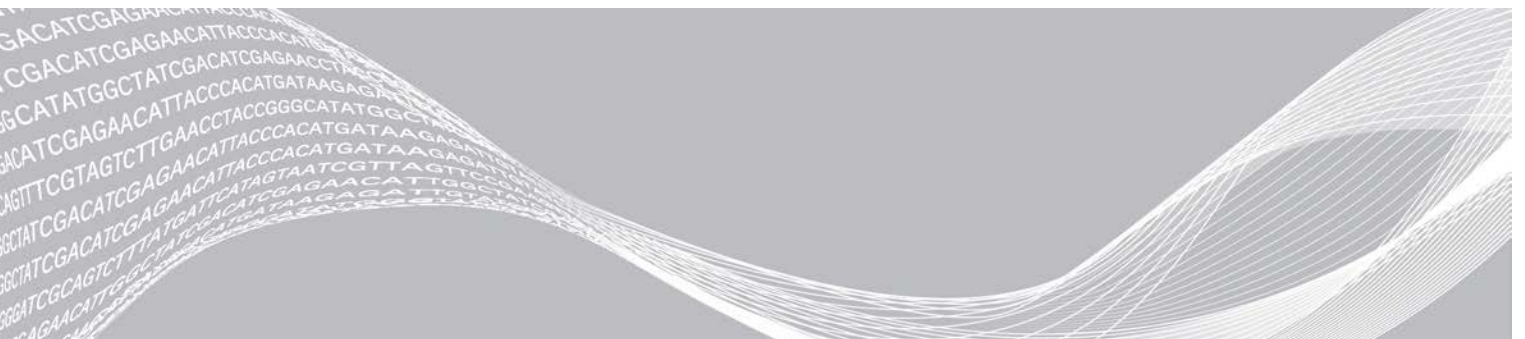


Hướng dẫn tham khảo về chế độ nghiên cứu của thiết bị NextSeq 550Dx



Tài liệu này và nội dung trong đó thuộc quyền sở hữu của Illumina, Inc. và các công ty liên kết của Illumina, Inc. ("Illumina") và chỉ dành cho việc sử dụng theo hợp đồng với khách hàng của Illumina liên quan đến việc sử dụng (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này và không dành cho mục đích nào khác. Tài liệu này và nội dung trong đó sẽ không được sử dụng hay phân phối vì bất kỳ mục đích nào khác và/hoặc không được truyền tải, tiết lộ hay sao chép dưới bất kỳ hình thức nào khác mà không có sự cho phép trước bằng văn bản của Illumina. Illumina không chuyển nhượng bất kỳ giấy phép nào theo các bằng sáng chế, nhãn hiệu, bản quyền hoặc các quyền theo thông luật cũng như các quyền tương tự của bất kỳ bên thứ ba nào thông qua tài liệu này.

Các hướng dẫn nêu trong tài liệu này phải được tuân thủ nghiêm ngặt và rõ ràng bởi cá nhân được đào tạo phù hợp và có đủ trình độ nhằm đảm bảo sử dụng an toàn và đúng cách (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này. Phải đọc và hiểu hoàn toàn tất cả nội dung của tài liệu này trước khi sử dụng (các) sản phẩm đó.

VIỆC KHÔNG ĐỌC TOÀN BỘ VÀ TUÂN THỦ RÕ RÀNG TẤT CẢ CÁC HƯỚNG DẪN NÊU TRONG TÀI LIỆU NÀY CÓ THỂ DẪN ĐẾN GÂY HƯ HỎNG (CÁC) SẢN PHẨM, GÂY TỔN THƯƠNG CHO CON NGƯỜI, BAO GỒM NGƯỜI DÙNG HOẶC NHỮNG NGƯỜI KHÁC VÀ GÂY THIẾT HẠI TÀI SẢN KHÁC, VÀ SẼ LÀM MẤT HIỆU LỰC BẢO HÀNH ÁP DỤNG CHO (CÁC) SẢN PHẨM ĐÓ.

ILLUMINA KHÔNG CHỊU BẤT KỲ TRÁCH NHIỆM NÀO PHÁT SINH TỪ VIỆC SỬ DỤNG KHÔNG ĐÚNG CÁCH (CÁC) SẢN PHẨM ĐƯỢC MÔ TẢ TRONG TÀI LIỆU NÀY (BAO GỒM CẢ CÁC BỘ PHẬN CỦA SẢN PHẨM HOẶC PHẦN MỀM).

© 2021 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

Tất cả các nhãn hiệu đều là tài sản của Illumina, Inc. hoặc các chủ sở hữu tương ứng. Để biết thông tin cụ thể về nhãn hiệu, hãy xem trang web www.illumina.com/company/legal.html.

Lịch sử sửa đổi

Tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
Tài liệu số 1000000041922 v03	Tháng 10 năm 2021	Bổ sung thông báo về thời gian đếm ngược 7 ngày trong mục Kiểm tra khi chạy giải trình tự Cập nhật quy trình công việc Giải trình tự: Bổ sung mục tạo lần chạy bằng Phần mềm Local Run Manager. Thay đổi giới hạn ổn định Bổ sung loại Infinium Methylation EPIC vào các loại BeachChip Cập nhật hình ảnh biểu tượng để phản ánh thay đổi về giao diện người dùng.
Tài liệu số 1000000041922 v02	Tháng 11 năm 2020	Cập nhật hình trong mục Thực hiện quy trình rửa thủ công để phản ánh các hộp Rửa thuốc thử và Rửa dung dịch đệm mới. Cập nhật thêm màu cho thông tin thanh trạng thái.
Tài liệu số 1000000041922 v01	Tháng 3 năm 2018	Bổ sung thông tin về dịch vụ giám sát Illumina Proactive trong mục Định cấu hình chế độ cài đặt hệ thống.
Tài liệu số 1000000041922 v00	Tháng 11 năm 2017	Phát hành lần đầu.

