosu na ranije verzije. Više informacija pogledajte u odeljku [Softver Real-Time Analysis na strani 53](#).

## Ikone statusa

Ikona statusa u gornjem desnom uglu NCS-a označava svaku promenu u uslovima tokom podešavanja obrade ili same obrade.

Ikona statusa	Naziv statusa	Opis
	Status OK	Sistem radi normalno.
	Obrada	Sistem obavlja obradu.

Ikona statusa	Naziv statusa	Opis
	Upozorenje	Pojavilo se upozorenje. Upozorenja ne prekidaju obradu niti zahtevaju bilo kakvu radnju pre nastavka.
	Greška	Došlo je do greške. Greške zahtevaju da se pre nastavka obrade obavi neka radnja.
	Potreban je servis	Pojavilo se obaveštenje koje zahteva pažnju. Dodatne informacije potražite u poruci.

Kad se promene uslovi, ta ikona trepće kako bi vas upozorila. Izaberite ikonu da bi vam se prikazao opis stanja. Izaberite **Acknowledge** (Prihvati) da biste prihvatili poruku i **Close** (Zatvori) da biste zatvorili dijalog.

## NAPOMENA

Potvrdom da je poruka viđena, ikona se resetuje i poruka postaje nedostupna (siva). Poruka je i dalje vidljiva korisniku ako odabere ikonu, ali nestaje nakon ponovnog pokretanja NCS-a.

## Dugme za uključivanje/isključivanje

Dugme za uključivanje/isključivanje na prednjoj strani instrumenta NextSeq 550Dx uključuje napajanje instrumenta i računara instrumenta. Dugme za uključivanje/isključivanje izvodi sledeće radnje, u zavisnosti od stanja napajanja instrumenta. Podrazumevano, NextSeq 550Dx se pokreće u dijagnostičkom režimu rada.

Da biste saznali više o početnom napajanju instrumenta, pročitajte odeljak *Uključivanje instrumenta na strani 11*.

Da biste saznali više o isključivanju instrumenta, pročitajte odeljak *Isključivanje instrumenta na strani 41*.

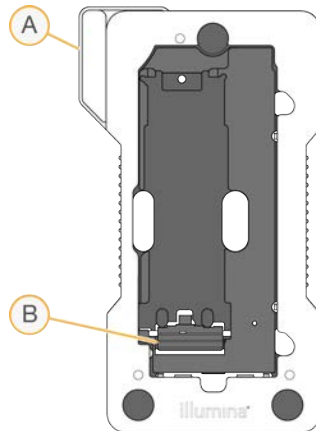
Stanje napajanja	Radnja
Napajanje instrumenta je isključeno	Pritisnite dugme da biste uključili napajanje.
Napajanje instrumenta je uključeno	Pritisnite dugme da biste isključili napajanje. Na ekranu se pojavljuje dijalog za potvrdu isključivanja instrumenta.
Napajanje instrumenta je uključeno	Pritisnite i držite dugme za uključivanje/isključivanje 10 sekundi da biste uzrokovali nasilno isključivanje instrumenta i računara instrumenta. Ovaj metod isključivanja instrumenta primenjujte samo ako instrument ne reaguje.

**NAPOMENA** Isključivanjem instrumenta tokom obrade sekvenciranjem obrada se odmah prekida. Prekidanje obrade je konačno. Potrošni materijal za obradu ne može ponovno da se upotrebljava, a podaci dobijeni sekvenciranjem iz te obrade neće biti sačuvani.

## Pregled BeadChip adaptera za višekratnu upotrebu

Višekratni BeadChip adapter drži BeadChip tokom skeniranja. BeadChip je pričvršćen u udubljenoj polici adaptera pomoću pričvrstne kopče. BeadChip adapter se zatim postavlja na postolje u odeljku za snimanje.

Slika 3 BeadChip adapter za višekratnu upotrebu



- A BeadChip adapter
- B Pričvrtna kopča

## Pregled kompleta reagenasa

### Pregled potrošnog materijala za sekvenciranje

Potrošni materijal za sekvenciranje koji je obavezan za upotrebu instrumenta NextSeq 550Dx priložen je zasebno kao komplet za jednokratnu upotrebu. Svaki komplet sadrži jednu protočnu ćeliju, kertridž reagenasa, kertridž pufera i pufer za razređivanje biblioteke. Više informacija potražite u uputstvu u pakovanju za komplet *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 ciklusa)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklusa)* ili *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 ciklusa)*.

Protočna ćelija, kertridž reagenasa i kertridž pufera upotrebljavaju radiofrekvencijsku identifikaciju (RFID) za precizno praćenje potrošnog materijala i kompatibilnosti.

#### OPREZ

Uz komplete NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 nužan je sistem NOS 1.3 ili noviji da bi instrument prihvatao kertridž protočne ćelije v2.5. Pre pripreme uzoraka i potrošnog materijala ažurirajte softver da ne biste morali da bacite reagense i/ili uzorke.



#### NAPOMENA

Držite potrošni materijal za sekvenciranje u odgovarajućim kutijama do trenutka kada treba da ga koristite.

### Označavanje kompatibilnosti kompleta

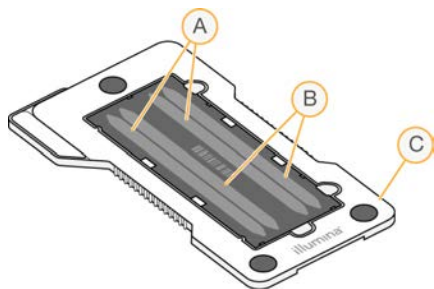
Komponente kompleta se označavaju indikatorima u boji kako bi se pokazala kompatibilnost između protočnih ćelija i kertridža za reagens. Uvek koristite kompatibilni kertridž za reagens i protočnu ćeliju. Pufer kertridž je univerzalan.

Svaka protočna ćelija i kertridž sa reagensom imaju oznaku **High** (Visoko) ili **Mid** (Srednje). Uvek proverite etiketu kada pripremate potrošni materijal za obradu.

Tip kompleta	Oznaka na etiketi
Komponente kompleta visoke propusnosti	
Komponente kompleta srednje propusnosti	

## Pregled protočne ćelije

Slika 4 Kertridž protočne ćelije



- A Parovi putanje A – putanje 1 i 3
- B Parovi putanje B – putanje 2 i 4
- C Okvir kertridža protočne ćelije

Protočna ćelija je stakleni supstrat na kojem se generišu klasteri i izvodi reakcija sekvenciranja. Protočna ćelija se nalazi u kertridžu protočne ćelije.

Protočna ćelija se sastoji od 4 putanje koje se snimaju u paru.

- ▶ Putanje 1 i 3 (par putanja A) se snimaju istovremeno.
- ▶ Putanje 2 i 4 (par putanja B) se snimaju kad se završi snimanje para putanja A.

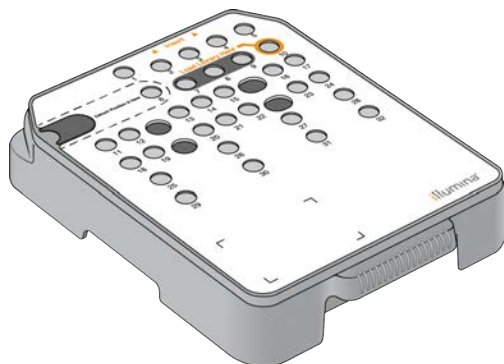
Protočna ćelija ima 4 putanje, ali se samo jedna jedina biblioteka ili niz biblioteka formiranih u skupove sekvencira na njoj. Biblioteke se umeću u kertridž reagensa iz jednog rezervoara i automatski se prenose na protočnu ćeliju na sve 4 putanje.

Svaka putanja se snima kroz mala područja snimanja koja se nazivaju pločice. Dodatne informacije potražite u odeljku *Pločice protočne ćelije na strani 59*.

## Pregled kertridža reagensa

Kertridž reagensa je potrošni materijal za jednokratnu upotrebu sa RFID praćenjem i rezervoarima zatvorenim folijom koji su unapred napunjeni reagensima za klasterovanje i sekvenciranje.

Slika 5 Kertridž reagensa



Kertridž reagensa sadrži namenski rezervoar za postavljanje pripremljenih biblioteka. Nakon početka obrade, biblioteke se automatski prenose iz rezervoara na protočnu ćeliju.

Nekoliko rezervoara je rezervisano za automatsko ispiranje nakon obrade. Rastvor za ispiranje ubrizgava se iz kertridža pufera u rezervisane rezervoare kroz sistem, a zatim do kontejnera za potrošene reagense.

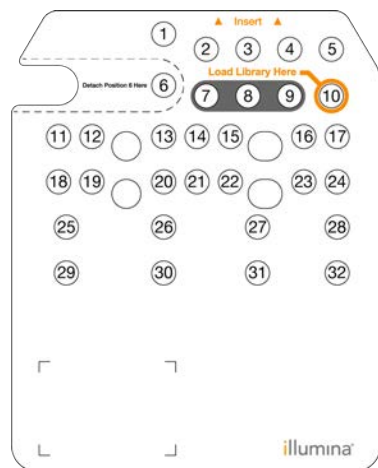


### UPOZORENJE

Ovaj skup reagensa sadrži potencijalno opasne hemikalije. Udisanje, gutanje, kontakt sa kožom i očima mogu dovesti do telesnih povreda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijski mantil odgovarajuće za opasnost od izlaganja. Iskorišćenim reagensima treba rukovati kao sa hemijskim otpadom i odložiti ih na otpad u skladu sa primenljivim regionalnim, nacionalnim i lokalnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoline, zdravlja i bezbednosti potražite u bezbednosno-tehničkom listu na veb-sajtu [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

## Rezervisani rezervoari

Slika 6 Numerisani rezervoari



Položaj	Opis
7, 8 i 9	Rezervisani za opcione prilagođene prajmere
10	Unos biblioteka

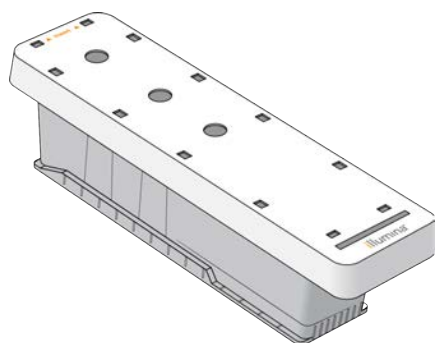
## Uklonjivi rezervoar na položaju br. 6

Unapred napunjeni kertridž reagensa sadrži reagens sa formamidom za denaturisanje na položaju br. 6. Radi lakšeg sigurnog odlaganja neiskorišćenog reagensa u otpad nakon obrade sekvenciranjem, rezervoar na položaju br. 6 je uklonjiv. Više informacija pogledajte u odeljku [Uklanjanje iskorišćenog rezervoara sa položaja br. 6 na strani 22](#).

## Pregled kertridža pufera

Kertridž pufera je posuda za jednokratnu upotrebu koja sadrži tri rezervoara unapred napunjena puferima i rastvorom za ispiranje. Sadržaj kertridža pufera dovoljan je za sekvenciranje jedne protočne ćelije.

Slika 7 Kertridž pufera





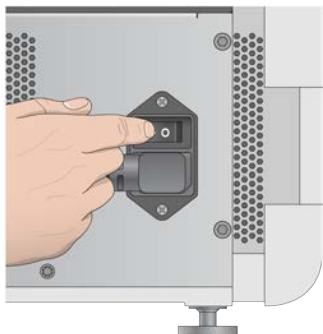
# Poglavlje 2 Početak rada

Uključivanje instrumenta .....	11
Prilagođavanje podešavanja sistema .....	12
Potrošni materijal i oprema koje obezbeđuje korisnik .....	13

## Uključivanje instrumenta

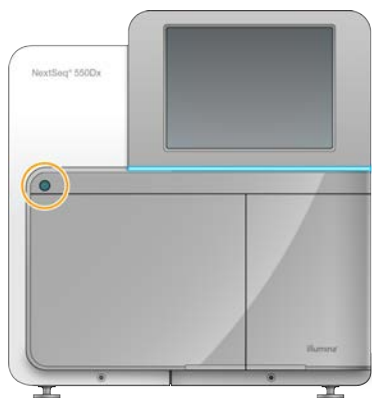
Prekidač za napajanje prebacite u položaj I (uključeno).

**Slika 8** Prekidač za uključivanje/isključivanje na poledini instrumenta



- 1 Pritisnite dugme za uključivanje/isključivanje iznad odeljka za reagense. Tim dugmetom se uključuje napajanje instrumenta i pokreću integrirani računar instrumenta i softver.

**Slika 9** Prekidač za uključivanje/isključivanje na prednjem delu instrumenta



- 2 Sačekajte da se dovrši učitavanje operativnog sistema. Pokreće se NextSeq Control Software (NCS) i sistem se automatski pokreće. Nakon dovršetka koraka pokretanja otvara se početni ekran.
- 3 Unesite korisničko ime i lozinku za Local Run Manager. Informacije o lozinkama pogledajte u odeljku *Korisničke lozinke na strani 1*. Informacije o podešavanju naloga u softveru Local Run Manager pogledajte u odeljku *Administrativna podešavanja i zadaci na strani 1*.
- 4 Izaberite **Login** (Prijavljivanje). Otvara se početni ekran sa ikonama Sequence (Sekvenciranje), Local Run Manager, Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) i Perform Wash (Obavi ispiranje).



## Indikatori režima rada instrumenta

Podrazumevani režim rada instrumenta NextSeq 550Dx je dijagnostički režim. Sledeće stavke na ekranu sistema NCS ukazuju na režim rada instrumenta.

Režim	Početni ekran	Boja trake	Položaj ikone statusa
Dijagnostički režim	Welcome to NextSeqDx (Dobro došli u NextSeqDx)	Plava	Horizontalan
Istraživački režim	Welcome to NextSeq (Dobro došli u NextSeq)	Narandžasta	Vertikalni

## Prilagođavanje podešavanja sistema

Operativni softver obuhvata prilagodljiva podešavanja sistema za identifikaciju instrumenta, željene opcije unosa, podešavanja zvuka i lokaciju izlazne fascikle. Da biste promenili podešavanja konfiguracije mreže pogledajte *Konfigurisanje podešavanja sistema na strani 50*.

Opcije prilagođavanja:

- ▶ Prilagođavanje identifikacije instrumenta (avata i nadimka)
- ▶ Podešavanje opcije unosa i zvučnog indikatora
- ▶ Postavljanje opcija podešavanja obrade
- ▶ Opcije isključivanja
- ▶ Konfigurisanje pokretanja instrumenta nakon provere pre obrade
- ▶ Izbor slanja podataka o radu instrumenta kompaniji Illumina
- ▶ Određivanje izlazne fascikle obrade

## Prilagođavanje avata i nadimka instrumenta

- 1 Sa početnog ekrana izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Izaberite **System Customization** (Konfiguracija sistema).
- 3 Da biste dodelili željenu sliku vašem instrumentu, izaberite **Browse** (Pregled) i idite do slike.
- 4 U polje Nick Name (Nadimak) unesite željeni naziv instrumenta.
- 5 Izaberite **Save** (Sačuvaj) da biste sačuvali podešavanja i prešli na sledeći ekran. Slika i naziv se prikazuju u gornjem levom uglu svakog ekrana.

## Podešavanje opcije tastature i zvučnog indikatora

- 1 Sa početnog ekrana izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Izaberite **System Customization** (Konfiguracija sistema).
- 3 Izaberite opciju **Use on-screen keyboard** (Koristi tastaturu na ekranu) da biste aktivirali tastaturu na ekranu za unos u instrument.
- 4 Izaberite opciju **Play audio** (Reprodukuj zvuk) da biste uključili zvučne indikatore za sledeće događaje.
  - ▶ Nakon pokretanja instrumenta
  - ▶ Kada započne obrada
  - ▶ Kada dođe do određenih grešaka
  - ▶ Kada je potrebna interakcija korisnika
  - ▶ Kada je obrada završena

- Izaberite **Save** (Sačuvaj) da biste sačuvali podešavanja i prešli na sledeći ekran.

## Postavljanje opcija podešavanja obrade

- Na ekranu Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) izaberite **System Configuration** (Konfiguracija sistema).
- Izaberite opciju **Use Advanced Load Consumables** (Primeni napredno učitavanje potrošnog materijala) da biste omogućili opciju za učitavanje svih potrošnih materijala za obradu sa jednog ekrana.
- Izaberite opciju **Automatically start run after pre-run check** (Automatski pokreni obradu nakon provere pre obrade) da biste automatski pokrenuli sekvenciranje nakon uspešne provere pre obrade.
- Izaberite **Save** (Sačuvaj) da biste sačuvali podešavanja i izašli iz prikaza.

## Podešavanje opcije automatskog pražnjenja

- Na ekranu Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) izaberite **System Configuration** (Konfiguracija sistema).
- Izaberite opciju **Purge Consumables at End of Run** (Isprazniti potrošni materijal na kraju rada) da se neiskorišćeni reagensi automatski isprazne iz kertridža za reagense u kontejner za istrošene reagense nakon svakog ciklusa.

**NAPOMENA** Pražnjenje potrošnih materijala automatski dodaje vreme toku rada.

- Izaberite **Save** (Sačuvaj) da biste sačuvali podešavanja i prešli na sledeći ekran.

## Potrošni materijal i oprema koje obezbeđuje korisnik

Na instrumentu NextSeq 550Dx koriste se sledeći potrošni materijal i oprema. Sledeći potrošni materijal i oprema se upotrebljavaju za pripremu potrošnog materijala, sekvenciranje i održavanje instrumenta. Za više informacija, pogledajte *NextSeq 550 sistemski vodič*.