Mục lục

Chương 1 Tổng quan	1
Giới thiệu về bản hướng dẫn này	1
Giới thiệu	1
Tài nguyên khác	2
Các thành phần thiết bị	3
Tổng quan về bộ kit thuốc thử	6
Tổng quan về vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự	6
Chương 2 Bắt đầu	11
Khởi động thiết bị	11
Tùy chỉnh chế độ cài đặt hệ thống	12
Các vật tư tiêu hao và thiết bị do người dùng tự chuẩn bị	13
Chương 3 Giải trình tự	15
Giới thiệu	15
Quy trình công việc giải trình tự	16
Chuẩn bị hộp thuốc thử	16
Chuẩn bị tế bào dòng chảy	17
Chuẩn bị thư viện để giải trình tự	17
Thiết lập lần chạy giải trình tự	18
Giám sát tiến trình chạy	25
Tự động rửa sau lần chạy	26
Chương 4 Quét	27
Giới thiệu	27
Quy trình công việc quét	28
Tải xuống thư mục DMAP	28
Nạp BeadChip vào adapter	29
Thiết lập lần quét	30
Giám sát tiến trình quét	32
Chương 5 Bảo trì	35
Giới thiệu	35
Thực hiện quy trình rửa thủ công	35
Thay thế bộ lọc không khí	38
Cập nhật phần mềm	39
Các tùy chọn khởi động lại và tắt	41
Phụ lục A Khắc phục sự cố	43
Giới thiệu	43
Tệp khắc phục sự cố	43
Giải quyết lỗi kiểm tra tự động	44
Hộp đựng thuốc thử đã sử dụng bị đầy	46

Quy trình công việc tạo lại thể lai	46
BeadChip và các lỗi khi quét	48
Thư mục công thức và công thức tùy chỉnh	50
Thông báo lỗi RAID	50
Định cấu hình chế độ cài đặt hệ thống	50
Phụ lục B Real-Time Analysis	55
Tổng quan về Real-Time Analysis	55
Quy trình công việc của Real-Time Analysis	56
Phụ lục C Tập và thư mục đầu ra	59
Tập đầu ra giải trình tự	59
Cấu trúc thư mục đầu ra	62
Tập đầu ra quét	63
Cấu trúc thư mục đầu ra quét	63
Chỉ mục	65
Hỗ trợ kỹ thuật	69

Chương 1 Tổng quan

Giới thiệu về bản hướng dẫn này	1
Giới thiệu	1
Tài nguyên khác	2
Các thành phần thiết bị	3
Tổng quan về bộ kit thuốc thử	6
Tổng quan về vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự	6

Giới thiệu về bản hướng dẫn này

Bản hướng dẫn tham khảo về thiết bị này hướng dẫn cách sử dụng thiết bị NextSeq 550Dx ở chế độ nghiên cứu (RUO, Research Use Only).

Giới thiệu

Các tính năng giải trình tự

- ▶ **Giải trình tự hiệu suất cao:** Thiết bị NextSeq™ 550Dx cho phép giải trình tự các thư viện ADN.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA):** Thực hiện xử lý hình ảnh và phát hiện base. Để biết thêm thông tin, hãy xem mục *Real-Time Analysis* trên trang 55.
- ▶ **Chức năng phân tích dữ liệu trên thiết bị:** Các mô-đun phân tích của phần mềm Analysis Software được chỉ định cho lần chạy có thể phân tích dữ liệu lần chạy.
- ▶ **Khởi động kép:** Thiết bị NextSeq 550Dx có các ổ cứng riêng hỗ trợ chế độ chẩn đoán (Dx) và chế độ nghiên cứu (RUO).

Các tính năng quét mảng

- ▶ **Quét mảng tích hợp trong phần mềm điều khiển:** Thiết bị NextSeq 550Dx cho phép bạn chuyển đổi giữa quét mảng và giải trình tự hiệu suất cao trên cùng một thiết bị thông qua cùng một phần mềm điều khiển.
- ▶ **Chức năng chụp ảnh mở rộng:** Hệ thống chụp ảnh trong thiết bị NextSeq 550Dx bao gồm các thành phần sửa đổi phần mềm và bộ, cho phép chụp ảnh khu vực bề mặt lớn hơn nhằm hỗ trợ quét BeadChip.
- ▶ **Các loại BeadChip:** Các loại BeadChip tương thích bao gồm CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC và Karyomap-12.
- ▶ **Adapter BeadChip:** Adapter BeadChip có thể tái sử dụng giúp dễ dàng nạp BeadChip vào thiết bị.
- ▶ **Phân tích dữ liệu:** Sử dụng phần mềm BlueFuse® Multi để phân tích dữ liệu mảng.

Tài nguyên khác

Bạn có thể tải xuống tài liệu hướng dẫn sau đây từ trang web của Illumina.

Tài nguyên	Mô tả
<i>NextSeq 550Dx Instrument Site Prep Guide (Hướng dẫn chuẩn bị khu vực làm việc của Thiết bị NextSeq 550Dx) (tài liệu số 100000009869)</i>	Cung cấp thông số kỹ thuật về không gian phòng thí nghiệm, yêu cầu về điện và các lưu ý về môi trường.
<i>Hướng dẫn về an toàn và tuân thủ quy định của thiết bị NextSeq 550Dx (tài liệu số 100000009868_vie)</i>	Cung cấp thông tin liên quan đến các lưu ý về an toàn khi vận hành, các tuyên bố tuân thủ và ý nghĩa của nhãn trên thiết bị.
<i>RFID Reader Compliance Guide (Hướng dẫn tuân thủ quy định của bộ đọc RFID) (tài liệu số 100000030332)</i>	Cung cấp thông tin về bộ đọc RFID trong thiết bị này, các chứng nhận tuân thủ quy định và các lưu ý về an toàn.
<i>Hướng dẫn tham khảo về chế độ nghiên cứu của thiết bị NextSeq 550Dx (tài liệu số 100000041922_vie)</i>	Cung cấp hướng dẫn về cách vận hành thiết bị và quy trình khắc phục sự cố. Sử dụng khi vận hành thiết bị NextSeq 550Dx ở chế độ nghiên cứu bằng NextSeq Control Software (NCS) v3.0.
<i>NextSeq 550 System Guide (Hướng dẫn về hệ thống NextSeq 550) (tài liệu số 15069765)</i>	Cung cấp hướng dẫn về cách vận hành thiết bị và quy trình khắc phục sự cố. Sử dụng khi vận hành thiết bị NextSeq 550Dx ở chế độ nghiên cứu bằng NextSeq Control Software (NCS) v4.0 trở lên.
<i>NextSeq 550 System Guide (Hướng dẫn về hệ thống NextSeq 550)</i>	Cung cấp thông tin tổng quan về các thành phần của thiết bị, hướng dẫn vận hành thiết bị cũng như quy trình bảo trì và khắc phục sự cố.
<i>Trợ giúp về BaseSpace</i>	Cung cấp thông tin về cách sử dụng BaseSpace™ Sequence Hub và các tùy chọn phân tích hiện có.

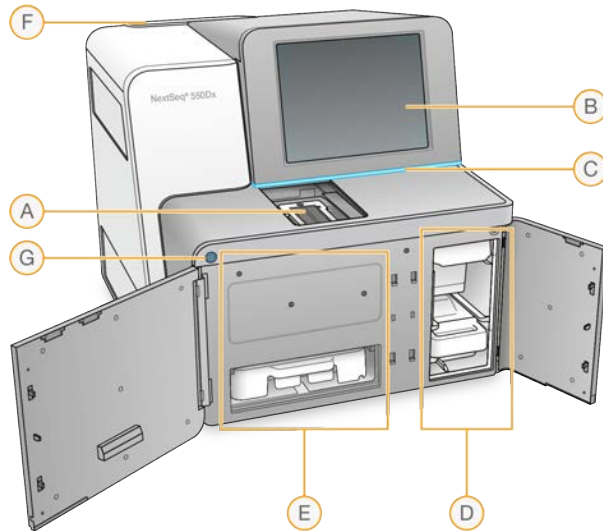
Truy cập [trang hỗ trợ thiết bị NextSeq 550Dx](#) trên trang web Illumina để truy cập tài liệu hướng dẫn, tải xuống phần mềm, xem nội dung đào tạo trực tuyến và các câu hỏi thường gặp.