## Potrošni materijal za sekvenciranje

Potrošni materijal	Dobavljač	Svrha
Maramice sa alkoholom, 70%-tni izopropil ili Etanol, 70%	VWR, kataloški br. 95041-714 (ili ekvivalentno sredstvo) Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora	Čišćenje protočne ćelije i opšta namena
Laboratorijska maramica, ne ostavlja tragove	VWR, kataloški br. 21905-026 (ili ekvivalentno sredstvo)	Čišćenje protočne ćelije i opšta namena

## Potrošni materijal za održavanje i otklanjanje problema

Potrošni materijal	Dobavljač	Svrha
NaOCl, 5% (natrijum-hipohlorit)	Sigma-Aldrich, kataloški br. 239305 (ili ekvivalent laboratorijskog kvaliteta)	Pranje instrumenta ručnim ispiranjem nakon obrade; razblaženo na 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, kataloški br. P7949	Pranje instrumenta opcijama ručnog pranja; razblaženo na 0,05%
Voda, laboratorijskog kvaliteta	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora	Pranje instrumenta (ručno pranje)
Filter za vazduh	Illumina, kataloški br. 20022240	Čišćenje vazduha koji instrument uvlači za hlađenje

## Smernice za vodu laboratorijskog kvaliteta

Za obavljanje postupaka na instrumentu uvek koristite vodu laboratorijskog kvaliteta ili dejonizovanu vodu. Nemojte koristiti vodu iz vodovoda. Koristite samo vodu sledećih nivoa ili ekvivalente:

- ▶ Dejonizovana voda
- ▶ Illumina PW1
- ▶ Voda od 18 megaoma (MΩ)
- ▶ Voda Milli-Q
- ▶ Voda Super-Q
- ▶ Voda za primenu u molekularnoj biologiji

## Oprema

Stavka	Izvor
Zamrzivač, -25 °C do -15 °C, bez leda	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora
Frižider, 2 °C do 8 °C	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora

# Poglavlje 3 Sekvenciranje

Uvod .....	15
Tok rada sekvenciranja .....	16
Priprema kertridža reagensa .....	16
Priprema protočne ćelije .....	17
Priprema biblioteka za sekvenciranje .....	17
Podešavanje ciklusa sekvenciranja .....	18
Praćenje napretka obrade .....	24
Automatsko ispiranje nakon obrade .....	26

## Uvod

Da biste izveli obradu sekvenciranjem na instrumentu NextSeq 550Dx, pripremite kertridž reagensa i protočnu ćeliju, a zatim pratite uputstva softvera da biste podesili i pokrenuli obradu. Generisanje i sekvenciranje klastera izvodi se na instrumentu. Nakon obrade automatski počinje ispiranje instrumenta pomoću komponenti koje su već umetnute u instrument.

## Generisanje klastera

Tokom generisanja klastera pojedinačni molekuli DNK vežu se za površinu protočne ćelije, a potom se amplificiraju radi formiranja klastera.

## Sekvenciranje

Klasteri se snimaju pomoću dvokanalnog hemijskog postupka sekvenciranja i kombinacija filtriranja specifičnih za svaki od fluorescentno označenih nukleotida. Nakon završetka snimanja neke pločice na protočnoj ćeliji, snima se sledeća pločica. Postupak se ponavlja za svaki ciklus sekvenciranja. Nakon analize slika softver sprovodi određivanje očitanih baza, filtriranje i ocenjivanje kvaliteta.

## Analiza

Dok obrada traje, operativni softver automatski prenosi datoteke sa određivanjem očitanih baza (BCL datoteke) na navedenu izlaznu lokaciju radi sekundarne analize.

## Trajanje obrade sekvenciranjem

Trajanje obrade sekvenciranja zavisi od broja obavljenih ciklusa. Maksimalna dužina obrade je obrada od 150 ciklusa sa uparenim krajevima za svako očitavanje (2 x 150), kao i do 8 ciklusa za svako od 2 očitavanja indeksa.

## Broj ciklusa u očitavanju

U obradi sekvenciranjem broj ciklusa koji se obave u jednom očitavanju veći je za jedan od broja analiziranih ciklusa. Tokom obrade uparenih krajeva u 150 ciklusa, na primer, obave se očitavanja 151 ciklusa (2 x 151), tj. ukupno 302 ciklusa. Na kraju obrade analizira se 2 x 150 ciklusa. Taj dodatni ciklus je neophodan za proračune pri određivanju negativnog i pozitivnog pomaka faze.

## Tok rada sekvenciranja

### Create Run



Napravite obradu u modulu softvera Local Run Manager. Pogledajte vodič kroz tok rada analize baš za svoj modul.



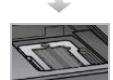
Pripremite novi kertridž reagensa: odmrznite ga i pregledajte.  
Pripremite novu protočnu ćeliju: ostavite da dobije sobnu temperaturu, otpakujte je i pregledajte.



Denaturišite i razredite biblioteke. Uputstva pronađite u informativnom pregledu za pripremu biblioteke.



Stavite rastvor biblioteke u kertridž reagensa u rezervoar br. 10.



Na početnom ekranu instrumenta NCS izaberite **Sequence** (Sekvenciranje), vaš ID obrade i započnite korake podešavanja obrade. Izaberite **Run** (Obrada).



Umetnite protočnu ćeliju.



Ispraznite i ponovo umetnite kontejner za potrošene reagense.  
Umetnite kertridž pufera i kertridž reagensa.



Pregledajte rezultate provere pre obrade. Izaberite **Start** (Počni). (Ovo nije potrebno ako je konfigurisano automatsko pokretanje).



Pratite obradu putem interfejsa operativnog softvera ili sa umreženog računara sa softverom Local Run Manager.

Ispiranje instrumenta počinje automatski nakon završetka sekvenciranja.

## Priprema kertridža reagensa

Obavezno pažljivo pratite smernice za kertridž reagensa da bi sekvenciranje bilo uspešno.

- 1 Izvadite kertridž reagensa iz skladišta u kom je temperatura od -25 °C do -15 °C.
- 2 Izaberite jednu od sledećih metoda odmrzavanja reagensa. Ne potapajte kertridž u tečnost. Kada se kertridž odmrzne, osušite ga pre prelaska na sledeći korak.

Temperatura	Vreme odmrzavanja	Granica stabilnosti
Vodena kupka temperature od 15 °C do 30 °C	60 minuta	Ne sme premašiti 6 sati
Od 2 °C do 8 °C	7 sati	Ne sme premašiti 7 dana

**NAPOMENA** Ako se u istoj vodenoj kupki odmrzava više kertridža, vreme odmrzavanja se produžava.

- 3 Preokrenite kertridž pet puta da biste promešali reagense.
- 4 Pregledajte dno kertridža da biste se uverili da su reagensi odmrznuti i ne sadrže talog. Potvrdite da su pozicije 29, 30, 31 i 32 odmrznute jer su one najveće i treba im najviše vremena da se odmrznu.
- 5 Blago lupnite o sto da biste smanjili broj mehurića vazduha.  
Da biste postigli najbolje rezultate, odmah unesite uzorak i podesite obradu.



#### UPOZORENJE

Ovaj skup reagenasa sadrži potencijalno opasne hemikalije. Udisanje, gutanje, kontakt sa kožom i očima mogu dovesti do telesnih povreda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijski mantil odgovarajuće za opasnost od izlaganja. Iskorišćenim reagensima treba rukovati kao sa hemijskim otpadom i odložiti ih na otpad u skladu sa primenljivim regionalnim, nacionalnim i lokalnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoline, zdravlja i bezbednosti potražite u bezbednosno-tehničkom listu na veb-sajtu [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

## Priprema protočne ćelije

- 1 Izvadite kutiju sa novom protočnom ćelijom iz skladišta u kom je temperatura od 2 °C do 8 °C.
- 2 Izvadite pakovanje u foliji iz kutije i odložite 30 minuta na sobnoj temperaturi.

**NAPOMENA** Ako je folija na pakovanju netaknuta, protočna ćelija može da ostane na sobnoj temperaturi do 12 sati. Nemojte ponovno hladiti i zagrevati protočnu ćeliju.

## Priprema biblioteka za sekvenciranje

Denaturišite i razredite biblioteke na ulaznu zapreminu od 1,3 ml. U praksi, ulazna koncentracija može da se razlikuje u zavisnosti od pripreme biblioteke i metoda kvantifikacije. Razređivanje biblioteka uzoraka zavisi od složenosti oligonukleotidnih skupova. Uputstva za pripremu biblioteka uzoraka za sekvenciranje, uključujući razređivanje biblioteka i formiranje skupova, potražite u odeljku „Uputstva za korišćenje” odgovarajućeg kompleta za pripremu biblioteka. Potrebna je optimizacija gustine klastera na instrumentu NextSeq 550Dx.

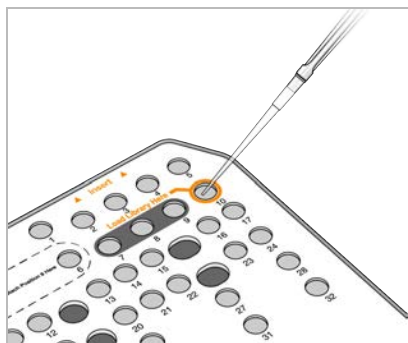
## Denaturišite i razblažite biblioteke

Denaturišite i razblažite vaše biblioteke na ulaznu zapreminu od 1,3 ml i ulaznu koncentraciju od 1,8 pM. U praksi, ulazna koncentracija može da se razlikuje u zavisnosti od pripreme biblioteke i metoda kvantifikacije. Za uputstva pogledajte informativni uložak paketa za pripremu biblioteka.

## Unos biblioteka u kertridž reagensa

- 1 Očistite zaštitnu foliju koja prekriva rezervoar br. 10 sa oznakom **Load Library Here** (Ovde unesite biblioteku) koristeći maramicu koja ne ostavlja tragove.
- 2 Probušite foliju čistim nastavkom pipete od 1 ml.
- 3 Unesite 1,3 ml pripremljenih biblioteka u rezervoar br. 10 sa oznakom **Load Library Here** (Ovde unesite biblioteku). Ne dodirujte zaštitnu foliju prilikom pipetiranja biblioteka.

**Slika 10** Unos biblioteka



## Podešavanje ciklusa sekvenciranja

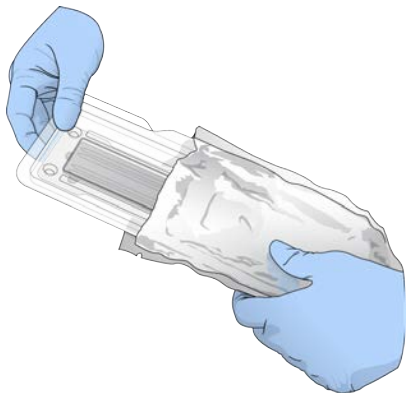
### Prijavite se na BaseSpace

- 1 Unesite svoje BaseSpace korisničko ime i lozinku.
- 2 Izaberite **Next** (Sledeće).

### Postavite protočnu ćeliju

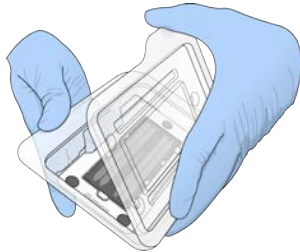
- 1 Uklonite iskorišćenu protočnu ćeliju iz prethodne obrade.
- 2 Izvadite protočnu ćeliju iz folije u kojoj je zapakovana.

**Slika 11** Uklanjanje iz folije za pakovanje



- 3 Otvorite pakovanje sa preklopom od providne plastike i izvadite protočnu ćeliju.

**Slika 12** Vađenje iz pakovanja sa preklopom

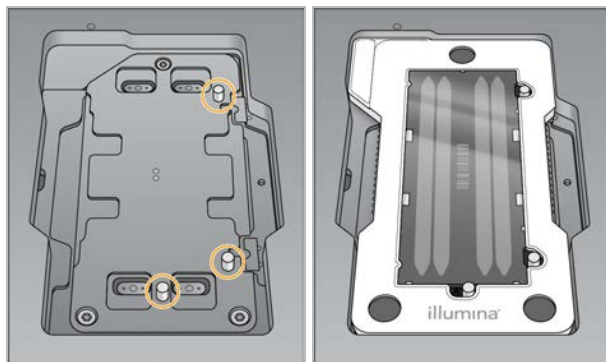


- 4 Očistite staklenu površinu protočne ćelije alkoholnom maramicom koja ne ostavlja vlakna. Osušite staklo laboratorijskom krpicom koja ne ostavlja vlakna.

**NAPOMENA** Postarajte se da staklena površina protočne ćelije bude čista. Ako je potrebno, ponovite korak čišćenja.

- 5 Poravnajte protočnu ćeliju koristeći čiode za poravnavanje i postavite protočnu ćeliju na postolje.

**Slika 13** Postavite protočnu ćeliju



- 6 Izaberite **Load** (Unos).  
Vrata se automatski zatvaraju. ID protočne ćelije se pojavljuje na ekranu i proveravaju se senzori.

**NAPOMENA** Držite ruke dalje od vrata protočne ćelije dok se zatvaraju da vas ne bi uštinula.

- 7 Izaberite **Next** (Sledeće).

## Pražnjenje kontejnera za potrošene reagense

- 1 Otvorite vrata odeljka pufera sa rezom u donjem levom uglu vrata.
- 2 Uklonite kontejner za potrošene reagense i bacite sadržaj u otpad u skladu sa primenljivim standardima.



**Slika 14** Uklanjanje kontejnera za potrošene reagense



**NAPOMENA** Dok uklanjate kontejner, stavite drugu ruku ispod njega kao potporu.

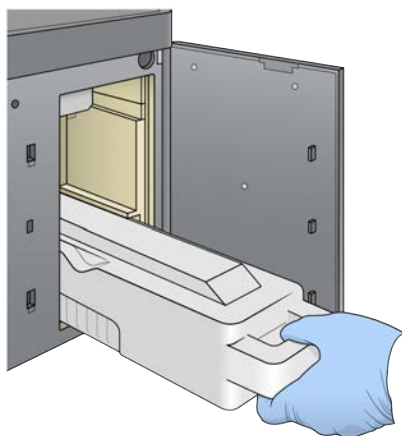


#### UPOZORENJE

Ovaj skup reagenasa sadrži potencijalno opasne hemikalije. Udisanje, gutanje, kontakt sa kožom i očima mogu dovesti do telesnih povreda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijski mantil odgovarajuće za opasnost od izlaganja. Iskorišćenim reagensima treba rukovati kao sa hemijskim otpadom i odložiti ih na otpad u skladu sa primenljivim regionalnim, nacionalnim i lokalnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoline, zdravlja i bezbednosti potražite u bezbednosno-tehničkom listu na veb-sajtu [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 3 Klizanjem umetnite prazan kontejner za potrošene reagense u odeljak za pufer dok se ne zaustavi. Zvuk klika označiće da je kontejner na svom mestu.

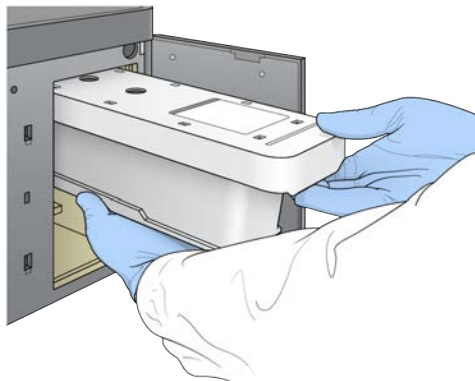
**Slika 15** Postavite prazan kontejner za potrošene reagense



## Postavite pufer kertridž

- 1 Uklonite upotrebljeni kertridž pufera iz gornjeg odeljka.  
Za podizanje i vađenje kertridža pufera je potrebno da upotrebite malo sile.
- 2 Klizanjem postavite novi kertridž pufera u odeljak za pufer dok se ne zaustavi.  
Zvučni klik će označiti da je kertridž namešten; na ekranu se pojavljuje ID kertridža pufera i proverava se senzor.

**Slika 16** Postavite pufer kertridž



- 3 Zatvorite vrata odeljka za pufer i izaberite **Next** (Sledeće).

## Postavite kertridž za reagense

- 1 Otvorite vrata odeljka za reagense pomoću reze ispod donjeg desnog ugla vrata.
- 2 Uklonite iskorišćeni kertridž reagensa iz odeljka za reagense. Odložite neupotrebljeni sadržaj u skladu sa primenljivim standardima.



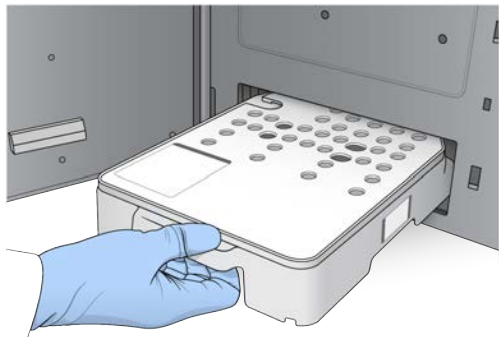
### UPOZORENJE

Ovaj skup reagensa sadrži potencijalno opasne hemikalije. Udisanje, gutanje, kontakt sa kožom i očima mogu dovesti do telesnih povreda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijski mantil odgovarajuće za opasnost od izlaganja. Iskorišćenim reagensima treba rukovati kao sa hemijskim otpadom i odložiti ih na otpad u skladu sa primenljivim regionalnim, nacionalnim i lokalnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoline, zdravlja i bezbednosti potražite u bezbednosno-tehničkom listu na veb-sajtu [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

**NAPOMENA** Radi lakšeg sigurnog odlaganja neiskorišćenog reagensa u otpad, rezervoar na položaju br. 6 je uklonjiv. Više informacija pogledajte u odeljku *Uklanjanje iskorišćenog rezervoara sa položaja br. 6 na strani 22*.

- 3 Klizanjem postavite kertridž reagensa u odeljak za reagense dok se kertridž ne zaustavi, pa zatvorite vrata odeljka za reagense.

**Slika 17** Postavite kertridž za reagens

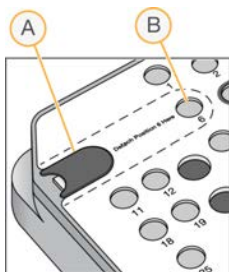


- Izaberite **Load** (Unos).  
Softver automatski pomera kertridž na njegovo mesto (~30 sekundi), ID kertridža reagensa se pojavljuje na ekranu i proveravaju se senzori.
- Izaberite **Next** (Sledeće).

## Uklanjanje iskorišćenog rezervoara sa položaja br. 6

- Kada uklonite **iskorišćeni** kertridž reagensa iz instrumenta, uklonite zaštitni gumeni poklopac sa konektora pored položaja br. 6.

**Slika 18** Uklonjivi položaj br. 6



- A Zaštitni gumeni poklopac
- B Položaj br. 6

- Pritisnite providni, plastični jezičak i povucite nalevo da biste izbacili rezervoar.
- Odložite rezervoar u skladu sa primenljivim standardima.

## Odredite parametre obrade

Koraci na ekranu Run Setup (Podešavanje obrade) razlikuju se u zavisnosti od konfiguracije sistema:

- ▶ **BaseSpace ili BaseSpace Onsite**—Ekran Run Setup (Podešavanje obrade) navodi cikluse obrade koji su podešeni pomoću kartice BaseSpace Prep. Ako se planirani ciklus obrade ne pojavi na ekranu Run Setup (Podešavanje obrade), uverite se da je ciklus obrade označen za sekvenciranje u BaseSpace-u.
- ▶ **Standalone** (Samostalno)—Ekran Run Setup uključuje polja za definisanje parametara obrade.

## Izaberite Available Run (Dostupan ciklus obrade) (BaseSpace konfiguracija)

- Izaberite naziv ciklusa sa liste dostupnih ciklusa obrade.