Truy cập [các trang hỗ trợ NextSeq 550Dx](#) trên trang web Illumina để truy cập tài liệu hướng dẫn, tải xuống phần mềm, xem nội dung đào tạo trực tuyến và các câu hỏi thường gặp.

Các thành phần thiết bị

Thiết bị NextSeq 550Dx bao gồm một màn hình cảm ứng, một thanh trạng thái và 4 khoang chứa.

Hình 1 Các thành phần thiết bị



- A **Khoang chụp ảnh:** Chứa tế bào dòng chảy trong một lần chạy giải trình tự.
- B **Màn hình cảm ứng:** Cho phép định cấu hình và thiết lập trên thiết bị thông qua giao diện phần mềm vận hành.
- C **Thanh trạng thái:** Cho biết trạng thái thiết bị là đang xử lý (xanh lam), cần chú ý (cam), sẵn sàng giải trình tự (xanh lục), đang khởi chạy (xanh lam và trắng xen kẽ), chưa khởi chạy (trắng) hoặc yêu cầu rửa trong vòng 24 giờ tới (vàng).
- D **Khoang chứa dung dịch đệm:** Chứa hộp dung dịch đệm và hộp đựng thuốc thử đã sử dụng.
- E **Khoang chứa thuốc thử:** Chứa hộp thuốc thử.
- F **Khoang chứa bộ lọc không khí:** Chứa bộ lọc không khí. Tiếp cận bộ lọc từ mặt sau thiết bị.
- G **Nút nguồn:** Bật hoặc tắt thiết bị và máy tính thiết bị.

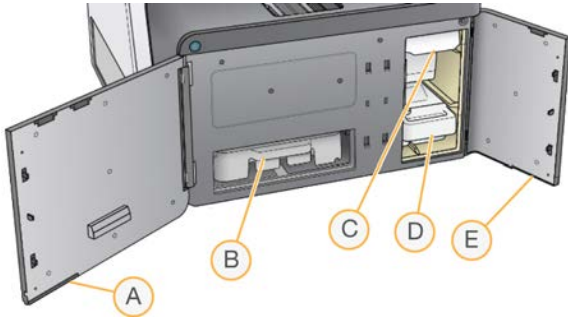
Khoang chụp ảnh

Khoang chụp ảnh chứa bệ, là bộ phận bao gồm 3 ghim căn chỉnh để cố định vị trí của tế bào dòng chảy. Sau khi nạp tế bào dòng chảy, cửa khoang chụp ảnh sẽ tự động đóng lại rồi di chuyển các thành phần vào vị trí.

Khoang chứa thuốc thử và khoang chứa dung dịch đệm

Khi thiết lập lần chạy giải trình tự trên thiết bị NextSeq 550Dx, bạn cần thao tác với khoang chứa thuốc thử và khoang chứa dung dịch đệm để nạp vật tư tiêu hao dùng cho lần chạy và dốc hết hộp đựng thuốc thử đã sử dụng.

Hình 2 Khoang chứa thuốc thử và khoang chứa dung dịch đệm



- A **Cửa khoang chứa thuốc thử:** Đóng kín khoang chứa thuốc thử bằng chốt ở dưới vùng phía dưới bên phải của cửa. Khoang chứa thuốc thử có chứa hộp thuốc thử.
- B **Hộp thuốc thử:** Hộp thuốc thử là vật tư tiêu hao dùng một lần được nạp sẵn.
- C **Hộp dung dịch đệm:** Hộp dung dịch đệm là vật tư tiêu hao dùng một lần được nạp sẵn.
- D **Hộp đựng thuốc thử đã sử dụng:** Thuốc thử đã sử dụng được thu gom để thải bỏ sau mỗi lần chạy.
- E **Cửa khoang chứa dung dịch đệm:** Đóng kín khoang chứa dung dịch đệm bằng chốt ở phía dưới góc dưới bên trái của cửa.

Khoang chứa bộ lọc không khí

Khoang chứa bộ lọc không khí có chứa bộ lọc không khí và nằm ở phía sau thiết bị. Thay thế bộ lọc không khí 90 ngày một lần. Để biết thông tin về việc thay thế bộ lọc, xem mục [Thay thế bộ lọc không khí trên trang 38](#).



Phần mềm NextSeq 550Dx




Phần mềm thiết bị bao gồm các ứng dụng được tích hợp để thực hiện các lần chạy giải trình tự.

- ▶ **NextSeq Control Software (NCS):** Phần mềm điều khiển hướng dẫn bạn toàn bộ các bước thiết lập một lần chạy giải trình tự.
- ▶ **Phần mềm Real-Time Analysis (RTA):** RTA thực hiện phân tích hình ảnh và phát hiện base trong lần chạy. Thiết bị NextSeq 550Dx sử dụng RTA v2, là phiên bản phần mềm có những điểm khác biệt quan trọng về cấu trúc và tính năng so với các phiên bản trước đây. Để biết thêm thông tin, hãy xem mục [Real-Time Analysis trên trang 55](#).

Biểu tượng trạng thái

Biểu tượng trạng thái ở góc trên cùng bên phải của NCS báo hiệu mọi thay đổi về trạng thái trong quá trình thiết lập lần chạy hoặc trong khi chạy.

Biểu tượng trạng thái	Tên trạng thái	Mô tả
	Status OK (Trạng thái OK)	Hệ thống hoạt động bình thường.
	Processing (Đang xử lý)	Hệ thống đang xử lý.

Biểu tượng trạng thái	Tên trạng thái	Mô tả
	Warning (Cảnh báo)	Đã xuất hiện cảnh báo. Cảnh báo không khiến lần chạy dừng lại hay yêu cầu hành động trước khi tiếp tục.
	Error (Lỗi)	Đã xảy ra lỗi. Lỗi yêu cầu hành động trước khi tiếp tục thực hiện lần chạy.
	Service Needed (Cần bảo dưỡng)	Đã xuất hiện thông báo yêu cầu sự chú ý. Xem thông báo để biết thêm thông tin.

Khi trạng thái thay đổi, biểu tượng sẽ nhấp nháy để cảnh báo bạn. Chọn biểu tượng để xem nội dung mô tả về trạng thái. Chọn **Acknowledge** (Xác nhận) để chấp nhận thông báo và **Close** (Đóng) để đóng hộp thoại.