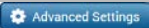
Koristite strelice na gore i na dole da biste se kretali kroz listu ili unesite naziv ciklusa obrade u polje za pretragu.

- 2 Izaberite **Next** (Sledeće).
- 3 Potvrdite parametre obrade.
  - ▶ **Run Name** (Naziv ciklusa obrade)—Naziv ciklusa obrade dodeljen u BaseSpace-u.
  - ▶ **Library ID** (ID biblioteke)—Naziv grupisanih biblioteka dodeljen u BaseSpace-u.
  - ▶ **Recipe** (Recept)—Naziv recepta, ili **NextSeq High** ili **NextSeq Mid** u zavisnosti od kertridža za reagens koji se koristi u obradi.
  - ▶ **Read Type** (Tip očitavanja)—Pojedinačno očitavanje ili Upareni krajevi.
  - ▶ **Read length** (Dužina očitavanja)—Broj ciklusa za svako očitavanje.
  - ▶ **[Opciono]** Prilagođeni prajmeri, ako je primenljivo.
  - ▶ **Run parameters** (Parametri obrade)—Promenite broj očitavanja ili broj ciklusa po očitavanju.
  - ▶ **Custom primers** (Prilagođeni prajmeri)—Promenite podešavanja za prilagođene prajmere. Za više informacija pogledajte *NextSeq Vodič za prilagođene prajmere (br. dokumenta 15057456)*.
  - ▶ **Purge consumables for this run** (Isprazni potrošni materijal za ovaj ciklus obrade)—Promenite podešavanje da automatski ispraznite potrošni materijal nakon trenutnog ciklusa obrade.
- 4 Izaberite **Next** (Sledeće).

## Unesi parametre obrade (Standalone Configuration (Konfiguracija za samostalni rad))

- 1 Unesite naziv ciklusa obrade po svom izboru.
- 2 **[Opciono]** Unesite ID biblioteke po svom izboru.
- 3 Izaberite tip očitavanja, **Single Read** (Pojedinačno očitavanje) ili **Paired Ends** (Upareni krajevi).
- 4 Unesite broj ciklusa za svako očitavanje u ciklusu sekvenciranja.
  - ▶ **Read 1** (Očitavanje 1)—Unesite vrednost do 151 ciklusa.
  - ▶ **Index 1** (Indeksiranje 1)—Unesite broj ciklusa potreban za Indeks 1 (i7) prajmer.
  - ▶ **Index 2** (Indeksiranje 2)—Unesite broj ciklusa potreban za Indeks 2 (i5) prajmer.
  - ▶ **Read 2** (Očitavanje 2)—Unesite vrednost do 151 ciklusa. Ova vrednost je obično isti broj ciklusa kao i za Očitavanje 1.

Kontrolni softver potvrđuje vaše unose koristeći sledeće kriterijume:





  - ▶ Ukupan broj ciklusa ne prelazi maksimalno dozvoljeni broj ciklusa
  - ▶ Ciklusi za Očitavanje 1 su veći od 5 ciklusa koji se koriste za generisanje šablona
  - ▶ Ciklusi Očitavanja indeksa ne premašuju cikluse Očitavanje 1 i Očitavanje 2.
- 5 **[Opciono]** Ako koristite prilagođene prajmere, označite polje za potvrdu za korišćene prajmere. Za više informacija, pogledajte *NextSeq Vodič za prilagođene prajmere (br. dokumenta 15057456)*.
  - ▶ **Read 1** (Očitavanje 1)—Prilagođeni prajmer za Očitavanje 1.
  - ▶ **Index 1** (Indeksiranje 1)—Prilagođeni prajmer za Indeksiranje 1
  - ▶ **Index 2** (Indeksiranje 2)—Prilagođeni prajmer za Indeksiranje 2.
  - ▶ **Read 2** (Očitavanje 2)—Prilagođeni prajmer za Očitavanje 2.
- 6 **[Opciono]** Izaberite dugme **Advanced Settings**  (Napredna podešavanja) za promenu parametara obrade.
  - ▶ Sa padajuće liste Recipe (Recept) izaberite recept. Navedeni su samo kompatibilni recepti.
  - ▶ **Output folder location** (Lokacija izlazne fascikle)—Promenite lokaciju izlazne fascikle za trenutnu obradu. Izaberite **Browse** (Pregled) da biste došli do mrežne lokacije.

- ▶ **Included file** (Uključena datoteka)— Izaberite datoteke koje ćete uključiti u izlaznu fasciklu, a koje mogu biti korisne ako je potrebna dalja analiza. Na primer, datoteke manifesta i liste uzoraka.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Isprazni potrošni materijal za ovaj ciklus obrade)— Promenite podešavanje da automatski ispraznite potrošni materijal nakon trenutnog ciklusa obrade.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Koristi praćenje obrade za ovu obradu)— Promenite podešavanje da biste primenili praćenje obrade u BaseSpace-u.

7 Izaberite **Next** (Sledeće).

## Pregled provere pre obrade

Softver obavlja automatizovanu proveru sistema pre obrade. Tokom te provere na ekranu se pojavljuju sledeći indikatori:

- ▶ **Sivi**  **znak potvrde** – provera još uvek nije obavljena.
- ▶ **Ikona**  **napretka** – provera je u toku.
- ▶ **Zeleni**  **znak potvrde** – provera je uspešno obavljena.
- ▶ **Crveni krstić**  – provera nije uspeła. Za sve stavke koje ne prođu proveru neophodna je određena radnja pre nastavka. Pogledajte *Otklanjanje grešaka automatske provere na strani 44*.

Da biste zaustavili automatizovanu proveru pre obrade koja je u toku, izaberite dugme **Cancel** (Otkazi). Za ponovno pokretanje provere izaberite dugme **Retry** (Pokušaj ponovo). Provera se nastavlja od prve nedovršene ili neuspele provere.

Da biste prikazali rezultate svake pojedine provere u kategoriji, izaberite karticu **Category** (Kategorija).

Ako instrument nije konfigurisan za automatsko pokretanje obrade, pokrenite obradu nakon završetka automatizovane provere pre obrade.

## Pokretanje obrade

Kada se završi automatska provera pre obrade, izaberite **Start** (Pokreni). Time počinje obrada sekvenciranjem.

Da biste konfigurisali sistem da automatski pokrene obradu nakon uspešne provere, pročitajte *Postavljanje opcija podešavanja obrade na strani 13*.



### OPREZ

Svakako ostanite prijavljeni u Windows. Ako se tokom obrade sekvenciranjem odjavite iz sistema Windows, obrada će se zaustaviti.

**NAPOMENA** Reagensi ne mogu biti u stanju mirovanja u instrumentu duže od 24 sata.

## Praćenje napretka obrade

1 Pratite napredak obrade, intenzitete i ocenjivanje kvaliteta putem pokazatelja koji se pojavljuju na ekranu.









**NAPOMENA** Kad izaberete Home (Početak), nije moguće vraćanje na prikaz pokazatelja obrade. Međutim, pokazatelji obrade su dostupni na BaseSpace-u ili se mogu pogledati sa samostalnog računara pomoću pregledača Sequencing Analysis Viewer (SAV) (Pregledač analize sekvenciranja).

## Ciklusi pokazatelja obrade

Metrički podaci obrade se pojavljuju u različitim tačkama tokom obrade.

- ▶ Tokom koraka generisanja klastera ne pojavljuju se metrički podaci.
- ▶ Prvih 5 ciklusa je rezervisano za generisanje predloška.
- ▶ Metrički podaci obrade pojavljuju se nakon 25. ciklusa, uključujući gustinu klastera, klastere koji prolaze filter, prinos i rezultate provere kvaliteta.

## Prenos podataka

Status	Local Run Manager	Izlazna fascikla
Connected (Povezan)		
Connected and transferring data (Povezan i podaci se prenose)		
Disconnected (Nije povezan)		
Disabled (onemogućen)		

Ako se tokom obrade prekine prenos podataka, podaci se privremeno skladište na računaru instrumenta. Kad se veza ponovno uspostavi, prenos podataka se automatski nastavlja. Ako se veza ponovno ne uspostavi pre završetka obrade, ručno prenesite podatke sa računara instrumenta pre početka naredne obrade.

## Usluga Universal Copy

NextSeq 550Dx sadrži uslugu Universal Copy. RTA2 zahteva od usluge da kopira datoteke sa izvorne na određenu lokaciju, pri čemu usluga obrađuje zahteve za kopiranje po redosledu kojim su primljene. Ako se dogodi izuzetak, datoteka se ponovno stavlja u red čekanja na kopiranje na osnovu broja datoteka u redu čekanja na kopiranje.

## Sequencing Analysis Viewer (SAV) (Pregledač analize sekvenciranja)

Softver Sequencing Analysis Viewer (Pregledač analize sekvenciranja) prikazuje metričke podatke o sekvenciranju generisane tokom ciklusa obrade. Metrički podaci se pojavljuju u obliku dijagrama, grafikona i tabela na osnovu podataka koje generiše RTA i koji se zapisuju u InterOp datoteke. Metrički podaci se ažuriraju kako ciklus obrade napreduje. Izaberite **Refresh** (Osveži) u bilo kom trenutku tokom ciklusa da biste videli ažurirane metričke podatke. Za više informacija pogledajte *Uputstvo za upotrebu pregledača analize sekvenciranja* (deo br. 15020619).

Sequencing Analysis Viewer (Pregledač analize sekvenciranja) je uključen u softver instaliran na računaru instrumenta. Takođe možete instalirati Sequencing Analysis Viewer (Pregledač analize sekvenciranja) na drugom računaru koji je povezan sa istom mrežom kao instrument za daljinsko praćenje metričkih podataka obrade.

## Automatsko ispiranje nakon obrade

Kad se dovrši obrada sekvenciranjem, softver pokreće automatsko ispiranje nakon obrade pomoću rastvora za ispiranje koji se nalazi u kertridžu pufera i natrijum-hipohlorita (NaOCl) iz kertridža reagensa.

Automatsko ispiranje nakon obrade traje oko 90 minuta. Kad je ispiranje završeno, dugme Home (Početak) postaje aktivno. Tokom ispiranja rezultati sekvenciranja ostaju vidljivi na ekranu.

## Nakon ispiranja

Nakon ispiranja dozatori ostaju u donjem položaju kako vazduh ne bi ušao u sistem. Ostavite kertridže gde jesu do sledeće obrade.

# Poglavlje 4 Skeniranje

Uvod .....	27
Tok rada skeniranja .....	28
Preuzmite DMAP fasciklu .....	28
Postavite BeadChip na adapter .....	29
Podešavanje skeniranja .....	30
Praćenje napretka skeniranja .....	32

## Uvod

Da biste izvršili skeniranje na instrumentu NextSeq 550Dx, potrebne su vam sledeće komponente za obradu:

- ▶ Hibridizovani i obojeni BeadChip
- ▶ BeadChip adapter za višekratnu upotrebu
- ▶ Decode Map (DMAP) datoteke za BeadChip koji koristite
- ▶ Datoteka manifesta za tip BeadChip-a koji koristite
- ▶ Datoteka klastera za tip BeadChip-a koji koristite

Izlazne datoteke se generišu tokom skeniranja, a zatim se stavljaju u red za prenos u navedenu izlaznu fasciklu.

Izvršite analizu koristeći BlueFuse Multi softver, koji zahteva da podaci skeniranja budu dostupni u formatu datoteke za određivanje genotipa (genotype call, GTC). Podrazumevano, instrument NextSeq 550Dx generiše normalizovane podatke i povezana određivanja genotipova u formatu GTC datoteke. Opciono, možete konfigurisati instrument da generiše dodatne datoteke sa podacima o intenzitetu (intensity data, IDAT). Za više informacija, pogledajte *Konfiguracija BeadChip skeniranja na strani 52*.

## Decode File Client (Klijent za dekodiranje datoteka)

DMAP fascikla sadrži informacije koje identifikuju lokacije zrnaca na BeadChip-u i kvantifikuju signal povezan sa svakim zrcem. DMAP fascikla je jedinstvena za svaki BeadChip bar kod.

Decode File Client Utility (Alatka Klijent za dekodiranje datoteka) vam omogućava da preuzmete DMAP fascikle direktno sa Illumina servera koristeći standardni HTTP protokol.

Za pristup klijentu za dekodiranje datoteka, idite na [stranicu podrške za Decode File Client](http://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) na veb-sajtu Illumina (support.illumina.com/array/array\_software/decode\_file\_client/downloads.html). Instalirajte Decode File Client (Klijent za dekodiranje datoteka) na računar sa pristupom mrežnoj lokaciji DMAP fascikle.

Za više informacija pogledajte *Preuzmite DMAP fasciklu na strani 28*.

## Datoteke manifesta i datoteke klastera

Za svaki BeadChip, softver zahteva pristup datoteci manifesta i datoteci klastera. Svaka datoteka manifesta i klastera je jedinstvena za tip BeadChip-a. Uverite se da koristite datoteke klastera koje sadrže NS550 u nazivu datoteke. Ove datoteke su kompatibilne sa sistemom NextSeq 550Dx.

- ▶ **Datoteke manifesta** — Datoteke manifesta opisuju SNP ili sadržaj probe na BeadChip-u. Datoteke manifesta koriste format datoteke \*.bpm.
- ▶ **Datoteke klastera** — Datoteke klastera opisuju pozicije klastera za niz genotipizacije Illumina i koriste se prilikom analize podataka za određivanje genotipa. Datoteke klastera koriste format datoteke \*.egt.



Lokacija datoteka je navedena na ekranu BeadChip Scan Configuration (BeadChip konfiguracija skeniranja). Na NCS početnom ekranu, izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom), **System Configuration** (Konfiguracija sistema), a zatim **BeadChip Scan Configuration** (BeadChip konfiguracija skeniranja).

Kada je instrument NextSeq 550Dx instaliran, predstavnik kompanije Illumina preuzima ove datoteke i određuje putanju u kontrolnom softveru. Nema potrebe da menjate ove datoteke osim u slučaju gubitka ili ako je dostupna nova verzija. Za više informacija pogledajte *Zamenite datoteke manifesta i datoteke klastera na strani 49*.

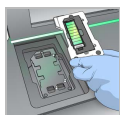
## Tok rada skeniranja

### DMAP

Preuzmite DMAP informacije i sačuvajte ih na određenoj lokaciji DMAP fascikle.



Postavite BeadChip na BeadChip adapter



Postavite BeadChip adapter na instrument.



Odredite parametre skeniranja: lokaciju DMAP fascikle i izlaznu lokaciju.



Pregledajte rezultate automatske provere.  
Izaberite **Start** (Počni).



Pratite skeniranje iz interfejsa kontrolnog softvera.

## Preuzmite DMAP fasciklu

Možete pristupiti fascikli DMAP koristeći Decode File Client (Klijent za dekodiranje datoteka) na osnovu naloga ili BeadChip-a (podrazumevani prikaz).

## Pristupite DMAP fascikli na osnovu naloga

- 1 Na glavnoj kartici klijenta za dekodiranje datoteke izaberite opciju preuzimanja:
  - ▶ AutoPilot
  - ▶ All BeadChips not yet downloaded (Svi BeadChip-ovi koji još uvek nisu preuzeti)
  - ▶ All BeadChips (Svi BeadChip-ovi)
  - ▶ BeadChips by Purchase Order (BeadChip-ovi po narudžbenici)
  - ▶ BeadChips by barcode (BeadChip-ovi po bar kodu)
- 2 Unesite potrebne informacije.

- 3 Pronađite DMAP fasciklu koju želite da preuzmete.
- 4 Uverite se da imate dovoljno slobodnog prostora na odredištu za preuzimanje.
- 5 Započnite preuzimanje. Pogledajte status preuzimanja na kartici Download Status and Log (Status preuzimanja i evidencija).
- 6 Sačuvajte DMAP fasciklu na navedenu lokaciju DMAP fascikle.

## Pristupite DMAP fascikli na osnovu BeadChip-a

- 1 Identifikujte BeadChip-ove koristeći 2 od sledećih opcija:
  - ▶ BeadChip bar kod
  - ▶ BeadChip ID sa kutije
  - ▶ Broj narudžbenice
  - ▶ Broj prodajnog naloga
- 2 Pronađite DMAP fasciklu koju želite da preuzmete.
- 3 Uverite se da imate dovoljno slobodnog prostora na odredištu za preuzimanje.
- 4 Započnite preuzimanje. Pogledajte status preuzimanja na kartici Download Status and Log (Status preuzimanja i evidencija).
- 5 Sačuvajte DMAP fasciklu na navedenu lokaciju DMAP fascikle.

## Postavite BeadChip na adapter

- 1 Pritisnite pričvrsnu kopču adaptera. Kopča se lagano nagine unazad da bi se otvorila.
- 2 Držeći BeadChip za ivice, postavite BeadChip sa bar kodom blizu pričvrsne kopče i postavite BeadChip na udubljenu policu adaptera.

**Slika 19** Postavite BeadChip na adapter



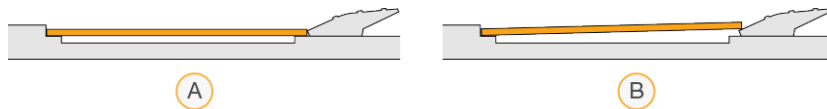
- 3 Koristeći otvore na obe strane BeadChip-a, uverite se da je BeadChip smešten na udubljenoj polici adaptera.

**Slika 20** Postavite i učvrstite BeadChip



- 4 Nežno otpustite pričvrtnu kopču da biste učvrstili BeadChip.
- 5 Pregledajte BeadChip sa bočne strane da biste se uverili da BeadChip leži ravno na adapteru. Po potrebi ponovo postavite BeadChip.

**Slika 21** Proverite položaj BeadChip-a



- A Ispravan položaj—BeadChip leži ravno na adapteru kada se kopča otpusti.  
 B Neispravan položaj—BeadChip ne leži ravno kada se kopča otpusti.

## Podešavanje skeniranja

- 1 Na početnom ekranu, izaberite **Experiment** (Eksperiment), a zatim izaberite **Scan** (Skeniranje). Komanda Scan (Skeniranje) otvara vrata odeljka za snimanje, oslobađa potrošni materijal iz prethodnog ciklusa (ako postoji) i otvara seriju ekrana za podešavanje skeniranja. Kratak zastoj je normalan.

## Vađenje potrošnog materijala za sekvenciranje

Ako su korišćeni potrošni materijali za sekvenciranje prisutni kada podešavate skeniranje, softver od vas traži da ispraznite kertridž sa reagensom i pufer kertridž pre nego što pređete na sledeći korak.

- 1 Ako se to od vas zatraži, uklonite korišćeni potrošni materijal za sekvenciranje iz prethodnog ciklusa sekvenciranja.
  - a Uklonite iskorišćeni kertridž reagensa iz odeljka za reagens. Odložite neupotrebljeni sadržaj u skladu sa primenljivim standardima.
  - b Uklonite upotrebljeni kertridž pufera iz gornjeg odeljka.



### UPOZORENJE

Ovaj skup reagensa sadrži potencijalno opasne hemikalije. Udisanje, gutanje, kontakt sa kožom i očima mogu dovesti do telesnih povreda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijski mantil odgovarajuće za opasnost od izlaganja. Iskorišćenim reagensima treba rukovati kao sa hemijskim otpadom i odložiti ih na otpad u skladu sa primenljivim regionalnim, nacionalnim i lokalnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoline, zdravlja i bezbednosti potražite u bezbednosno-tehničkom listu na veb-sajtu [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

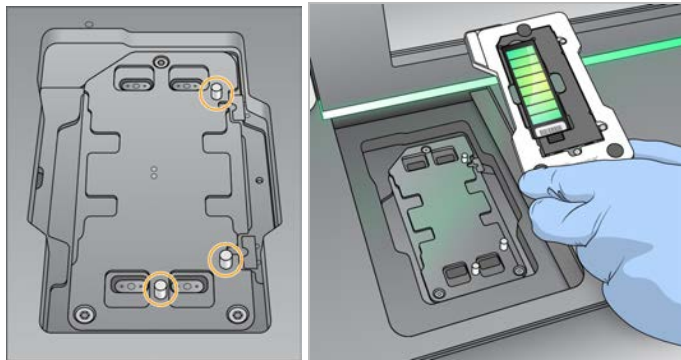
- 2 Uklonite protočnu ćeliju iz odeljka za snimanje.

- 3 Zatvorite vrata odeljka za reagens i odeljka za pufer.

## Postavite BeadChip adapter

- 1 Koristite čiode za poravnavanje da biste postavili BeadChip adapter na postolje.

Slika 22 Postavite BeadChip adapter



- 2 Izaberite **Load** (Unos).  
Vrata se automatski zatvaraju. ID protočne ćelije se pojavljuje na ekranu i proveravaju se senzori. Kratak zastoj je normalan. Ako se BeadChip bar kod ne može pročitati, pojavljuje se okvir za dijalog koji vam omogućava da ručno unesete bar kod. Pogledajte *Softver ne može da pročita BeadChip bar kod na strani 48*.
- 3 Izaberite **Next** (Sledeće).

## Podešavanje skeniranja

- 1 Na ekranu Scan Setup (Podešavanje skeniranja) potvrdite sledeće informacije:
  - ▶ **Barcode** (Bar kod)—Softver očitava BeadChip bar kod kada se postavi BeadChip. Ako je bar kod unet ručno, pojavljuje se dugme Edit (Uredi) za unos daljih izmena.
  - ▶ **Type** (Tip)—Polje tipa BeadChip se automatski popunjava na osnovu BeadChip bar koda.
  - ▶ **DMAP Location** (DMAP lokacija)—Lokacija DMAP fascikle je navedena na ekranu BeadChip Scan Configuration (Konfiguracija BeadChip skeniranja). Da biste promenili lokaciju samo za trenutno skeniranje, izaberite **Browse** (Pregled) i potražite ispravnu lokaciju.
  - ▶ **Output Location** (Izlazna lokacija)—Izlazna lokacija je navedena na ekranu BeadChip Scan Configuration (Konfiguracija BeadChip skeniranja). Da biste promenili lokaciju samo za trenutno skeniranje, izaberite **Browse** (Pregled) i potražite željenu lokaciju.
- 2 Izaberite **Next** (Sledeće).

## Pregled provere pre obrade

Softver obavlja automatizovanu proveru sistema pre obrade. Tokom te provere na ekranu se pojavljuju sledeći indikatori:

- ▶ **Sivi** 🕒 **znak potvrde** – provera još uvek nije obavljena.
- ▶ **Ikona** 🔄 **napretka** – provera je u toku.
- ▶ **Zeleni** ✅ **znak potvrde** – provera je uspešno obavljena.
- ▶ **Crveni krstić** ❌ – provera nije uspeła. Za sve stavke koje ne prođu proveru neophodna je određena radnja pre nastavka. Pogledajte *Otklanjanje grešaka automatske provere na strani 44*.

Da biste zaustavili automatizovanu proveru pre obrade koja je u toku, izaberite dugme **Cancel** (Otkazi). Za ponovno pokretanje provere izaberite dugme **Retry** (Pokušaj ponovo). Provera se nastavlja od prve nedovršene ili neuspele provere.

Da biste prikazali rezultate svake pojedine provere u kategoriji, izaberite karticu Category (Kategorija). Ako instrument nije konfigurisan za automatsko pokretanje obrade, pokrenite obradu nakon završetka automatizovane provere pre obrade.

## Započnite skeniranje

Kada se završi automatska provera, izaberite **Start** (Pokreni). Skeniranje počinje.

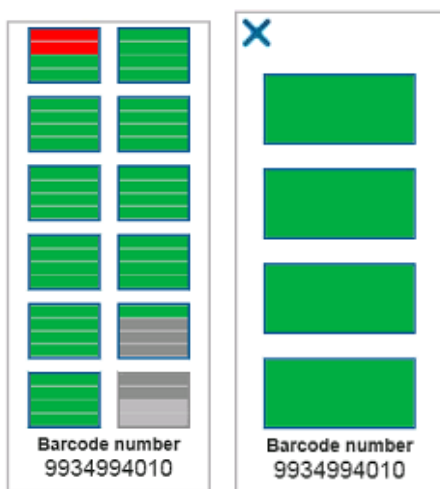
Da biste konfigurisali sistem da automatski pokrene skeniranje nakon uspešne provere, pročitajte *Postavljanje opcija podešavanja obrade na strani 13*.

## Praćenje napretka skeniranja

- 1 Pratite napredak skeniranja koristeći BeadChip sliku. Svaka boja na slici označava status skeniranja.
  - ▶ **Svetlo siva**—Nije skenirano
  - ▶ **Tamno siva**—Skenirano je ali nije registrovano.
  - ▶ **Zelena**—Uspešno skenirano i registrovano.
  - ▶ **Crveno**—Greška u skeniranju i registraciji.

Ako registracija ne uspe, možete ponovo skenirati uzorke koji sadrže neuspele delove. Pogledajte *BeadChip neuspelo skeniranje na strani 48*.
- 2 Izaberite BeadChip sliku da biste mogli da menjate izbor celog prikaza i prikaza detalja izabranog uzorka.
  - ▶ Pun prikaz prikazuje uzorke na BeadChip-u i delove unutar svakog uzorka.
  - ▶ Prikaz detalja prikazuje svaki deo u okviru izabranog uzorka.

**Slika 23** BeadChip slika: pun prikaz i prikaz detalja



**NAPOMENA** Prekidanje skeniranja je konačno. Ako prekinete skeniranje pre nego što se ono završi, podaci skeniranja se *neće* sačuvati.

## Prenos podataka

Podaci se stavljaju na čekanje za prenos u izlaznu fasciklu skeniranja kada se skeniranje završi. Podaci se privremeno upisuju u računar instrumenta. Privremena fascikla se automatski briše sa računara instrumenta kada se pokrene sledeće skeniranje.

Vreme potrebno za prenos podataka zavisi od vaše mrežne veze. Pre početka sledećeg skeniranja, vodite računa da su podaci upisani u izlaznu fasciklu. Da biste to proverili, uverite se da su GTC datoteke prisutne u fascikli sa bar kodom. Za više informacija, pogledajte *Struktura izlazne fascikle skeniranja na strani 63*.

Ako je veza prekinuta, prenos podataka će se automatski nastaviti kada se veza ponovo uspostavi. Svaka datoteka ima tajmer od 1 sata nakon što je stavljena u red za prenos u izlaznu fasciklu. Kada tajmer istekne ili ako se instrument ponovo pokrene pre nego što je prenos završen, podaci neće biti upisani u izlaznu fasciklu.



# Poglavlje 5 Održavanje

Uvod .....	35
Obavljanje ručnog ispiranja .....	35
Zamena filtera za vazduh .....	38
Softverska ažuriranja .....	39
Opcije ponovnog pokretanja i isključivanja .....	41

## Uvod

Postupci održavanja obuhvataju ručna ispiranja instrumenta i zamenu filtera za vazduh. Opisane su i mogućnosti isključivanja i ponovnog pokretanja instrumenta.

- ▶ **Ispiranja instrumenta** – Automatsko ispiranje nakon obrade nakon svake obrade sekvenciranjem održava radne performanse instrumenta. Međutim, povremeno je uz određene uslove neophodno ručno ispiranje. Pogledajte *Obavljanje ručnog ispiranja na strani 35*.
- ▶ **Zamena filtera za vazduh** – Redovna zamena filtera za vazduh osigurava pravilan protok vazduha kroz instrument.

## Preventivno održavanje

Illumina preporučuje da svake godine zakažete uslugu preventivnog održavanja. Ako nemate ugovor o servisiranju, obratite se regionalnom menadžeru za odnose sa korisnicima ili službi za tehničku podršku kompanije Illumina da biste dogovorili servisiranje za preventivno održavanje koje se plaća.

## Obavljanje ručnog ispiranja

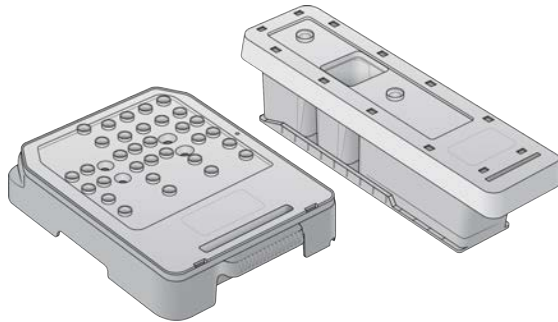
Ručna ispiranja se pokreću sa početnog ekrana. Opcije ispiranja obuhvataju brzo ispiranje i ručno ispiranje nakon obrade.

Vrste ispiranja	Opis
Quick Wash (Brzo ispiranje) Trajanje: 20 minuta	Ispira sistem rastvorom za ispiranje koji obezbeđuje korisnik, a koju čine voda laboratorijskog nivoa kvaliteta i Tween 20 (kertridž pufera za ispiranje). <ul style="list-style-type: none"><li>• Potrebno svakih 14 dana kad je instrument u mirovanju sa umetnutim kertridžom reagensa i kertridžom pufera.</li><li>• Potrebno svakih 7 dana kad je instrument u suvom stanju (kertridž reagensa i kertridž pufera su uklonjeni).</li></ul>
Manual Post-Run Wash (Ručno ispiranje nakon obrade) Trajanje: 90 minuta	Ispira sistem rastvorom za ispiranje koji obezbeđuje korisnik, a koju čine voda laboratorijskog nivoa kvaliteta i Tween 20 (kertridž pufera za ispiranje) i natrijum-hipohlorit koncentracije 0,12% (kertridž reagensa za ispiranje). Potrebno je ako nije obavljeno automatsko ispiranje nakon obrade.

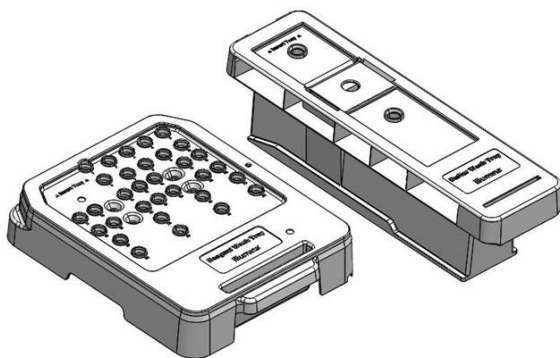
Za ručno ispiranje su potrebni kertridž reagensa za ispiranje i kertridž pufera za ispiranje koji se isporučuju uz instrument, kao i upotrebljena protočna ćelija. Upotrebljena protočna ćelija može da se upotrebi najviše 20 puta za ispiranje instrumenta.



Slika 24 Kertridž za ispiranje pufera u originalnom stilu i kertridž za ispiranje pufera.



Slika 25 Kertridž za ispiranje pufera u novom stilu i kertridž za ispiranje pufera.



## Priprema za ručno ispiranje nakon obrade

Odaberite pripremu za ručno ispiranje nakon obrade kao što je opisano u nastavku ili pripremu za brzo ispiranje (sledeći odeljak). Ako ste nameravali da obavite ručno ispiranje nakon obrade, preskočite odeljak o brzom ispiranju i pređite na *Umetanje upotrebljene protočne ćelije i kertridža za ispiranje na strani 38*.

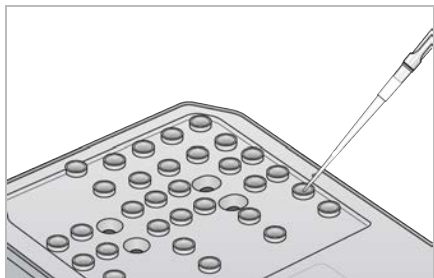
Potrošni materijal koji obezbeđuje korisnik	Volumen i opis
NaOCl	1 ml, razređen na 0,12% Stavljeno u kertridž reagensa za ispiranje (položaj br. 28)
100% Tween 20 Voda laboratorijskog nivoa kvaliteta	Upotrebljena za pravljenje 125 ml rastvora za ispiranje Tween 20 koncentracije 0,05% Stavljeno u kertridž pufera za ispiranje (srednji rezervoar)

**NAPOMENA** Uvek koristite sveži rastvor natrijum-hipohlorita (NaOCl) pripremljen u poslednja **24 sata**. Ako napravite zapreminu veću od 1 ml, sačuvajte preostali rastvor na temperaturi između 2° C i 8° C za upotrebu u sledeća 24 sata. U suprotnom, bacite preostali rastvor NaOCl.

- 1 Pomešajte sledeće zapremine u epruveti za mikrocentrifugu da biste dobili 1 ml natrijum-hipohlorita koncentracije 0,12%:
  - ▶ NaOCl (24 µl) koncentracije 5%
  - ▶ Voda laboratorijskog nivoa kvaliteta (976 µl)
- 2 Preokrenite epruvetu da biste promešali.

- 3 Dodajte 1 ml 0,12% natrijum-hipohlorita u kertridž reagensa za ispiranje. Odgovarajući rezervoar je ekvivalentan položaju br. **28** na unapred napunjenom kertridžu.

**Slika 26** Unos NaOCl



- 4 Kombinujte sledeće zapremine da biste dobili rastvor za ispiranje Tween 20 koncentracije 0,05%:  
Kertridž za ispiranje pufera u originalnom stilu
- ▶ 100% Tween 20 (62 µl)
  - ▶ Voda laboratorijskog nivoa kvaliteta (125 ml)
  - ▶ Dodajte 125 ml rastvora za ispiranje u srednji rezervoar kertridža pufera za ispiranje.
- Kertridž za ispiranje pufera u novom stilu
- ▶ 100% Tween 20 (75 µl)
  - ▶ Voda laboratorijskog nivoa kvaliteta (150 ml)
  - ▶ Dodajte 150 ml rastvora za ispiranje u srednji rezervoar kertridža pufera za ispiranje.
- 5 Izaberite **Perform Wash** (Obavi ispiranje), a zatim izaberite **Manual Post-Run Wash** (Ručno ispiranje nakon obrade).

## Priprema za brzo ispiranje

Možete da se pripremite za brzo ispiranje sledeći uputstva u nastavku kao alternativu postupku *Priprema za ručno ispiranje nakon obrade* na strani 36.

Potrošni materijal koji obezbeđuje korisnik	Volumen i opis
100% Tween 20 Voda laboratorijskog nivoa kvaliteta	Upotrebljena za pravljenje 40 ml rastvora za ispiranje Tween 20 koncentracije 0,05% Stavljeno u kertridž pufera za ispiranje (srednji rezervoar)

- 1 Kombinujte sledeće zapremine da biste dobili rastvor za ispiranje Tween 20 koncentracije 0,05%:
  - ▶ 100% Tween 20 (20 µl)
  - ▶ Voda laboratorijskog nivoa kvaliteta (40 ml)
- 2 Dodajte 40 ml rastvora za ispiranje u srednji rezervoar kertridža pufera za ispiranje.
- 3 Izaberite **Perform Wash** (Obavi ispiranje), a zatim **Quick Wash** (Brzo ispiranje).

## Umetanje upotrebijene protočne ćelije i kertridža za ispiranje

- 1 Ako nema upotrebijene protočne ćelije, umetnite upotrebijenu protočnu ćeliju. Izaberite **Load** (Unos), a zatim izaberite **Next** (Sledeće).
- 2 Uklonite kontejner za potrošene reagense i bacite sadržaj u otpad u skladu sa primenljivim standardima.



### UPOZORENJE

Ovaj skup reagensa sadrži potencijalno opasne hemikalije. Udisanje, gutanje, kontakt sa kožom i očima mogu dovesti do telesnih povreda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijski mantil odgovarajuće za opasnost od izlaganja. Iskorišćenim reagensima treba rukovati kao sa hemijskim otpadom i odložiti ih na otpad u skladu sa primenljivim regionalnim, nacionalnim i lokalnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoline, zdravlja i bezbednosti potražite u bezbednosno-tehničkom listu na veb-sajtu [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 3 Klizanjem umetnite prazan kontejner za potrošene reagense u odeljak za pufer dok se ne zaustavi.
- 4 Uklonite potrošeni kertridž pufera iz prethodne obrade ako je još umetnut.
- 5 Umetnite kertridž pufera za ispiranje koji sadrži rastvor za ispiranje.
- 6 Uklonite potrošeni kertridž reagensa iz prethodne obrade ako je još umetnut.
- 7 Umetnite kertridž reagensa za ispiranje.
- 8 Izaberite **Next** (Sledeće). Provera pre ispiranja se automatski pokreće.

## Pokretanje ispiranja

- 1 Izaberite **Start** (Počni).
- 2 Kada se ispiranje dovrši, izaberite **Home** (Početak).

## Nakon ispiranja

Nakon ispiranja dozatori ostaju u donjem položaju kako vazduh ne bi ušao u sistem. Ostavite kertridže gde jesu do sledeće obrade.

## Zamena filtera za vazduh

Novi sistemi se isporučuju sa tri rezervna filtera za vazduh. Treba ih skladištiti i koristiti kada instrument pošalje zahtev za zamenu filtera.