LƯU Ý

Việc xác nhận thông báo sẽ đặt lại biểu tượng và thông báo sẽ chuyển sang màu xám. Thông báo vẫn hiển thị với người dùng nếu họ chọn biểu tượng, nhưng sẽ biến mất sau khi NCS được khởi động lại.

Nút nguồn

Nút nguồn ở mặt trước NextSeq 550Dx có tác dụng bật nguồn thiết bị và máy tính thiết bị. Nút nguồn thực hiện những hành động sau đây, tùy thuộc vào trạng thái của nguồn thiết bị. Theo mặc định, sau khi khởi động, NextSeq 550Dx sẽ vào chế độ chẩn đoán.

Để biết thông tin về cách bật nguồn ban đầu của thiết bị, xem mục *Khởi động thiết bị trên trang 11*.

Để biết thông tin về cách tắt thiết bị, xem mục *Tắt thiết bị trên trang 41*.

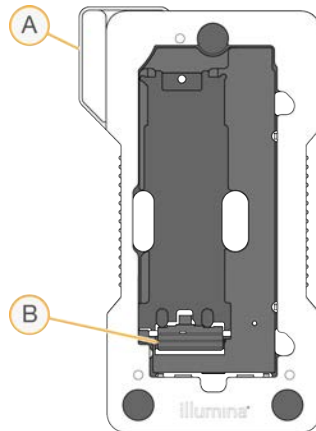
Trạng thái nguồn	Hành động
Nguồn thiết bị đang tắt	Nhấn nút này để bật nguồn.
Nguồn thiết bị đang bật	Nhấn nút này để tắt nguồn. Một hộp thoại xuất hiện trên màn hình để xác nhận việc tắt thiết bị.
Nguồn thiết bị đang bật	Nhấn và giữ nút nguồn trong 10 giây để buộc thiết bị và máy tính thiết bị tắt. Chỉ áp dụng phương pháp này để tắt thiết bị khi thiết bị không phản hồi.

LƯU Ý Việc tắt thiết bị trong khi chạy giải trình tự sẽ kết thúc lần chạy ngay lập tức. Kết thúc lần chạy là bước cuối cùng. Bạn không thể tái sử dụng vật tư tiêu hao dùng trong lần chạy. Dữ liệu giải trình tự từ lần chạy sẽ không được lưu.

Tổng quan về adapter BeadChip có thể tái sử dụng

Adapter BeadChip có thể tái sử dụng chứa BeadChip trong quá trình quét. BeadChip được cố định trong hốc của adapter bằng kẹp giữ. Sau đó, adapter BeadChip được nạp vào bộ trong khoang chụp ảnh.

Hình 3 Adapter BeadChip có thể tái sử dụng



A Adapter BeadChip

B Kẹp giữ

Tổng quan về bộ kit thuốc thử

Tổng quan về vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

Các vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự cần có để chạy NextSeq 550Dx được cung cấp riêng trong bộ kit dùng một lần. Mỗi bộ kit bao gồm 1 tế bào dòng chảy, 1 hộp thuốc thử, 1 hộp dung dịch đệm và dung dịch đệm pha loãng thư viện. Để biết thêm thông tin, hãy xem tờ hướng dẫn sử dụng của *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cycles)*, *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles)* hoặc *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)*.

Tế bào dòng chảy, hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm sử dụng chức năng nhận dạng bằng tần số vô tuyến (RFID, Radio-Frequency Identification) để theo dõi vật tư tiêu hao và biết được tính tương thích chính xác.

THẬN TRỌNG

Bộ kit NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 yêu cầu NOS 1.3 trở lên để thiết bị chấp nhận Hộp tế bào dòng chảy v2.5. Hoàn tất việc cập nhật phần mềm trước khi chuẩn bị mẫu và vật tư tiêu hao để tránh lãng phí thuốc thử và/hoặc mẫu.

LƯU Ý

Bảo quản các vật tư tiêu hao dùng cho giải trình tự trong hộp đựng cho đến khi sẵn sàng sử dụng.



Thông tin về khả năng tương thích ghi trên nhãn bộ kit

Các thành phần bộ kit được ghi nhãn với chỉ báo theo màu để thể hiện khả năng tương thích giữa các tế bào dòng chảy và hộp thuốc thử. Luôn sử dụng hộp thuốc thử và tế bào dòng chảy tương thích.

Hộp dung dịch đệm là giống nhau.

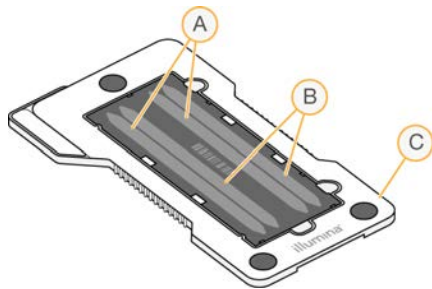
Mỗi tế bào dòng chảy và hộp thuốc thử được ghi nhãn là **High** (Cao) hoặc **Mid** (Trung bình).

Luôn kiểm tra nhãn khi bạn chuẩn bị vật tư tiêu hao cho một lần chạy.

Loại bộ kit	Đánh dấu trên nhãn
Thành phần bộ kit hiệu suất cao	
Thành phần bộ kit hiệu suất trung bình	

Tổng quan về tế bào dòng chảy

Hình 4 Hộp tế bào dòng chảy



- A Cặp làn A: Làn 1 và 3
- B Cặp làn B: Làn 2 và 4
- C Khung hộp tế bào dòng chảy

Tế bào dòng chảy là chất nền dựa trên thủy tinh. Quá trình tạo cụm và phản ứng giải trình tự sẽ diễn ra trên tế bào này. Tế bào dòng chảy nằm trong hộp tế bào dòng chảy.

Tế bào dòng chảy chứa 4 làn được chụp ảnh theo cặp.

- ▶ Làn 1 và 3 (cặp làn A) được chụp ảnh cùng lúc.
- ▶ Làn 2 và 4 (cặp làn B) được chụp ảnh sau khi đã chụp xong cặp làn A.

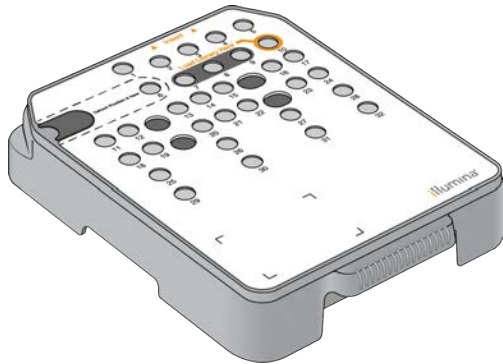
Mặc dù tế bào dòng chảy có 4 làn nhưng chỉ có một thư viện hoặc một bộ thư viện đã gộp nhóm được giải trình tự trên tế bào dòng chảy. Các thư viện được nạp vào hộp thuốc thử từ một ngăn chứa rồi tự động truyền vào cả 4 làn của tế bào dòng chảy.