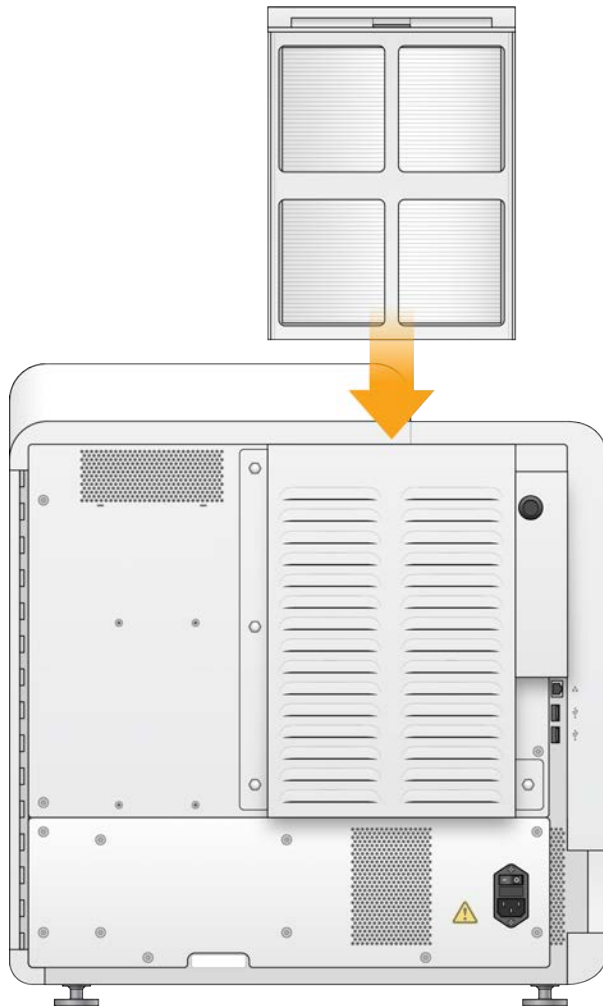
Filter za vazduh obezbeđuje protok vazduha kroz instrument. Softver prikazuje obaveštenje da je svakih 90 dana potrebno zameniti filter za vazduh. Kada se to od vas zatraži, izaberite **Remind in 1 day** (Podseti me za 1 dan) ili pratite postupak i izaberite **Filter Changed** (Filter je zamenjen). Odbrojavanje od 90 dana resetuje sledeći izbor **Filter Changed** (Filter je zamenjen).

- 1 Izvadite novi filter za vazduh iz pakovanja i na okviru filtera zabeležite datum kada ste ga postavili.
- 2 Na poleđini instrumenta pritisnite nadole vrh ležišta filtera da biste oslobodili ležište.
- 3 Prihvatite vrh ležišta za filter i povucite nagore da biste ležište potpuno podigli iz instrumenta.
- 4 Uklonite stari filter za vazduh i bacite ga u otpad.
- 5 Postavite novi filter za vazduh u ležište.

**NAPOMENA** Filter za vazduh ne funkcioniše pravilno ako je postavljen naopako. Pripazite da filter za vazduh umetnete u ležište tako da vidite zelenu strelicu „Up” (Gore), a da ne vidite nalepnicu sa upozorenjem. Strelica mora da bude usmerena prema ručici ležišta filtera.

- 6 Gurnite ležište filtera u instrument. Gurnite vrh ležišta filtera nadole dok ne klikne na mesto.

**Slika 27** Umetanje filtera za vazduh




## Softverska ažuriranja

Ažuriranja softvera su upakovana u paket softvera pod nazivom Sistem Suite, koji uključuje sledeći softver:

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

Možete instalirati ažuriranja softvera automatski koristeći internet vezu ili ručno sa mreže ili USB lokacije.

- ▶ **Automatska ažuriranja**—Za instrumente povezane na mrežu sa pristupom internetu, pojavljuje se ikona upozorenja  na dugmetu Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) na početnom ekranu kada je ažuriranje dostupno.
- ▶ **Ručna ažuriranja**—Preuzmite instalacioni program Sistem Suite sa [stranice za podršku za NextSeq 550Dx instrumente](#) na Illumina veb-sajtu.

## Automatsko ažuriranje softvera

- 1 Izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Izaberite **Software Update** (Ažuriranje softvera).
- 3 Izaberite **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Instalirajte ažuriranje koje je već preuzeto sa BaseSpace-a).
- 4 Izaberite **Update** (Ažuriranje) da započnete ažuriranje. Otvara se okvir za dijalog za potvrdu komande.
- 5 Pratite uputstva u čarobnjaku za instalaciju:
  - a Prihvatite ugovor o licenciranju.
  - b Pregledajte beleške o izdanju.
  - c Pregledajte listu softvera uključenog u ažuriranje.

Kada se ažuriranje završi, kontrolni softver se automatski ponovno pokreće.

**NAPOMENA** Ako je uključeno ažuriranje firmvera, potrebno je automatsko ponovno pokretanje sistema nakon ažuriranja firmvera.

## Ručno ažuriranje softvera

- 1 Preuzmite instalacioni program Sistem Suite sa veb-sajtu Illumina i sačuvajte ga na mrežnoj lokaciji. Alternativno, kopirajte datoteku za instalaciju softvera na prenosivi USB disk.
- 2 Izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 3 Izaberite **Software Update** (Ažuriranje softvera).
- 4 Izaberite **Manually install the update from the following location** (Ručno instalirajte ažuriranje sa sledeće lokacije).
- 5 Izaberite **Browse** (Pregled) da biste došli do lokacije instalacione datoteke softvera, a zatim izaberite **Update** (Ažuriraj).
- 6 Pratite uputstva u čarobnjaku za instalaciju:
  - a Prihvatite ugovor o licenciranju.
  - b Pregledajte beleške o izdanju.
  - c Pregledajte listu softvera uključenog u ažuriranje.

Kada se ažuriranje završi, kontrolni softver se automatski ponovno pokreće.

**NAPOMENA** Ako je uključeno ažuriranje firmvera, potrebno je automatsko ponovno pokretanje sistema nakon ažuriranja firmvera.

## Opcije ponovnog pokretanja i isključivanja

Pristupite sledećim funkcijama izborom dugmeta Reboot / Shutdown (Ponovno pokretanje / isključivanje):

- ▶ Reboot to RUO (Ponovno pokretanje u režimu RUO) – Instrument se pokreće u istraživačkom režimu.
- ▶ Restart (Restartovanje) – Instrument se pokreće u dijagnostičkom režimu.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Ponovno pokretanje u režimu Dx iz režima RUO) – Instrument se pokreće u dijagnostičkom režimu.
- ▶ Shutdown (Isključivanje) – Kad se ponovno uključi, instrument će se pokrenuti u dijagnostičkom režimu.
- ▶ Exit to Windows (Izlaz u Windows) – U zavisnosti od dozvola možete da zatvorite NOS i prikazete Windows.

## Restartovanje u dijagnostičkom režimu

Pomoću naredbe Restart isključite instrument na bezbedan način i ponovno ga pokrenite u dijagnostičkom režimu. Dijagnostički režim je podrazumevani režim pokretanja sistema.

- 1 Izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Izaberite **Reboot / Shutdown** (Ponovno pokretanje/isključivanje).
- 3 Izaberite **Restart** (Restartovanje).

## Isključivanje instrumenta

- 1 Izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Izaberite **Reboot / Shutdown** (Ponovno pokretanje/isključivanje).
- 3 Izaberite **Shutdown** (Isključivanje).

Naredbom Shutdown (Isključi) sigurno se isključuju softver i napajanje instrumenta. Sačekajte barem 60 sekundi pre ponovnog uključivanja instrumenta.

**NAPOMENA** Instrument se prilikom pokretanja podrazumevano ponovo pokreće u dijagnostičkom režimu.



### OPREZ

*Nemojte* premeštati instrument. Nepravilno premeštanje instrumenta može da utiče na optičko poravnanje i da ugrozi celovitost podataka. Ako morate da premestite instrument, obratite se predstavniku kompanije Illumina.

## Exit to Windows (Izlaz u Windows)

Naredba Exit to Windows (Izlaz u Windows) omogućava pristup operativnom sistemu instrumenta i bilo kojoj fascikli na računaru instrumenta. Ova naredba na bezbedan način isključuje softver i izlazi u Windows. Samo korisnik sa pravima administratora može da izađe u Windows.

- 1 Izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Izaberite **Reboot / Shutdown** (Ponovno pokretanje/isključivanje).
- 3 Izaberite **Exit to Windows** (Izlaz u Windows).



# Dodatak A Otklanjanje problema

Uvod .....	43
Otklanjanje problema sa datotekama .....	43
Otklanjanje grešaka automatske provere .....	44
Kontejner za potrošene reagense je pun .....	46
Tok rada ponovne hibridizacije .....	46
BeadChip i greške u skeniranju .....	48
Prilagođeni recepti i fascikle sa receptima .....	49
Poruka o RAID grešci .....	50
Konfigurisanje podešavanja sistema .....	50

## Uvod

Ako imate problema sa kvalitetom obrade ili radnim performansama, obratite se službi za tehničku podršku kompanije Illumina. Pogledajte *Tehnička pomoć na strani 69*.

## Otklanjanje problema sa datotekama

Predstavnik službe za tehničku podršku kompanije Illumina može da zatraži kopije datoteka specifičnih za obradu ili skeniranje radi otklanjanja problema. Obično se prilikom otklanjanja problema koriste sledeće datoteke.

## Otklanjanje problema sa datotekama za obrade sekvenciranjem

Ključna datoteka	Fascikla	Opis
Datoteka sa informacijama o obradi (RunInfo.xml)	Osnovna fascikla	Sadrži sledeće informacije: <ul style="list-style-type: none"><li>• naziv obrade</li><li>• broj ciklusa u obradi</li><li>• broj ciklusa u svakom očitavanju</li><li>• da li je očitavanje indeksirano</li><li>• broj traka i pločica u protočnoj ćeliji</li></ul>
Datoteka parametara obrade (RunParameters.xml)	Osnovna fascikla	Sadrži informacije o parametrima i komponentama obrade. Među tim informacijama su RFID, serijski broj, broj dela i datum isteka roka trajanja.
Datoteka RTA konfiguracije (RTAConfiguration.xml)	Osnovna fascikla	Sadrži podešavanja RTA konfiguracije za obradu. Datoteka RTAConfiguration.xml se pravi na početku obrade.
Datoteke o internim operacijama (*.bin)	InterOp	Binarne datoteke za izveštavanje. Datoteke o internim operacijama se ažuriraju tokom obrade.
Datoteke evidencije	Evidencija	U datotekama evidencije opisuje se svaki korak koji instrument izvodi u svakom ciklusu te se navode verzije softvera i firmvera korišćene za obradu. Datoteka pod imenom [InstrumentName]_CurrentHardware.csv navodi serijske brojeve komponenta instrumenta.
Datoteke evidencije grešaka (*ErrorLog*.txt)	RTA evidencija	Evidencija RTA grešaka. Datoteke evidencije greška se ažuriraju svaki put kad se pojavi greška.
Globalne datoteke evidencije (*GlobalLog*.tsv)	RTA evidencija	Evidencija svih RTA događaja. Globalne datoteke evidencije se ažuriraju tokom obrade.
Datoteke evidencije putanja (*LaneLog*.txt)	RTA evidencija	Evidencija događaja obrade koju obavlja RTA. Datoteke evidencije putanja se ažuriraju tokom obrade.



## RTA greške

Da biste otklonili RTA greške, prvo proverite evidenciju RTA grešaka koja se čuva u fascikli RTALogs (RTA evidencija). Kod uspešnih obrada nema te datoteke. Prilikom prijave problema službi za tehničku podršku kompanije Illumina priložite evidenciju grešaka.

## Datoteke za otklanjanje problema za skeniranje nizova

Ključna datoteka	Fascikla	Opis
Datoteka parametara skeniranja (ScanParameters.xml)	Osnovna fascikla	Sadrži informacije o parametrima skeniranja. Informacije uključuju datum skeniranja, BeadChip bar kod, lokaciju klaster datoteke i lokaciju datoteke manifesta.
Datoteke evidencije	Evidencija	Datoteke evidencije opisuju svaki korak izvršen na instrumentu tokom skeniranja.
Metričke datoteke	[Bar kod]	Metrički podaci su obezbeđeni kao metrički podaci uzorka i metrički podaci odeljka. <b>[barcode]_sample_metrics.csv</b> — Za svaki uzorak i kanal (crveni i zeleni), navode se Percent Off Image (Procenat isključene slike), Percent Outliers (Procenat vrednosti izvan raspona), P05, P50, P95, Avg FWHM Avg, FWHM Stddev, i Min Registration Score (Minimalni skor za registraciju). <b>[barcode]_section_metrics.csv</b> — Za svaki odeljak i pločicu, navode se Laser Z-position (Z-položaj lasera), Through Focus Z-position (Z-položaj 3D fokusa), Red FWHM (Crveni FWHM), Green FWHM (Zeleni FWHM), Red Avg Pixel Intensity (Prosečan intenzitet crvenih piksela), Green Avg Pixel Intensity (Prosečan intenzitet zelenih piksela), Red Registration Score (Crveni skor za registraciju), i Green Registration Score (Zeleni skor za registraciju).
Datoteka ponovnog skeniranja	[Bar kod]	<b>[barcode]_rescan.flowcell</b> — [barcode]_rescan.flowcell— Navodi lokacije pločica prilagođene za ponovno skeniranje, koje uključuju povećano preklapanje pločica na pločicu.

## Otklanjanje grešaka automatske provere

Ako se tokom automatske provere pojave greške, otklonite grešku pomoću sledećih preporučenih radnji.

### Provere za cikluse sekvenciranja

Ako provera pre obrade ne uspe, RFID kertridža reagensa nije zaključan i može da se upotrebi u narednoj obradi. Međutim, RFID-ovi protočne ćelije, kertridža za reagens i kertridža pufera biće zaključani tokom inicijalizacije kontrolnog softvera, što može biti potrebno da bi se otklonila greška. Korisnik mora ukloniti protočnu ćeliju, kertridž sa reagensom i pufer kertridž iz instrumenta pre ponovnog pokretanja sistema. Pored toga, RFID-ovi potrošnih materijala se zaključavaju nakon što su zaptivke od folije probušene. Kada softver pročita RFID protočne ćelije, pokreće se tajmer od 7 sati pre nego što se protočna ćelija može smatrati zaključanom i neupotrebljivom.

Provere sistema	Preporučena radnja
Vrata zatvorena	Proverite da li su vrata odeljaka zatvorena.
Umetnut potrošni materijal	Senzori za potrošni materijal ga nisu registrovali. Proverite da li je svaki potrošni materijal pravilno umetnut. Na ekranima za podešavanje obrade izaberite <b>Back</b> (Nazad) da biste se vratili na korak umetanja i ponovite podešavanje obrade.
Obavezan softver	Nedostaju kritične komponente softvera. Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.

Provere sistema	Preporučena radnja
Prostor na disku instrumenta	Na hard disku instrumenta nema dovoljno prostora za obavljanje obrade. Podaci iz prethodne obrade možda nisu preneseni. Očistite podatke o obradi sa hard diska instrumenta.
Mrežna veza	Mrežna veza je prekinuta. Proverite status mreže i fizičku mrežnu vezu.
Prostor na mrežnom disku	Mrežni server je pun.
Temperatura	Preporučena radnja
Temperatura	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Senzori temperature	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Ventilatori	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Sistem za snimanje	Preporučena radnja
Ograničenja snimanja	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Z Steps-and-Settle	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Brzina greške u bitovima	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Registracija protočne ćelije	Protočna ćelija možda nije pravilno nameštena. <ul style="list-style-type: none"> <li>Na ekranima za podešavanje obrade izaberite <b>Back</b> (Nazad) da biste se vratili na korak podešavanja protočne ćelije. Otvaraju se vrata odeljka za snimanje.</li> <li>Izvadite i ponovo umetnite protočnu ćeliju da biste se uverili da je dobro nameštena.</li> </ul>
Dotok reagensa	Preporučena radnja
Odziv ventila	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Pumpa	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Mehanizam pufera	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Pražnjenje potrošenih reagenasa	Ispraznite kontejner za potrošene reagense i ponovno postavite prazan kontejner.

## Provere skeniranja nizova

Provere sistema	Preporučena radnja
Vrata zatvorena	Proverite da li su vrata odeljaka zatvorena.
Umetnut potrošni materijal	Senzori za potrošni materijal ga nisu registrovali. Proverite da li su svi potrošni materijali pravilno umetnuti. Na ekranima za podešavanje obrade izaberite <b>Back</b> (Nazad) da biste se vratili na korak umetanja i ponovite podešavanje obrade.
Obavezan softver	Nedostaju kritične komponente softvera. Obavite ručno ažuriranje softvera da biste vratili sve komponente softvera u prethodno stanje.
Verifikujte ulazne datoteke	Uverite se da je putanja do datoteke klastera i datoteke manifesta ispravna i da su datoteke prisutne.
Prostor na disku instrumenta	Na hard disku instrumenta nema dovoljno prostora za obavljanje obrade. Podaci iz prethodne obrade možda nisu preneseni. Očistite podatke o obradi sa hard diska instrumenta.
Mrežna veza	Mrežna veza je prekinuta. Proverite status mreže i fizičku mrežnu vezu.
Prostor na mrežnom disku	BaseSpace nalog je pun ili je mrežni server pun.

Sistem za snimanje	Preporučena radnja
Ograničenja snimanja	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Z Steps-and-Settle	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Brzina greške u bitovima	Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina.
Automatsko centriranje	Izvadite BeadChip adapter Uverite se da je BeadChip postavljen u adapter, a zatim ponovo umetnite adapter.

## Kontejner za potrošene reagense je pun

Uvek započnite obradu sa praznim kontejnerom za potrošene reagense.

Ako počnete obradu a da pre toga niste ispraznili kontejner za potrošene reagense, senzori sistema govore softveru da pauzira obradu kad se kontejner potpuno napuni. Senzori sistema ne mogu da pauziraju obradu tokom stvaranja klastera, ponovne sinteze uparenih krajeva ili automatskog ispiranja nakon obrade.

Kad se obrada pauzira, otvara se dijalog sa opcijama podizanja dozatora i pražnjenja punog kontejnera.

## Pražnjenje kontejnera za potrošene reagense

- 1 Izaberite **Raise Sippers** (Podigni dozatore).
- 2 Uklonite kontejner za potrošene reagense i na odgovarajući način bacite njegov sadržaj u otpad.
- 3 Vratite prazan kontejner u odeljak za pufer.
- 4 Izaberite **Continue** (Nastavi). Obrada se automatski nastavlja.

## Tok rada ponovne hibridizacije

Pokretanje ponovne hibridizacije može biti neophodno ako metrički podaci generisani tokom prvih nekoliko ciklusa pokazuju intenzitete ispod 2500. Neke biblioteke niskog diverziteta mogu pokazivati intenzitete ispod 1000, što je očekivano i ne može se rešiti ponovnom hibridizacijom.

**NAPOMENA** Komanda End Run (Završetak obrade) je konačna. Obrada se ne može nastaviti, potrošni materijal za obradu se ne može ponovo koristiti, a podaci o sekvenciranju iz obrade se ne čuvaju.

Kada završite obradu, softver obavlja sledeće korake pre nego što se obrada završi:

- ▶ Postavlja protočnu ćeliju u bezbedno stanje.
- ▶ Otključava RFID protočne ćelije za kasniju obradu.
- ▶ Dodeljuje datum isteka ponovne hibridizacije protočnoj ćeliji.
- ▶ Beleži evidenciju obrade za završene cikluse. Kratak zastoj je normalan.
- ▶ Zaobilazi automatsko ispiranje nakon obrade.

Kada započnete ciklus ponovne hibridizacije, softver preduzima sledeće korake da bi izvršio ciklus:

- ▶ Kreira fasciklu ciklusa na osnovu jedinstvenog naziva ciklusa.
- ▶ Proverava da datum ponovne hibridizacije protočne ćelije nije istekao.
- ▶ Primuje reagense. Kratak zastoj je normalan.
- ▶ Preskače korak generisanja klastera.

- ▶ Uklanja prajmer prethodnog Očitavanja 1.
- ▶ Hibridizuje svež prajmer Očitavanja 1.
- ▶ Nastavlja se kroz Očitavanje 1 i ostatak obrade na osnovu specifikovanih parametara obrade.

## Tačke za završetak obrade za ponovnu hibridizaciju

Kasnija ponovna hibridizacija je moguća samo ako završite obradu na sledećim tačkama:

- ▶ **Posle ciklusa 5**—Intenziteti se pojavljuju nakon registracije šablona, što zahteva prvih 5 ciklusa sekvenciranja. Iako je bezbedno završiti obradu posle ciklusa 1, preporučuje se završetak posle ciklusa 5. Nemojte završavati obradu tokom generisanja klastera.
- ▶ **Read 1 (Očitavanje 1) ili Index 1 Read (Očitavanje indeksa 1)**—Završite obradu *pre* početka ponovne sinteze uparenih krajeva. Protočna ćelija se ne može sačuvati za kasniju ponovnu hibridizaciju nakon što započne ponovna sinteza uparenih krajeva.

## Potreban potrošni materijal

Pokretanje ponovne hibridizacije zahteva novi NextSeq 550Dx kertridž sa reagensom i pufer kertridž bez obzira na to kada je obrada zaustavljena.

## Završetak trenutne obrade

- 1 Izaberite **End Run** (Završetak obrade). Kada se od vas zatraži da potvrdite komandu, izaberite **Yes** (Da).
- 2 Kada se od vas zatraži da sačuvate protočnu ćeliju, izaberite **Yes** (Da). Obratite pažnju na datum isteka za ponovnu hibridizaciju.
- 3 Uklonite sačuvanu protočnu ćeliju i ostavite je na temperaturi od 2°C do 8°C dok ne budete spremni da podesite ciklus ponovne hibridizacije.

**NAPOMENA** Protočnu ćeliju možete čuvati do 7 dana na 2°C do 8°C u plastičnoj preklopnoj kutiji **bez** pakovanja sredstva za sušenje. Za najbolje rezultate, izvršite ponovnu hibridizaciju sačuvane protočne ćelije u roku od 3 dana.

## Obavljanje ručnog ispiranja

- 1 Na početnom ekranu izaberite **Perform Wash** (Izvrši ispiranje).
- 2 Na ekranu Wash Selection (Izbor ispiranja) izaberite **Manual Post-Run Wash** (Ručno ispiranje posle obrade). Pogledajte *Obavljanje ručnog ispiranja na strani 35*.

**NAPOMENA** Ako niste uklonili kertridž sa reagensom i pufer kertridž iz zaustavljenog ciklusa obrade, možete ih koristiti za ručno ispiranje. U suprotnom, izvršite ručno ispiranje sa kertridžom za ispiranje reagensa i kertridžom za ispiranje pufera.

## Podesite novu obradu na kartici BaseSpace Prep

- 1 Ako je instrument konfigurisan za BaseSpace ili BaseSpace Onsite, podesite novu obradu na kartici Prep (Priprema) koristeći iste parametre kao i prilikom prvobitne obrade.

**NASTAVAK** Kliknite na karticu Pools (Skupovi), izaberite odgovarajući ID skupa da biste zadržali postavke prethodne obrade, a zatim dodelite jedinstveno ime za novu obradu.

## Podesite ciklus obrade na instrumentu

- 1 Pripremite novi kertridž za reagens.
- 2 Ako je sačuvana protočna ćelija skladištena, ostavite je da dostigne sobnu temperaturu (15–30 minuta).
- 3 Očistite i postavite sačuvanu protočnu ćeliju.
- 4 Uklonite kontejner za potrošene reagense i odložite njegov sadržaj na propisani način a zatim ponovo postavite prazan kontejner.
- 5 Postavite novi pufer kertridž i kertridž sa reagensom.
- 6 Na ekranu Run Setup (Podešavanje obrade) izaberite neku od sledećih opcija:
  - ▶ **BaseSpace ili BaseSpace Onsite**—Izaberite obradu i potvrdite parametre obrade.
  - ▶ **Standalone**—Unesite naziv obrade i navedite iste parametre kao i prilikom prvobitne obrade.
- 7 Izaberite **Next** (Sledeće) da pređete na proveru pre obrade i započnete obradu.

## BeadChip i greške u skeniranju

### Softver ne može da pročita BeadChip bar kod

Kada se pojavi dijalog o grešci sa bar kodom, izaberite neku od sledećih opcija:

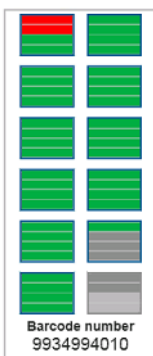
- ▶ Izaberite **Rescan** (Ponovno skeniranje). Softver ponovo pokušava da pročita bar kod.
- ▶ Izaberite polje za tekst i unesite numerički bar kod kao što je prikazano na slici. U zavisnosti od BeadChip-a, brojevi bar kodova imaju do 12 cifara. Izaberite **Save** (Sačuvaj). Slika bar koda se čuva u izlaznoj fascikli.
- ▶ Izaberite **Cancel** (Otkazi). Vrata odeljka za snimanje se otvaraju da bi se izvadio BeadChip adapter.

### BeadChip neuspelo skeniranje

Slike se registruju nakon što su skenirane. Registracija identifikuje zrnca tako što korelira lokacije na skeniranoj slici sa informacijama datim u mapi zrnaca ili fascikli DMAP.

Delovi koji nisu registrovani označeni su crvenom bojom na BeadChip slici.

Slika 28 BeadChip pokazuje neuspele odeljke



Nakon što je skeniranje završeno i podaci o skeniranju su upisani u izlaznu fasciklu, dugme Rescan (Ponovo skeniranje) postaje aktivno.

Kada se pokrene novo skeniranje, softver izvršava sledeće korake:

- ▶ Ponovo se skeniraju uzorci koji sadrže neuspele delove korišćenjem povećanog preklapanja "pločica na pločicu".
- ▶ Generišu se izlazne datoteke u originalnoj izlaznoj fascikli.
- ▶ Ponovo se vrši upis neuspehlih odeljaka u prethodnim izlaznim datotekama.
- ▶ Brojač skeniranja se povećava za 1 za svako ponovno skeniranje, ali to čini u pozadini. Softver ne vrši preimenovanje izlazne fascikle.

## Ponovno skeniranje ili početak novog skeniranja

- 1 Izaberite **Rescan** (Ponovno skeniranje) da biste skenirali uzorke koji sadrže neuspele odeljke.
- 2 Ako je skeniranje i dalje neuspešno, završite skeniranje.
- 3 Uklonite BeadChip i adapter i pregledajte da li BeadChip sadrži prašinu ili ostatke. Koristite konzervirani vazduh ili drugu metodu čišćenja prašine komprimovanim vazduhom da biste očistili ostatke.
- 4 Ponovo učitajte BeadChip i započnite novo skeniranje.  
Kada se pokrene novo skeniranje, softver izvršava sledeće korake:
  - ▶ Skenira se ceo BeadChip.
  - ▶ Generišu se izlazne datoteke u novoj izlaznoj fascikli.
  - ▶ Brojač skeniranja se povećava za 1 na osnovu broja skenova prilikom poslednjeg ponovnog skeniranja.

## Zamenite datoteke manifesta i datoteke klastera

- 1 Posetite Illumina stranicu za podršku ([support.illumina.com](http://support.illumina.com)) za BeadChip koji koristite, i kliknite na karticu **Downloads** (Preuzimanje).
- 2 Preuzmite datoteke koje treba zameniti ili ažurirati i kopirajte datoteke na željenu mrežnu lokaciju.

**NAPOMENA** Vodite računa da ste izabrali datoteke manifesta i klastera koje su kompatibilne sa NextSeq 550Dx instrument sistemom. Kompatibilne datoteke sadrže **NS550** u nazivu.

- 3 Samo ako se lokacija promenila, ažurirajte lokaciju na ekranu BeadChip Scan Configuration, na sledeći način:
  - a Sa NCS početnog ekrana izaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
  - b Izaberite **System Configuration** (Konfiguracija sistema).
  - c Izaberite **BeadChip Scan Configuration** (Konfiguracija BeadChip skeniranja).
- 4 Izaberite **Browse** (Pregled) i idite do lokacije zamenjenih ili ažuriranih datoteka.

## Prilagođeni recepti i fascikle sa receptima

Nemojte menjati originalne recepte. Uvek napravite kopiju originalnog recepta sa novim imenom. Ako je originalni recept izmenjen, program za ažuriranje softvera više neće moći da prepozna recept za kasnija ažuriranja, a novije verzije se ne instaliraju.

Čuvajte prilagođene recepte u odgovarajućoj fascikli sa receptima. Fascikle sa receptima su organizovane na sledeći način.

- 📁 **Custom (Prilagođeni recepti)**
  - 📁 **High (Visoko)**—Prilagođeni recepti koji se koriste sa kompletom visoke propusnosti.
  - 📁 **Mid (Srednje)**—Prilagođeni recepti koji se koriste sa kompletom srednje propusnosti.
  - 📁 **High (Visoko)**—Originalni recepti koji se koriste sa kompletom visoke propusnosti.
  - 📁 **Mid (Srednje)**—Originalni recepti koji se koriste sa kompletom srednje propusnosti.
  - 📁 **Wash (Ispiranje)**—Sadrži recept za ručno ispiranje.

## Poruka o RAID grešci

Računar instrumenta NextSeq 550Dx je opremljen sa četiri hard diska, dva za dijagnostički režim i dva za istraživački režim. Ako hard disk počne da otkazuje, sistem generiše poruku o RAID grešci i predlaže da se obratite službi za tehničku podršku kompanije Illumina. Obično je potrebno zameniti hard disk.

Možete da nastavite sa koracima podešavanja obrade i normalnim radom. Svrha ove poruke je zakazivanje servisa unapred kako bi se izbegli prekidi u normalnom radu instrumenta. Upozorenje za RAID može da potvrdi samo administrator. Korišćenje instrumenta samo sa jednim hard diskom može dovesti do gubitka podataka.

## Konfigurisanje podešavanja sistema

Sistem se konfigurise tokom instalacije. Međutim, ako nešto mora da se promeni ili sistem mora ponovo da se konfigurise, koristite opcije konfigurisanja sistema. Samo administratorski nalog operativnog sistema Windows ima dozvolu da pristupi opcijama konfiguracije sistema.

- ▶ **Network Configuration** (Podešavanje mreže) – Pruža opcije za podešavanja IP adrese, adrese servera imena domena (DNS), imena računara i imena domena.

## Podešavanje konfiguracije mreže

- 1 Na ekranu „Manage Instrument” (Upravljanje instrumentom) izaberite **System Configuration** (Konfiguracija sistema).
- 2 Izaberite **Obtain an IP address automatically** (Automatski pribavi IP adresu) da biste pribavili IP adresu pomoću DHCP servera.

**NAPOMENA** Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP, Protokol za dinamičku konfiguraciju glavnog računara) je standardni mrežni protokol koji se upotrebljava na IP mrežama za dinamičku raspodelu mrežnih konfiguracionih parametara.

Možete i da izaberete **Use the following IP address** (Upotrebi sledeću IP adresu) da biste na sledeći način ručno povezali instrument sa drugim serverom. Da biste saznali koje adrese pripadaju baš vašoj ustanovi, obratite se administratoru mreže.

- ▶ Unesite IP adresu. IP adresa je niz od 4 broja odvojenih tačkama, na primer, 168.62.20.37.
  - ▶ Unesite masku podmreže, što je dalja podela IP mreže.
  - ▶ Unesite podrazumevani mrežni prolaz, što je ruter na mreži koji povezuje na internet.
- 3 Izaberite **Obtain a DNS server address automatically** (Automatski pribavi adresu DNS servera) da biste instrument povezali sa serverom imena domena povezanim sa tom IP adresom.

Možete i da izaberete **Use the following DNS server addresses** (Upotrebi sledeće adrese DNS servera) da biste instrument na sledeći način ručno povezali sa serverom imena domena.

- ▶ Unesite željenu DNS adresu. DNS adresa je ime servera koje se koristi za prevođenje naziva domena u IP adrese.
- ▶ Unesite rezervnu DNS adresu. Rezervna adresa se upotrebljava ako željeni DNS ne može da prevede određeno ime domena u IP adresu.

4 Izaberite **Save** (Sačuvaj) da biste prešli na ekran „Computer” (Računar).

**NAPOMENA** Naziv računara instrumenta dodeljen je računaru instrumenta u trenutku proizvodnje. Svaka promena naziva računara može da utiče na mogućnosti povezivanja i zahteva intervenciju administratora mreže.

5 Povežite računar instrumenta sa domenom ili radnom grupom na sledeći način.

- ▶ **Za instrumente povezane sa internetom** – Izaberite **Member of Domain** (Član domena), pa unesite ime domena povezano sa internet vezom u vašoj ustanovi. Za promene na nivou domena neophodni su korisničko ime i lozinka administratora.
- ▶ **Za instrumente koji nisu povezani sa internetom** – Izaberite **Member of Work Group** (Član radne grupe), pa unesite naziv radne grupe. Naziv radne grupe je jedinstven u vašoj ustanovi.

6 Izaberite **Save** (Sačuvaj).

## Podešavanje konfiguracije analize

1 Na ekranu Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) izaberite **System Configuration** (Konfiguracija sistema).

2 Izaberite **Analysis Configuration** (Konfiguracija analize).

3 Izaberite neku od sledećih opcija da biste odredili lokaciju na koju će se podaci preneti za naknadnu analizu.

- ▶ Izaberite **BaseSpace** za slanje podataka o sekvenciranju u Illumina BaseSpace. **[Opciono]** Označite polje za potvrdu **Output Folder** (Izlazna fascikla), izaberite **Browse** (Pregled), i idite do sekundarne mrežne lokacije da biste sačuvali BCL datoteke pored BaseSpace-a.
- ▶ Izaberite **BaseSpace Onsite**. U polje Server Name (Ime servera) unesite punu putanju do vašeg BaseSpace Onsite servera. **[Opciono]** Označite polje za potvrdu **Output Folder** (Izlazna fascikla), izaberite **Browse** (Pregled), i idite do sekundarne mrežne lokacije da biste sačuvali BCL datoteke pored BaseSpace Onsite servera.
- ▶ Izaberite **Standalone instrument** (Samostalni instrument) da biste sačuvali podatke samo na mrežnoj lokaciji. Izaberite **Browse** (Pregled) da biste došli do željene mrežne lokacije. Kontrolni softver automatski generiše naziv izlazne fascikle.
  - ▶ **[Opciono]** Izaberite **Use Run Monitoring** (Primeni praćenje obrade) da biste pratili obradu pomoću alata za vizuelizaciju na BaseSpace-u. Potrebna je BaseSpace prijava i internet veza.

4 Ako ste izabrali BaseSpace ili BaseSpace Onsite, podesite BaseSpace parametre na sledeći način.

- ▶ Unesite BaseSpace **korisničko ime i lozinku** da biste registrovali instrument kod BaseSpace-a.
- ▶ Izaberite **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Koristi podrazumevanu prijavu i zaobiđi ekran za prijavu na BaseSpace) da biste postavili registrovano korisničko ime i lozinku kao podrazumevani način prijave. Ova postavka zaobilazi ekran BaseSpace tokom podešavanja ciklusa obrade.



- 5 Izaberite **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Slanje podataka o radu instrumenta kompaniji Illumina) (Slanje podataka o stanju instrumenta kompaniji Illumina) da biste omogućili uslugu proaktivnog praćenja kompanije Illumina. Naziv podešavanja u interfejsu softvera možda će se razlikovati od naziva u ovom vodiču, u zavisnosti od verzije NCS-a koja se upotrebljava. Dok je to podešavanje uključeno, podaci o radu instrumenta šalju se kompaniji Illumina. Na osnovu tih podataka Illumina lakše otklanja poteškoće i prepoznaje potencijalne greške, što omogućava proaktivno održavanje i smanjenje na minimum praznog hoda instrumenta. Više informacija o prednostima ove usluge pogledajte u odeljku *Illumina Proactive Technical Note (Tehnička napomena o usluzi Illumina Proactive)* (br. dokumenta 1000000052503).
- Ova usluga:
- ▶ ne šalje podatke o sekvenciranju
  - ▶ ne zahteva da instrument bude povezan na mrežu sa pristupom internetu
  - ▶ Podrazumevano je isključena. Da biste izabrali korišćenje ove usluge, omogućite podešavanje **Send instrument health information to Illumina** (Slanje podataka o stanju instrumenta kompaniji Illumina).
- 6 Izaberite **Save** (Sačuvaj).

## Konfiguracija BeadChip skeniranja

- 1 Na ekranu Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) izaberite **System Configuration** (Konfiguracija sistema).
- 2 Izaberite **BeadChip Scan Configuration** (Konfiguracija BeadChip skeniranja).
- 3 Da biste odredili podrazumevanu lokaciju DMAP fascikle, izaberite **Browse** (Pregled) i idite do željene lokacije fascikle na mreži vašeg objekta.  
  