Mỗi làn được chụp ảnh trong một khu vực chụp ảnh nhỏ gọi là ô. Để biết thêm thông tin, xem mục [Ô trên tế bào dòng chảy trên trang 59](#).

Tổng quan về hộp thuốc thử

Hộp thuốc thử là vật tư tiêu hao dùng một lần có công nghệ theo dõi bằng RFID và có ngăn chứa dán kín bằng màng nhôm nạp sẵn các thuốc thử dùng trong phân cụm và giải trình tự.

Hình 5 Hộp thuốc thử



Hộp thuốc thử có một ngăn chứa dành riêng cho việc nạp các thư viện đã chuẩn bị. Sau khi lần chạy bắt đầu, các thư viện được tự động truyền từ ngăn chứa đến tế bào dòng chảy.

Một số ngăn chứa được dành riêng cho quy trình rửa tự động sau lần chạy. Dung dịch rửa được bơm từ hộp dung dịch đệm vào ngăn chứa dành riêng, qua hệ thống, rồi vào hộp đựng thuốc thử đã sử dụng.

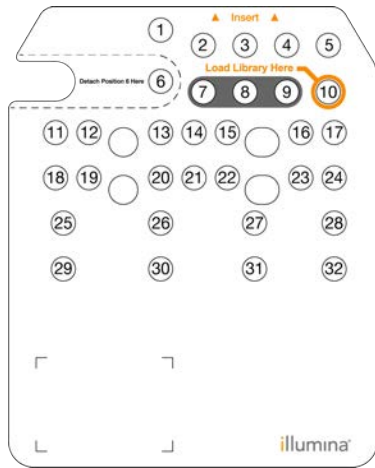


CẢNH BÁO

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem SDS tại support.illumina.com/sds.html.

Ngăn chứa dành riêng

Hình 6 Ngăn chứa được đánh số



Vị trí	Mô tả
7, 8 và 9	Dành riêng cho mỗi tùy chỉnh tùy chọn
10	Nạp thư viện

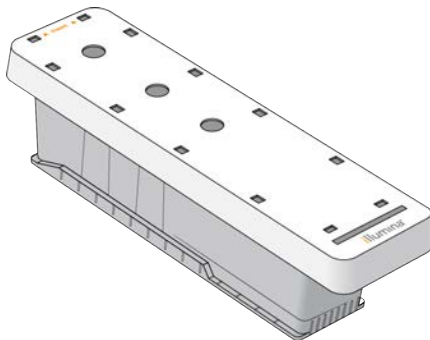
Ngăn chứa có thể tháo rời ở vị trí số 6

Hộp thuốc thử nạp sẵn bao gồm thuốc thử biến tính ở vị trí số 6 có chứa formamide. Ngăn chứa ở vị trí số 6 có thể tháo rời để hỗ trợ thải bỏ toàn bộ phần thuốc thử chưa sử dụng một cách an toàn sau lần chạy giải trình tự. Để biết thêm thông tin, xem mục [Tháo ngăn chứa đã sử dụng khỏi vị trí số 6 trên trang 22](#).

Tổng quan về hộp dung dịch đệm

Hộp dung dịch đệm là vật tư tiêu hao dùng một lần có 3 ngăn chứa được nạp sẵn dung dịch đệm và dung dịch rửa. Các thành phần trong hộp dung dịch đệm đủ dùng cho việc giải trình tự một tế bào dòng chảy.

Hình 7 Hộp dung dịch đệm



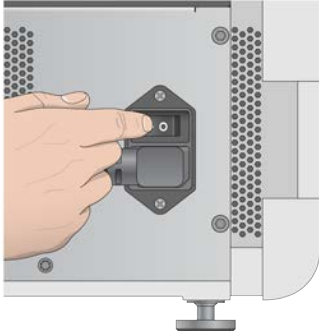
Chương 2 Bắt đầu

Khởi động thiết bị	11
Tùy chỉnh chế độ cài đặt hệ thống	12
Các vật tư tiêu hao và thiết bị do người dùng tự chuẩn bị	13

Khởi động thiết bị

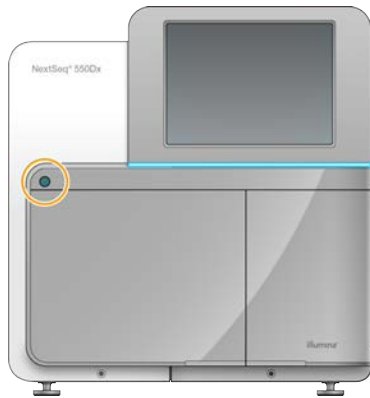
Bật công tắc nguồn sang vị trí I (bật).

Hình 8 Công tắc nguồn nằm ở mặt sau thiết bị



- 1 Nhấn nút nguồn ở phía trên khoang chứa thuốc thử. Nút nguồn sẽ bật nguồn thiết bị và khởi động phần mềm cũng như máy tính thiết bị tích hợp.

Hình 9 Nút nguồn nằm ở mặt trước thiết bị



- 2 Chờ đến khi hệ điều hành tải xong. NextSeq Control Software (NCS) tự động khởi động và khởi chạy hệ thống. Sau khi bước khởi chạy hoàn tất, màn hình Home (Chính) sẽ mở ra.
- 3 Nhập tên người dùng và mật khẩu Local Run Manager của bạn. Để biết thông tin về mật khẩu, hãy xem mục *Mật khẩu người dùng ở trang 1*. Để biết thông tin về cách thiết lập tài khoản trên Local Run Manager, hãy xem mục *Các chế độ cài đặt quản trị và tác vụ ở trang 1*.
- 4 Chọn **Login** (Đăng nhập).
Màn hình Home (Chính) mở ra, với các biểu tượng Sequence (Giải trình tự), Local Run Manager, Manage Instrument (Quản lý thiết bị) và Perform Wash (Thực hiện quy trình rửa).

Chỉ báo chế độ của thiết bị

Chế độ mặc định của NextSeq 550Dx là chế độ chẩn đoán. Nội dung sau trên màn hình của NCS cho biết chế độ của thiết bị.

Chế độ	Màn hình Home (Chính)	Thanh màu	Hướng biểu tượng trạng thái
Chế độ chẩn đoán	Welcome to NextSeqDx (Chào mừng bạn đến với NextSeqDx)	Xanh lam	Ngang
Chế độ nghiên cứu	Welcome to NextSeq (Chào mừng bạn đến với NextSeq)	Cam	Dọc

Tùy chỉnh chế độ cài đặt hệ thống

Phần mềm vận hành bao gồm chế độ cài đặt hệ thống có thể tùy chỉnh để nhận dạng thiết bị, tùy chọn đầu vào, chế độ cài đặt âm thanh và vị trí thư mục đầu ra. Để thay đổi chế độ cài đặt cấu hình mạng, xem mục [Định cấu hình chế độ cài đặt hệ thống trên trang 50](#).