**NAPOMENA** Pre svakog skeniranja, preuzmite i kopirajte DMAP sadržaj na ovu lokaciju. DMAP sadržaj je neophodan za svaki BeadChip i jedinstven je za svaki BeadChip bar kod.
- 4 Da biste odredili podrazumevanu izlaznu lokaciju, izaberite **Browse** (Pregled) i idite do željene lokacije na mreži vašeg objekta.
- 5 Izaberite format datoteke slike za sačuvane slike. Podrazumevani tip slike je **JPG**.
- 6 Izaberite format izlazne datoteke za podatke skeniranja. Podrazumevani tip izlazne datoteke je **samo GTC**.
- 7 Izaberite **Save** (Sačuvaj).
- 8 Na ekranu Scan Map (Mapa skeniranja) navedite punu putanju do datoteke manifesta i datoteke klastera za svaki tip BeadChip-a. Izaberite **Browse** (Pregled) za svaki tip datoteke i idite do lokacije fascikle koja sadrži ove datoteke.
- 9 **[Opciono]** Izaberite **Hide Obsolete BeadChips** (Sakrij zastarele BeadChip-ove) da biste uklonili zastarele BeadChip-ove iz prikaza.
- 10 Izaberite **Save** (Sačuvaj).

# Dodatak B Softver Real-Time Analysis

Pregled softvera Real-Time Analysis .....	53
Tok rada softvera Real-Time Analysis .....	54

## Pregled softvera Real-Time Analysis

Instrument NextSeq 550Dx upotrebljava implementaciju softvera Real-Time Analysis (RTA) pod nazivom RTA2. RTA2 se pokreće na računaru instrumenta i izdvaja intenzitete sa slika, obavlja određivanje očitanih baza i određivanju očitanih baza dodeljuje ocenu kvaliteta. RTA2 i operativni softver komuniciraju preko HTTP veb-interfejsa i deljenih datoteka u memoriji. Ako se prekine rad RTA2, obrada se neće nastaviti, a podaci obrade neće biti sačuvani.

## Ulazni podaci za RTA2

RTA2 za obradu zahteva sledeće ulazne podatke:

- ▶ Slike pločica se nalaze u lokalnoj memoriji sistema.
- ▶ **RunInfo.xml**, koja se generiše automatski na početku obrade i sadrži naziv obrade, broj ciklusa, da li je očitavanje indeksirano, kao i broj pločica na protočnoj ćeliji.
- ▶ **RTA.exe.config**, konfiguraciona datoteka za softver u XML formatu.

RTA2 prima naredbe od operativnog softvera o lokaciji datoteke **RunInfo.xml** i tome da li je navedena opciona izlazna fascikla.

## Izlazne datoteke za RTA2

Slike iz svakog kanala se **prosleđuju** u memoriju kao pločice. Pločice su mala područja snimanja na protočnoj ćeliji koje kamera definiše kao vidno polje. Na osnovu tih slika softver stvara izlazne datoteke kao skup datoteka za određivanje očitanih baza i datoteka o filtriranju ocenjenih prema kvalitetu. Sve druge datoteke su podrška za izlazne datoteke.

Tip datoteke	Opis
Base Call files (Datoteke za određivanje očitanih baza)	Svaka analizirana pločica uvrštava se u objedinjenu datoteku za određivanje očitanih baza (*.bcl.bgzf) za svaku putanju i svaki ciklus. Objedinjena datoteka za određivanje očitanih baza sadrži određivanje očitane baze i povezanu ocenu kvaliteta svakog klastera u toj putanji.
Filter files (Datoteke o filtriranju)	Svaka pločica stvara informacije o filtriranju koje se objedinjuju u 1 datoteku o filtriranju (*.filter) za svaku putanju. Datoteka o filtriranju navodi da li je klaster prošao filter.
Cluster location files (Datoteke sa lokacijom klastera)	Datoteke sa lokacijom klastera (*.locs) sadrže koordinate X,Y svakog klastera na pločici. Datoteka sa lokacijom klastera se generiše za svaku putanju tokom generisanja predloška.
Base call index files (Datoteke sa indeksima za određivanje očitanih baza)	Datoteka sa indeksima za određivanje očitanih baza (*.bci) stvara se za svaku putanju kako bi se sačuvala izvorne informacije o pločici. Datoteka sa indeksima sadrži par vrednosti za svaku pločicu, a to su broj pločica i broj klastera za tu pločicu.

RTA2 pruža pokazatelje u realnom vremenu o kvalitetu obrade sačuvane u datotekama o internim operacijama (InterOp). Datoteke InterOp su binarne izlazne datoteke koje sadrže pokazatelje o pločicama, ciklusima i nivou očitavanja.

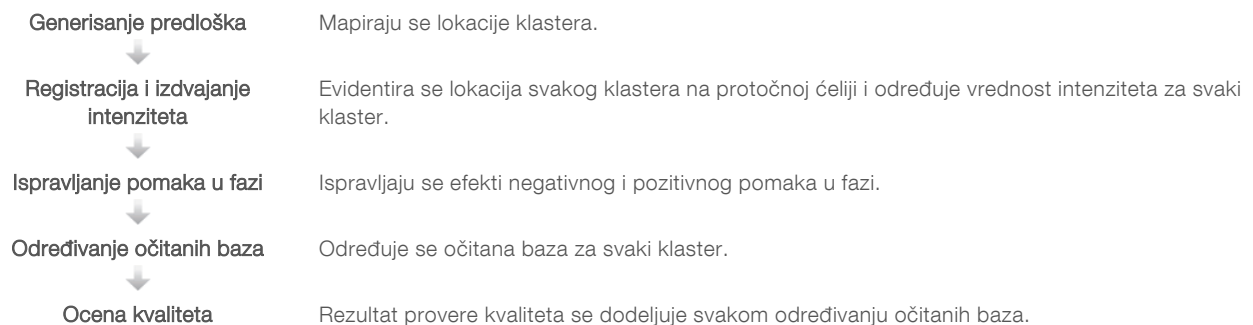
## Rukovanje greškama

RTA2 kreira datoteke evidencije i zapisuje ih u fasciklu RTALogs (RTA evidencija). Greške se beleže u datoteci grešaka u formatu datoteke \*.tsv.

Sledeće datoteke evidencije i datoteke grešaka se prenose po završetku obrade na završno izlazno odredište:

- ▶ \*GlobalLog\*.tsv sadrži rezime važnih događaja prilikom obrade.
- ▶ \*LaneNLog\*.tsv navodi događaje obrade za svaku putanju.
- ▶ \*Error\*.tsv navodi greške koje su se javile tokom obrade.
- ▶ \*WarningLog\*.tsv navodi upozorenja koja su se pojavila tokom obrade.

## Tok rada softvera Real-Time Analysis



## Generisanje predložka

Prvi korak u radu softvera RTA je generisanje predložka, koji definiše položaj svakog klastera na pločici pomoću X i Y koordinata.

Za generisanje predložka neophodni su slikovni podaci iz prvih 5 ciklusa obrade. Nakon snimanja zadnjeg ciklusa za generisanje predložka, predložak se generiše za pločicu.

**NAPOMENA** Za prepoznavanje klastera tokom generisanja predložka mora u prvih 5 ciklusa da bude barem 1 baza koja nije G. Za sve sekvence indeksa RTA2 zahteva se barem 1 baza koja nije G u prva 2 ciklusa.

Predložak se primenjuje kao referenca za sve dalje korake registracije i izdvajanja intenziteta. Položaji klastera za celu protočnu ćeliju se zapisuju u datoteke sa lokacijom klastera (\*.locs) – po 1 datoteka za svaku putanju.

## Registracija i izdvajanje intenziteta

Registracija i izdvajanje intenziteta počinju nakon generisanja predložka.

- ▶ Tokom registracije slike napravljene u svakom narednom ciklusu snimanja se porede sa predložkom.
- ▶ Izdvajanje intenziteta određuje vrednost intenziteta za svaki klaster u predložku za određenu sliku.

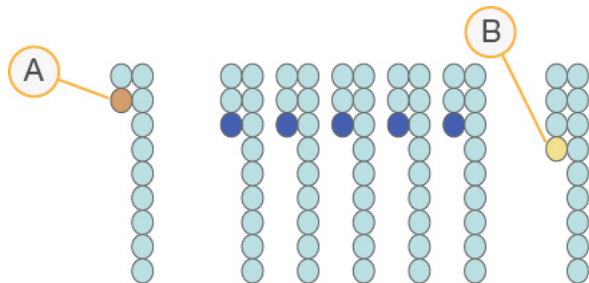
Ako registracija ne uspe ni za jednu sliku u ciklusu, neće se generisati određivanje očitanih baza za tu pločicu u tom ciklusu.

## Ispravljanje pomaka u fazi

Tokom reakcije sekvenciranja, svaki lanac DNK u klasteru povećava se za 1 bazu po ciklusu. Negativan i pozitivan pomak u fazi događa se kad lanac prestane da se podudara u fazi sa trenutnim ciklusom umetanja.

- ▶ Do negativnog pomaka u fazi dolazi kada neka baza zaostaje.
- ▶ Do pozitivnog pomaka u fazi dolazi kad neka baza ide unapred.

**Slika 29** Negativan i pozitivan pomak u fazi



- A Očitavanje sa bazom sa negativnim pomakom
- B Očitavanje sa bazom sa pozitivnim pomakom.

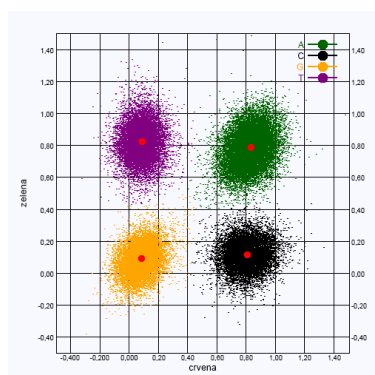
RTA2 ispravlja efekte negativnog i pozitivnog pomaka u fazi, čime se maksimalno povećava kvalitet podataka u svakom ciklusu tokom obrade.

## Određivanje očitanih baza

Određivanjem očitanih baza utvrđuju se baze (A, C, G ili T) za svaki klaster određene pločice u određenom ciklusu. Instrument NextSeq 550Dx upotrebljava 2-kanalno sekvenciranje koje zahteva samo 2 slike za šifrovanje podataka za 4 baze DNK – 1 iz crvenog kanala i 1 iz zelenog kanala.

Intenziteti izdvojeni sa slike upoređeni sa drugom slikom daju 4 različite populacije, pri čemu svaka odgovara nekom nukleotidu. Postupkom određivanja očitanih baza utvrđuje se kojoj populaciji pripada svaki klaster.

**Slika 30** Vizuelizacija intenziteta klastera



**Tabela 1** Određivanja očitanih baza kod 2-kanalnog sekvenciranja

Baza	Crveni kanal	Zeleni kanal	Rezultat
A	1 (uključeno)	1 (uključeno)	Klasteri koji pokazuju intenzitet i u crvenom i zelenom kanalu.
C	1 (uključeno)	0 (isključeno)	Klasteri koji pokazuju intenzitet samo u crvenom kanalu.
G	0 (isključeno)	0 (isključeno)	Klasteri koji ne pokazuju intenzitet na poznatoj lokaciji klastera.
T	0 (isključeno)	1 (uključeno)	Klasteri koji pokazuju intenzitet samo u zelenom kanalu.

## Klasteri koji prolaze filtriranje

Tokom obrade RTA2 filtrira neobrađene podatke radi uklanjanja očitavanja koja ne zadovoljavaju prag kvaliteta podataka. Uklanjaju se klasteri koji se preklapaju i oni niskog kvaliteta.

Pri 2-kanalnoj analizi RTA2 upotrebljava sistem zasnovan na populaciji za utvrđivanje čistoće određivanja očitanih baza. Klasteri prolaze filtriranje (PF) kad najviše 1 određivanje očitane baze u prvih 25 ciklusa ima čistoću od  $< 0,63$ . Klasteri koji nisu prošli filter ne učestvuju u određivanju očitanih baza.

## Napomene o indeksiranju

Postupak očitavanja indeksa tokom određivanja očitanih baza razlikuje se od određivanja očitanih baza tokom drugih očitavanja.

Očitavanja indeksa moraju početi sa bar 1 bazom koja nije G u jednom od prvih 2 ciklusa. Ako očitavanje indeksa počinje sa 2 određivanja očitanih baza G, ne generiše se intenzitet signala. Signal mora biti prisutan u nekom od prvih 2 ciklusa da bi se obezbedilo obavljanje demultipleksiranja.

Da bi se povećala robusnost demultipleksiranja, odaberite sekvence indeksa koje daju signal u barem jednom kanalu, ali najbolje oba, za svaki ciklus. Praćenjem ove smernice ćete izbeći kombinacije indeksa koje rezultiraju samo bazama G u svim ciklusima.

- ▶ Crveni kanal – A ili C
- ▶ Zeleni kanal – A ili T

Ovaj postupak određivanja očitanih baza osigurava tačnost prilikom analize uzoraka manje složenosti (low-plex).

## Ocena kvaliteta

Ocena kvaliteta ili „Q ocena” (Q-score) je predviđanje verovatnoće netačnog određivanja očitane baze. Veća Q ocena upućuje na to da je veći kvalitet određivanja očitanih baza i veća verovatnoća da je ono tačno.

Q ocena je praktičan način za izražavanje verovatnoće pojave malih grešaka. Ocene kvaliteta se navode kao Q(X), pri čemu je X ocena. U sledećoj tabeli je prikazan odnos između ocene kvaliteta i verovatnoće greške.

Q ocena Q(X)	Verovatnoća greške
Q40	0,0001 (1 na 10.000)
Q30	0,001 (1 na 1000)
<b>Q20</b>	0,01 (1 na 100)
Q10	0,1 (1 na 10)

**NAPOMENA** Ocenjivanje kvaliteta se zasniva na izmenjenoj verziji Phred algoritma.

Pri ocenjivanju kvaliteta računa se skup predviđanja za svako određivanje očitane baze, a zatim se te vrednosti upotrebljavaju za traženje Q ocene u tabeli kvaliteta. Tabele kvaliteta su namenjene za optimalno precizno predviđanje kvaliteta obrada koje su generisane određenim konfiguracijama platforme za sekvenciranje i verzijama hemijskih postupaka.

Nakon određivanja Q ocene, rezultati se evidentiraju u datotekama određivanja očitanih baza (\*.bcl.bgzf).



# Dodatak C Izlazne datoteke i fascikle

Izlazne datoteke pri sekvenciranju .....	59
Struktura izlazne fascikle .....	62
Izlazne datoteke skeniranja .....	63
Struktura izlazne fascikle skeniranja .....	63

## Izlazne datoteke pri sekvenciranju

Tip datoteke	Opis, lokacija i ime datoteke
Base Call files (Datoteke za određivanje očitanih baza)	Svaka analizirana pločica uvrštava se u datoteku za određivanje očitanih baza, objedinjeno u 1 datoteku za svaku putanju i svaki ciklus. Objedinjena datoteka sadrži određivanje očitane baze i šifrovanu ocenu kvaliteta svakog klastera za tu putanju. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – datoteke za svaku putanju su sačuvane u 1 fascikli. [Ciklus].bcl.bgzf, pri čemu [Ciklus] predstavlja 4-cifreni broj ciklusa. Datoteke za određivanje očitanih baza su komprimovane pomoću kompresije block gzip.
Base call index file (Datoteka sa indeksima za određivanje očitanih baza)	Za svaku putanju binarna datoteka sa indeksima navodi informacije o izvornoj pločici kao par vrednosti za svaku pločicu: broj pločica i broj klastera za tu pločicu. Datoteke sa indeksima za određivanje očitanih baza prave se prvi put prilikom pravljenja datoteke za određivanje očitanih baza za tu putanju. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – datoteke za svaku putanju su sačuvane u 1 fascikli. s_[Lane].bci
Cluster location files (Datoteke sa lokacijom klastera)	Za svaku pločicu koordinate XY svakog klastera se objedinjuju u 1 datoteku sa lokacijom klastera za svaku putanju. Datoteke sa lokacijom klastera nastaju kao rezultat generisanja predloška. Data\Intensities\L00[X] – datoteke za svaku putanju su sačuvane u 1 fascikli. s_[lane].locs
Filter files (Datoteke o filtriranju)	Datoteka o filtriranju navodi da li je klaster prošao filtriranje. Informacije o filtriranju se objedinjuju u 1 datoteku o filtriranju za svaku putanju i očitavanje. Datoteke o filtriranju se generišu u 26. ciklusu na osnovu podataka iz 25 ciklusa. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] – datoteke za svaku putanju su sačuvane u 1 fascikli. s_[lane].filter
InterOp files (Datoteke o internim operacijama)	Binarne datoteke za izveštavanje. Datoteke o internim operacijama se ažuriraju tokom obrade. Fascikla InterOp
RTA configuration file (Datoteka RTA konfiguracije)	Datoteka RTA konfiguracije se pravi na početku obrade i navodi podešavanja obrade. [Osnovna fascikla], RTAConfiguration.xml
Run information file (Datoteka sa informacijama o obradi)	Navodi naziv obrade, broj ciklusa u svakom očitavanju, da li je očitavanje indeksirano, kao i broj traka i pločica na protočnoj ćeliji. Datoteka sa informacijama o obradi se pravi na početku obrade. [Osnovna fascikla], RunInfo.xml

## Pločice protočne ćelije

Pločice su mala područja snimanja na protočnoj ćeliji koje kamera definiše kao vidno polje. Ukupan broj pločica zavisi od broja putanja, traka i površina koje se snimaju na protočnoj ćeliji i kako kamere zajedno rade na prikupljanju slika. Protočne ćelije velikog kapaciteta imaju ukupno 864 pločica.



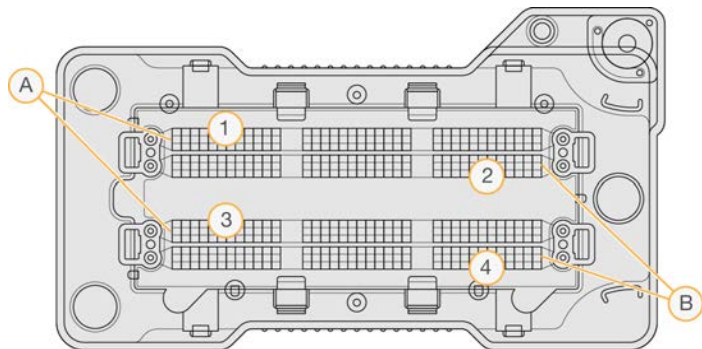
Tabela 2 Pločice protočne ćelije

Komponenta protočne ćelije	Veliki kapacitet	Opis
Putanje	4	Putanja je fizički kanal s namenskim ulaznim i izlaznim priključcima.
Površine	2	Snimaju se dve površine protočne ćelije – gornja i donja. Snima se gornja površina 1 pločice, a zatim se snima donja površina iste pločice pre prelaska na sledeću pločicu.
Trake po putanji	3	Traka je stubac pločica u nekoj putanji.
Segmenti kamere	3	Instrument koristi 6 kamera za snimanje protoka u 3 segmenta za svaku putanju.
Pločice po traci po segmentu kamere	12	Pločica je oblast u protočnoj ćeliji koju kamera vidi kao jednu sliku.
Ukupan broj snimljenih pločica	864	Ukupan broj pločica jednak je broju putanja × površina × traka × segmenata kamere × pločica po traci po segmentu.