Các lựa chọn tùy chỉnh:

- ▶ Tùy chỉnh thông tin nhận dạng thiết bị (ảnh đại diện và biệt danh)
- ▶ Đặt tùy chọn đầu vào và chỉ báo âm thanh
- ▶ Đặt các tùy chọn thiết lập lần chạy
- ▶ Các tùy chọn tắt
- ▶ Định cấu hình khởi động thiết bị sau bước kiểm tra trước khi chạy
- ▶ Chọn gửi dữ liệu hiệu suất thiết bị đến Illumina
- ▶ Chỉ định thư mục đầu ra cho lần chạy

Tùy chỉnh biệt danh và ảnh đại diện của thiết bị

- 1 Từ màn hình Home (Chính), chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
- 2 Chọn **System Customization** (Tùy chỉnh hệ thống).
- 3 Để chỉ định hình ảnh bạn muốn cho thiết bị, hãy chọn **Browse** (Duyệt) rồi tìm đến hình ảnh đó.
- 4 Trong trường Nick Name (Biệt danh), hãy nhập tên bạn muốn cho thiết bị.
- 5 Chọn **Save** (Lưu) để lưu chế độ cài đặt và chuyển sang màn hình tiếp theo. Hình ảnh và tên xuất hiện ở góc trên bên trái của mỗi màn hình.

Đặt tùy chọn bàn phím và chỉ báo âm thanh

- 1 Từ màn hình Home (Chính), chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
- 2 Chọn **System Customization** (Tùy chỉnh hệ thống).
- 3 Chọn hộp kiểm **Use on-screen keyboard** (Sử dụng bàn phím trên màn hình) nhằm kích hoạt bàn phím trên màn hình để nhập dữ liệu vào thiết bị.
- 4 Chọn hộp kiểm **Play audio** (Phát âm thanh) để bật chỉ báo âm thanh cho các sự kiện sắp tới.
 - ▶ Khi khởi chạy thiết bị
 - ▶ Khi bắt đầu lần chạy
 - ▶ Khi một số lỗi nhất định xuất hiện

- ▶ Khi cần người dùng tương tác
- ▶ Khi hoàn thành lần chạy

5 Chọn **Save** (Lưu) để lưu chế độ cài đặt và chuyển sang màn hình tiếp theo.

Đặt các tùy chọn thiết lập lần chạy

- 1 Từ màn hình Manage Instrument (Quản lý thiết bị), chọn **System Customization** (Tùy chỉnh hệ thống).
- 2 Chọn hộp kiểm **Use Advanced Load Consumables** (Sử dụng tính năng nạp vật tư tiêu hao nâng cao) để bật tùy chọn nạp tất cả vật tư tiêu hao cho lần chạy từ một màn hình duy nhất.
- 3 Chọn hộp kiểm **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Bỏ qua bước xác nhận kiểm tra trước khi chạy) để tự động bắt đầu giải trình tự sau khi kiểm tra tự động thành công.
- 4 Chọn **Save** (Lưu) để lưu chế độ cài đặt và thoát khỏi màn hình.

Đặt tùy chọn tự động tháo rửa

- 1 Từ màn hình Manage Instrument (Quản lý thiết bị), chọn **System Customization** (Tùy chỉnh hệ thống).
- 2 Chọn hộp kiểm **Purge Consumables at End of Run** (Tháo rửa vật tư tiêu hao khi kết thúc lần chạy) để tự động tháo rửa thuốc thử chưa sử dụng hết từ hộp thuốc thử vào hộp đựng thuốc thử đã sử dụng sau mỗi lần chạy.

LƯU Ý Việc tự động tháo rửa vật tư tiêu hao sẽ kéo dài thời gian hoàn thành quy trình công việc.

- 3 Chọn **Save** (Lưu) để lưu chế độ cài đặt và thoát khỏi màn hình.

Các vật tư tiêu hao và thiết bị do người dùng tự chuẩn bị

Các vật tư tiêu hao và thiết bị sau được sử dụng trên NextSeq 550Dx. Các vật tư tiêu hao và thiết bị sau được sử dụng cho quá trình chuẩn bị vật tư tiêu hao, giải trình tự và bảo trì thiết bị. Để biết thêm thông tin, hãy xem *NextSeq 550 System Guide* (Hướng dẫn về Hệ thống NextSeq 550).

Vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp	Mục đích
Khăn lau tẩm cồn, isopropyl 70% hoặc Ethanol 70%	VWR, danh mục số 95041-714 (hoặc tương đương) Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Làm sạch tế bào dòng chảy và mục đích thông dụng
Giấy lụa dùng cho phòng thí nghiệm, ít bụi	VWR, danh mục số 21905-026 (hoặc tương đương)	Làm sạch tế bào dòng chảy và mục đích thông dụng

Vật tư tiêu hao dùng cho bảo trì và khắc phục sự cố

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp	Mục đích
NaOCl, 5% (natri hypoclorit)	Sigma-Aldrich, danh mục số 239305 (hoặc sản phẩm tương đương cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm)	Rửa thiết bị bằng quy trình rửa thủ công sau khi chạy; pha loãng đến mức 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, danh mục số P7949	Rửa thiết bị bằng tùy chọn rửa thủ công; pha loãng đến mức 0,05%
Nước, cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường	Rửa thiết bị (quy trình rửa thủ công)
Bộ lọc không khí	Illumina, danh mục số 20022240	Làm sạch không khí mà thiết bị hút vào để làm mát

Hướng dẫn về nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm

Luôn sử dụng nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm hoặc nước khử ion để thực hiện các quy trình của thiết bị. Tuyệt đối không dùng nước máy. Chỉ sử dụng các cấp độ nước hoặc các loại tương đương sau:

- ▶ Nước khử ion
- ▶ Illumina PW1
- ▶ Nước 18 Megohm (MΩ)
- ▶ Nước Milli-Q
- ▶ Nước Super-Q
- ▶ Nước cấp độ sinh học phân tử

Thiết bị

Vật tư	Nguồn
Tủ đông, -25°C đến -15°C, không đóng băng	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Tủ lạnh, 2°C đến 8°C	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường

Chương 3 Giải trình tự

Giới thiệu	15
Quy trình công việc giải trình tự	16
Chuẩn bị hộp thuốc thử	16
Chuẩn bị tế bào dòng chảy	17
Chuẩn bị thư viện để giải trình tự	17
Thiết lập lần chạy giải trình tự	18
Giám sát tiến trình chạy	25
Tự động rửa sau lần chạy	26

Giới thiệu

Để thực hiện một lần chạy giải trình tự trên thiết bị NextSeq 550Dx, hãy chuẩn bị hộp thuốc thử và tế bào dòng chảy, rồi làm theo lời nhắc của phần mềm để thiết lập và bắt đầu lần chạy. Việc tạo cụm và giải trình tự được thực hiện trên thiết bị. Sau lần chạy, quy trình rửa thiết bị sẽ tự động bắt đầu, sử dụng các thành phần đã nạp sẵn trên thiết bị.

Tạo cụm

Trong quá trình tạo cụm, các phân tử ADN đơn lẻ gắn với bề mặt của tế bào dòng chảy rồi được khuếch đại để hình thành các cụm.

Giải trình tự

Các cụm được chụp ảnh bằng tổ hợp bộ lọc và hóa học giải trình tự 2 kênh của riêng từng nucleotide được gắn nhãn huỳnh quang. Sau khi một ô trên tế bào dòng chảy được chụp ảnh xong, ô tiếp theo sẽ được chụp ảnh. Quá trình này được lặp lại cho mỗi chu kỳ giải trình tự. Sau khi phân tích hình ảnh, phần mềm tiến hành phát hiện base, lọc và chấm điểm chất lượng.

Phân tích

Khi tiến hành lần chạy, phần mềm vận hành sẽ tự động truyền các tệp phát hiện base (BCL) đến vị trí đầu ra được chỉ định để thực hiện quá trình phân tích phụ.

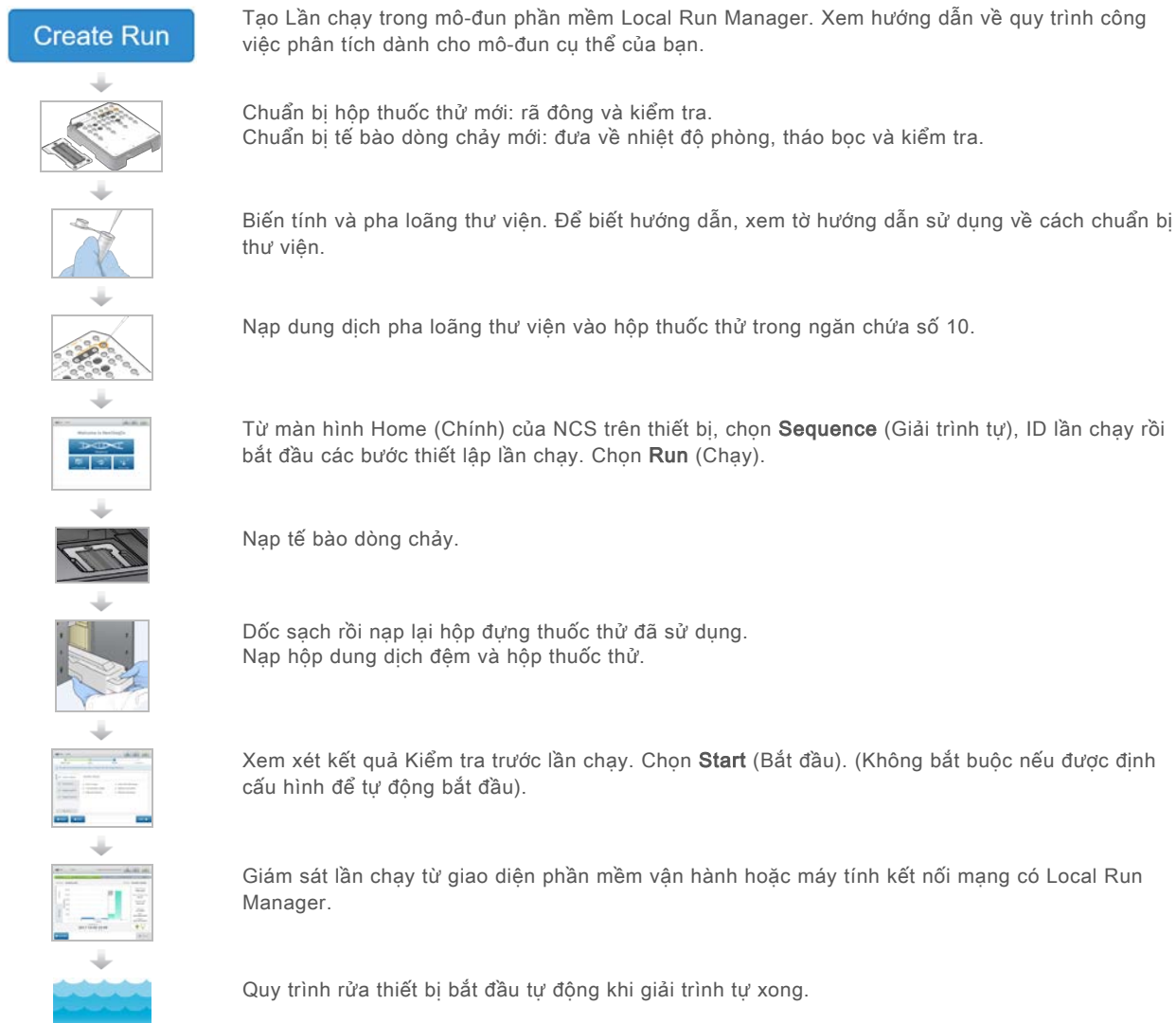
Thời lượng lần chạy giải trình tự

Thời lượng lần chạy giải trình tự phụ thuộc vào số lượng chu kỳ được thực hiện. Độ dài lần chạy tối đa là lần chạy kết đôi gồm 150 chu kỳ trong mỗi đoạn đọc (2 x 150), cộng thêm tối đa 8 chu kỳ/đoạn đọc cho 2 đoạn đọc chỉ thị.

Số chu kỳ trong một đoạn đọc

Trong một lần chạy giải trình tự, số chu kỳ được thực hiện trong một đoạn đọc sẽ nhiều hơn 1 chu kỳ so với số chu kỳ được phân tích. Ví dụ: lần chạy kết đôi 150 chu kỳ sẽ thực hiện các đoạn đọc gồm 151 chu kỳ (2 x 151), tổng là 302 chu kỳ. Khi kết thúc lần chạy, có 2 x 150 chu kỳ được phân tích. Chu kỳ bổ sung là bắt buộc để tính toán định pha và tiền định pha.

Quy trình công việc giải trình tự



Chuẩn bị hộp thuốc thử

Bạn cần cẩn thận làm theo các hướng dẫn của hộp thuốc thử để giải trình tự thành công.

- 1 Lấy hộp thuốc thử ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ -25° đến -15°C .
- 2 Chọn một trong các phương pháp sau đây để rã đông thuốc thử. Không nhấn chìm hộp. Sau khi rã đông hộp, hãy lau khô hộp trước khi chuyển sang bước tiếp theo.