## Numerisanje putanja

Putanje 1 i 3, pod nazivom par putanja A, snimaju se istovremeno. Putanje 2 i 4, pod nazivom par putanja B, snimaju se kad se završi snimanje para putanja A.

Slika 31 Numerisanje putanja

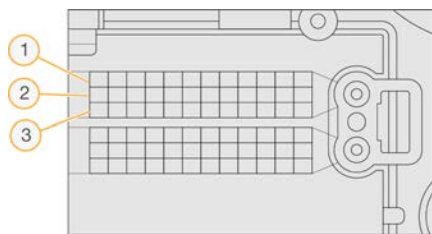


- A Par putanje A – putanje 1 i 3
- B Par putanje B – putanje 2 i 4

## Numerisanje traka

Svaka putanja se snima u 3 trake. Kod protočnih ćelija velikog kapaciteta trake su označene brojevima od 1 do 3.

Slika 32 Numerisanje traka

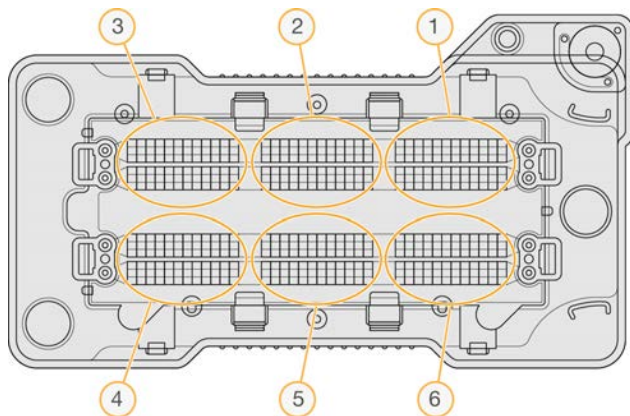


## Numerisanje kamera

Instrument NextSeq 550Dx upotrebljava 6 kamera za snimanje protočne ćelije.

Kamere su označene brojevima od 1 do 6. Kamere od 1 do 3 – putanja za snimanje 1. Kamere od 4 do 6 – putanja za snimanje 3. Nakon snimanja putanja 1 i 3 modul za snimanje prelazi krećući se po osi X na putanjama za snimanje 2 i 4.

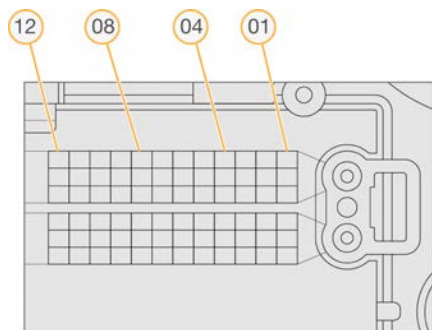
**Slika 33** Numerisanje kamera i segmenata (prikazana je protočna ćelija velike propusnosti)



## Numerisanje pločica

U svakom segmentu kamere postoji 12 pločica u svakoj traci. Pločice su numerisane brojevima od 01 do 12 bez obzira na broj trake ili segmenta kamere i predstavljeni su sa dve cifre.

**Slika 34** Numerisanje pločica



Celokupan broj pločica sadrži 5 cifara koje predstavljaju mesto na sledeći način:

- ▶ **Površina** – 1 predstavlja gornju površinu; 2 predstavlja donju površinu
- ▶ **Traka** – 1, 2 ili 3
- ▶ **Kamera** – 1, 2, 3, 4, 5 ili 6
- ▶ **Pločica** – 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 ili 12

**Primer:** Broj pločice 12508 označava gornju površinu, 2. traku 5. kameru i 8. pločicu.

Ceo 5-cifreni broj pločica se upotrebljava u nazivu sličice datoteke i datoteka empirijskog pomaka u fazi. Više informacija pogledajte u odeljku *Izlazne datoteke pri sekvenciranju na strani 59*.

## Struktura izlazne fascikle

Operativni softver automatski generiše ime izlazne fascikle.

### 📁 Data (Podaci)

#### 📁 Intensities (Intenziteti)

##### 📁 BaseCalls (Određivanja očitanih baza)

📁 L001 – datoteke određivanja očitanih baza za 1. putanju, objedinjene u 1 datoteku po ciklusu.

📁 L002 – datoteke određivanja očitanih baza za 2. putanju, objedinjene u 1 datoteku po ciklusu.

📁 L003 – datoteke određivanja očitanih baza za 3. putanju, objedinjene u 1 datoteku po ciklusu.

📁 L004 – datoteke određivanja očitanih baza za 4. putanju, objedinjene u 1 datoteku po ciklusu.

📁 L001 – objedinjena \*.locs datoteka za 1. putanju.

📁 L002 – objedinjena \*.locs datoteka za 2. putanju.

📁 L003 – objedinjena \*.locs datoteka za 3. putanju.

📁 L004 – objedinjena \*.locs datoteka za 4. putanju.

### 📁 Images (Slike)

#### 📁 Focus (Fokus)

📁 L001 – fokusirane slike za 1. putanju.

📁 L002 – fokusirane slike za 2. putanju.

📁 L003 – fokusirane slike za 3. putanju.

📁 L004 – fokusirane slike za 4. putanju.

📁 InterOp – binarne datoteke.

📁 Logs (Evidencija) – datoteke evidencije koje opisuju radne korake.

📁 Recipe (Recept) – datoteka sa receptima specifičnim za obradu sa nazivima koji sadrže ID kertridža reagensa.

📁 RTALogs (RTA evidencija) – datoteke evidencije koje opisuju korake analize.

📄 RTAComplete.txt

📄 RTAConfiguration.xml

📄 RunInfo.xml

📄 RunParameters.xml

## Izlazne datoteke skeniranja

Tip datoteke	Opis, lokacija i ime datoteke
GTC datoteke	Datoteka za određivanje genotipa. GTC datoteka se generiše za svaki uzorak skeniran na BeadChip-u. Naziv datoteke uključuje bar kod i skenirani uzorak. <b>[bar kod]_[uzorak].gtc</b>
Datoteke slika	Datoteke slika su imenovane prema površini skeniranoj na BeadChip-u. Naziv uključuje bar kod, uzorak i odeljak na BeadChip-u, traku i kanal za snimanje (crveni ili zeleni). <b>[bar kod]_[uzorak]_[odeljak]_[traka]_[kamera]_[pločica]_[kanal].jpg</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Bar kod</b>—Naziv datoteke počinje bar kodom BeadChip-a.</li> <li>• <b>Uzorak</b>—Površina BeadChip-a, koja je numerisana kao red (R0X), odozgo prema dole i kolona (C0X) sa leva na desno.</li> <li>• <b>Odeljak</b>—Numerisani red u okviru uzorka.</li> <li>• <b>Traka</b>—BeadChip-ovi su prikazani kao kolekcija pločica koje se preklapaju. Zbog toga se koristi samo jedna traka za snimanje odeljka.</li> <li>• <b>Kamera</b>—Kamera koja se koristi za prikupljanje slike.</li> <li>• <b>Pločica</b>—Površina snimanja definisana kao vidno polje kamere.</li> <li>• <b>Kanal</b>—Kanal je ili crveni ili zeleni.</li> </ul>

## Struktura izlazne fascikle skeniranja

📁 [Datum]\_[Naziv instrumenta]\_[Sken#]\_[Bar kod]

📁 [Bar kod]

📁 Config. (Konfig.)

📄 Effective.cfg—Beleži postavke konfiguracije koje se koriste tokom skeniranja.

📁 Focus (Fokus)—Sadrži slikovne datoteke koje se koriste za fokusiranje skeniranja.

📁 Logs (Evidencija)—Sadrži datoteke evidencije koje navode svaki korak koji se izvodi tokom skeniranja.

📁 PreScanDiagnosticFiles (Dijagnostičke datoteke pre skeniranja)

📁 [Datum\_Vreme] Barcode Scan (Skeniranje bar koda)

📄 ProcessedBarcode.jpg—Slika BeadChip bar koda.

📄 Scanning Diagnostics (log files) (Dijagnostika skeniranja (datoteke evidencije))

📄 PreScanChecks.csv—Zapisuje rezultate automatske provere.

📄 GTC files (GTC datoteke)—Datoteke za određivanje genotipa (1 datoteka po uzorku).

📄 IDAT files (IDAT datoteke)—[Opciono] Datoteke sa podacima o intenzitetu (2 datoteke po uzorku; 1 po kanalu).

📄 Image files (Datoteke slika)—Skenirane slike za svaki uzorak, odeljak, traku, kameru, pločicu i kanal.

📄 [Barcode]\_sample\_metrics.csv

📄 [Barcode]\_sample\_metrics.csv

📄 ScanParameters.xml



# Indeks

## A

- adapter
  - BeadChip orijentacija 29
  - BeadChip postavljanje 31
  - pregled 5
- analiza
  - izlazne datoteke 59
- analiza, primarno
  - čistoća signala 56

## B

- BaseSpace 51
  - prijava 18
- BaseSpace konfiguracije 22
- BeadChip
  - adapter 5, 29
  - analiza 1
  - bar kod se ne može pročitati 48
  - greška u registraciji 48
  - orijentacija bar koda 29
  - postavljanje 31
  - tipovi 1
- BlueFuse Multi softver 1

## C

- ciklusi u očitavanju 15

## D

- datoteke o filtriranju 59
- datoteke određivanja očitane baze 59
- Decode File Client 27
  - pristup na osnovu BeadChip-a 29
  - pristup na osnovu naloga 28
- DMAP fascikla
  - Decode File Client 27
  - preuzimanje 28
- dokumentacija 2, 69
- dugme za uključivanje/isključivanje 5, 11
- dužina očitavanja 15-16

## E

- empirijski pomak u fazi 55

## F

- filter nečistoće 56
- filter za vazduh 4, 38
- formamid, položaj 6 22

## G

- generisanje klastera 15, 25
- generisanje predložka 54
- greške i upozorenja 4, 54
- greške provere pre obrade 44
- GTC datoteke 63

## I

- ikone
  - greške i upozorenja 4
  - status 4
- Illumina Proactive usluga praćenja 51
- instrument
  - avatar 12
  - dugme za uključivanje/isključivanje 5
  - indikator režima 12
  - isključivanje 41
  - nadimak 12
  - podešavanja konfiguracije 50
  - ponovno pokretanje 41
  - restartovanje 41
  - uključiti 11
- intenziteti 55
- InterOp datoteke 43, 59
- isključivanje instrumenta 41
- ispiranje
  - automatsko 26
  - komponente za ispiranje 35
  - potrošni materijali koje obezbeđuje korisnik 35
  - ručno ispiranje 35
- ispiranje instrumenta 35
- ispiranje nakon obrade 26
- izlazne datoteke 59
- izlazne datoteke, sekvenciranje 59
- izlazne datoteke, skeniranje
  - GTC, IDAT 63

**K**

kertridž pufera 9, 21  
 kertridž reagensa  
   pregled 8  
   rezervoar br. 28 36  
   rezervoar br. 6 22  
 klasteri koji prolaze filtriranje 56  
 kompatibilnost  
   protočna ćelija, kertridž reagensa 6  
   RFID praćenje 6, 8  
 komponente  
   odjeljak za pufer 3  
   odjeljak za reagens 3  
   odjeljak za snimanje 3  
   statusna traka 3  
 Konfiguracija 51  
 konfiguracija za samostalan rad 23  
 kontrolni softver 4  
 korisnička podrška 69  
 korisničko ime i lozinka 11  
 korisničko ime i lozinka za sistem 11

**L**

locs datoteke 59  
 lokacija fascikle 23  
 lokacija klastera  
   datoteke 59  
   generisanje predložka 54

**N**

napomene o indeksiranju 56  
 napredna opcija podešavanja 13  
 natrijum hipohlorit, ispiranje 36  
 negativni pomak u fazi, pozitivni pomak u fazi 55  
 numerisanje kamera 61  
 numerisanje pločica 61  
 numerisanje putanje 60  
 numerisanje traka 60

**O**

odjeljak za pufer 3  
 odjeljak za reagens 3  
 odjeljak za snimanje 3  
 određivanje očitanih baza 55  
   napomene o indeksiranju 56

održavanje instrumenta  
   potrošni materijal 14  
 održavanje, preventivno 35  
 online obuka 2  
 otklanjanje problema  
   kontejner za potrošene reagente 46  
   metrički podaci niskog kvaliteta 46  
   namenske datoteke obrade 43  
   namenske datoteke skeniranja 44  
   provera pre obrade 44

**P**

parametri obrade  
   BaseSpace režim 22  
   režim za samostalan rad 23  
   uredi parametre 22  
 parovi putanja 60  
 Phred algoritam 56  
 podešavanja konfiguracije 50  
 podešavanja sistema 12  
 podešavanje obrade, napredna opcija 13  
 pokazatelj  
   određivanje očitanih baza 55  
 pokazatelji  
   ciklusi gustine klastera 25  
   intenzitet ciklusa 25  
 pokazatelji obrade 24  
 pomoć  
   dokumentacija 2  
   pomoć, tehnička 69  
 ponovna hibridizacija prajmera 46  
 ponovna hibridizacija, Očitavanje 1 46  
 ponovno pokretanje  
   instrument 41  
 ponovno pokretanje u istraživačkom režimu 12  
 Poruka o RAID grešci 50  
 potrošeni reagenti  
   odlaganje 19, 38  
   pun kontejner 46  
 potrošni materijal 6  
   ispiranje potrošnog materijala 35  
   kertridž pufera 9  
   kertridž reagensa 8  
   obrada sekvenciranjem 13  
   održavanje instrumenta 14  
   potrošni materijal za ispiranje 36  
   voda laboratorijskog kvaliteta 14  
 potrošni materijal koji obezbeđuje korisnik 13-14

potrošni materijali  
 protočna ćelija 7  
 pražnjenje potrošnog materijala 13  
 prekidač za napajanje 11  
 prenos podataka  
 skeniranje podataka 33  
 usluga universal copy 25  
 preventivno održavanje 35  
 prolaze filter (PF) 56  
 protočna ćelija  
 broj traka 60  
 čioda za poravnavanje 18  
 čišćenje 17  
 numerisanje pločica 61  
 numerisanje putanje 60  
 pakovanje 17  
 parovi putanja 7  
 pločice 59  
 ponovna hibridizacija 46  
 pregled 7  
 snimanje 61  
 provera pre obrade 24, 31

## Q

Q ocene 56

## R

reagensi  
 kompletirano 6  
 pravilno odlaganje 21  
 Real-Time Analysis softver 4  
 restartovanje 41  
 rešavanje problema  
 greška u registraciji skena 48  
 ne može da se pročita BeadChip bar kod 48  
 zamena datoteka manifesta i klastera 49  
 RFID praćenje 6  
 RunInfo.xml 43, 59  
 RUO režim 12

## S

sekvenciranje  
 potrošni materijal koji obezbeđuje  
 korisnik 13  
 uvod 15  
 skeniranje izlaznih datoteka  
 GTC, IDAT 63

slike, 2-kanalno sekvenciranje 55  
 smernice za vodu laboratorijskog kvaliteta 14  
 softver  
 analiza slike, određivanje očitanih baza 4  
 automatsko ažuriranje 40  
 podešavanja konfiguracije 50  
 pokretanje 11  
 ručno ažuriranje 40  
 trajanje obrade 15-16  
 u instrumentu 4  
 softver Real-Time Analysis  
 negativni pomak u fazi 55  
 rezultati 59  
 tok rada 54  
 softver za ažuriranje 39  
 status upozorenja 4  
 statusna traka 3

## T

tastatura 12  
 tehnička pomoć 69  
 tok rada  
 BaseSpace prijava 18  
 BaseSpace režim 22  
 BeadChip 31  
 kertridž pufera 21  
 kertridž reagensa 21  
 napomene o indeksiranju 56  
 napredna opcija učitavanja 13  
 natrijum hipohlorit 36  
 pokazatelji obrade 24  
 potrošeni reagensi 19  
 pregled 16, 28  
 priprema protočne ćelije 17  
 protočna ćelija 18  
 provera pre obrade 24, 31  
 režim za samostalan rad 23  
 sekvenciranje 54  
 trajanje obrade 15-16  
 tok rada sekvenciranja 16, 54  
 trajanje obrade 15-16

## U

ulazne datoteke, skeniranje  
 datoteke klastera 27, 49  
 datoteke manifesta 27, 49  
 DMAP fascikla 27  
 DMAP fascikla, preuzimanje 28



upravljanje instrumentom  
isključivanje 41  
usluga Universal Copy Service 25

## V

verovatnoća greške 56

## W

Windows  
izlaz 41

## Z

zvuk 12

# Tehnička pomoć

Obratite se tehničkoj podršci kompanije Illumina za pomoć.

**Veb-sajt:** [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
**E-pošta:** [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

Telefoni korisničke podrške kompanija Illumina

Region	Besplatan broj	Regionalni
Severna Amerika	+1.800.809.4566	
Australija	+1.800.775.688	
Austrija	+43 800006249	+43 19286540
Belgija	+32 80077160	+32 34002973
Danska	+45 80820183	+45 89871156
Finska	+358 800918363	+358 974790110
Francuska	+33 805102193	+33 170770446
Holandija	+31 8000222493	+31 207132960
Hongkong, Kina	800960230	
Irska	+353 1800936608	+353 016950506
Italija	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Južna Koreja	+82 80 234 5300	
Kina	400.066.5835	
Nemačka	+49 8001014940	+49 8938035677
Norveška	+47 800 16836	+47 21939693
Novi Zeland	0800.451.650	
Singapur	+1.800.579.2745	
Španija	+34 911899417	+34 800300143
Švajcarska	+41 565800000	+41 800200442
Švedska	+46 850619671	+46 200883979
Tajvan, Kina	00806651752	
Ujedinjeno Kraljevstvo	+44 8000126019	+44 2073057197
Ostale zemlje	+44.1799.534000	

Safety data sheets (SDS) (Bezbednosno-tehnički listovi) – Dostupni su na veb-sajtu kompanije Illumina na adresi [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Dokumentacija o proizvodu – Dostupna za preuzimanje na adresi [support.illumina.com](http://support.illumina.com).





Illumina

5200 Illumina Way

San Dijego, Kalifornija 92122 SAD

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (van Severne Amerike)

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

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

**Samo za potrebe istraživanja.  
Nije namenjeno za upotrebu u dijagnostičkim postupcima.**

© 2021. Illumina, Inc. Sva prava zadržana.

**illumina®**