Nhiệt độ	Thời gian cần để rã đông	Giới hạn ổn định
Bồn nước 15°C đến 30°C	60 phút	Không quá 6 giờ
2°C đến 8°C	7 giờ	Không quá 7 ngày

LƯU Ý Nếu rã đông nhiều hộp trong cùng một bồn nước, hãy tăng thêm thời gian rã đông.

- 3 Úp ngửa hộp năm lần để trộn các thuốc thử.
- 4 Kiểm tra đáy hộp để đảm bảo rằng thuốc thử đã được rã đông và không có kết tủa. Xác nhận rằng các vị trí số 29, 30, 31 và 32 đã được rã đông, vì đây là các vị trí lớn nhất và mất nhiều thời gian rã đông nhất.
- 5 Gõ nhẹ lên bàn thí nghiệm để giảm bọt khí.
Để có kết quả tốt nhất, hãy chuyển ngay sang quá trình nạp mẫu và thiết lập lần chạy.



CẢNH BÁO

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem SDS tại support.illumina.com/sds.html.

Chuẩn bị tế bào dòng chảy

- 1 Lấy một hộp tế bào dòng chảy mới ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ 2°C đến 8°C.
- 2 Lấy túi nhôm ra khỏi hộp và để ở nhiệt độ phòng trong 30 phút.

LƯU Ý Nếu túi nhôm còn nguyên vẹn, tế bào dòng chảy có thể duy trì tình trạng ở nhiệt độ phòng trong tối đa 12 giờ. Tránh liên tục làm mát và làm ấm tế bào dòng chảy.

Chuẩn bị thư viện để giải trình tự

Biến tính và pha loãng thư viện đến mức thể tích nạp 1,3 ml. Trên thực tế, nồng độ nạp có thể thay đổi tùy vào phương pháp chuẩn bị và định lượng thư viện. Việc pha loãng thư viện mẫu phụ thuộc vào độ phức tạp của các nhóm gộp oligonucleotide. Nếu bạn muốn biết hướng dẫn về cách chuẩn bị thư viện mẫu để giải trình tự, bao gồm cả cách pha loãng và gộp nhóm thư viện, hãy xem phần Hướng dẫn sử dụng dành cho bộ kit chuẩn bị thư viện tương ứng. Bạn phải tối ưu hóa mật độ cụm trên NextSeq 550Dx.

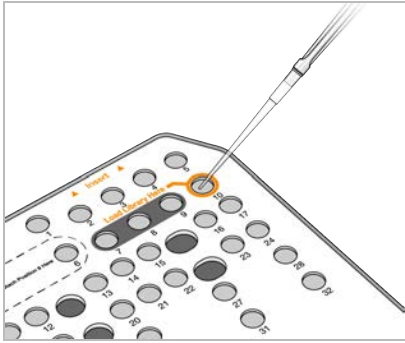
Biến tính và pha loãng thư viện

Biến tính và pha loãng thư viện đến thể tích nạp 1,3 ml và nồng độ nạp 1,8 pM. Trên thực tế, nồng độ nạp có thể thay đổi tùy vào phương pháp chuẩn bị và định lượng thư viện. Để biết hướng dẫn, xem tờ hướng dẫn sử dụng về cách chuẩn bị thư viện.

Nạp thư viện vào hộp thuốc thử

- 1 Dùng giấy lụa ít bụi lau sạch màng nhôm dán kín ngăn chứa số 10 có nhãn **Load Library Here** (Nạp thư viện tại đây).
- 2 Dùng đầu pipet 1 ml sạch đâm thủng màng nhôm.
- 3 Nạp 1,3 ml thư viện đã chuẩn bị vào ngăn chứa số 10 có nhãn **Load Library Here** (Nạp thư viện tại đây). Tránh chạm vào màng nhôm khi phân phối các thư viện.

Hình 10 Nạp thư viện



Thiết lập lần chạy giải trình tự

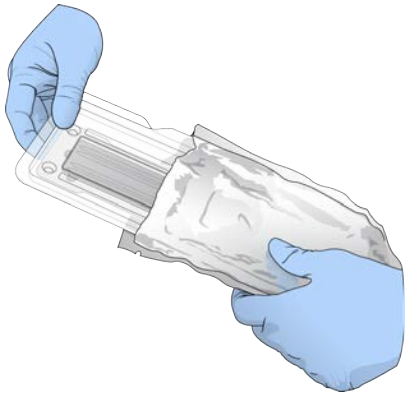
Đăng nhập vào BaseSpace

- 1 Nhập tên người dùng và mật khẩu BaseSpace của bạn.
- 2 Chọn **Next** (Tiếp).

Nạp tế bào dòng chảy

- 1 Loại bỏ tế bào dòng chảy đã sử dụng từ lần chạy trước.
- 2 Lấy tế bào dòng chảy ra khỏi túi nhôm.

Hình 11 Lấy khỏi túi nhôm



- 3 Mở hộp nhựa trong suốt dạng vỏ sò và lấy tế bào dòng chảy ra.

Hình 12 Lấy khỏi hộp dạng vỏ sò

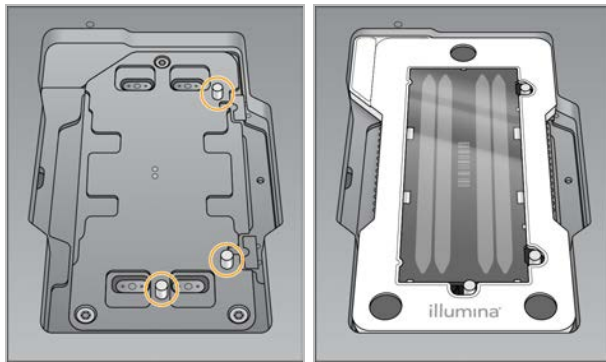


- 4 Làm sạch bề mặt thủy tinh của tế bào dòng chảy bằng khăn lau không xơ vải tẩm cồn. Sử dụng giấy lụa mịn dùng cho phòng thí nghiệm để lau khô phần thủy tinh.

LƯU Ý Đảm bảo bề mặt thủy tinh của tế bào dòng chảy sạch sẽ. Nếu cần, hãy lặp lại bước làm sạch.

- 5 Căn chỉnh tế bào dòng chảy bằng các ghim căn chỉnh và đặt tế bào dòng chảy lên bệ.

Hình 13 Nạp tế bào dòng chảy



- 6 Chọn **Load** (Nạp).
Cửa sẽ tự động đóng lại, ID tế bào dòng chảy xuất hiện trên màn hình và các cảm biến được kiểm tra.

LƯU Ý Không để tay ở cửa tế bào dòng chảy khi cửa đang đóng để tránh bị kẹp tay.

- 7 Chọn **Next** (Tiếp).

Dốc sạch hộp đựng thuốc thử đã sử dụng

- 1 Mở cửa khoang chứa dung dịch đệm bằng chốt ở phía dưới góc dưới bên trái của cửa.
- 2 Tháo hộp đựng thuốc thử đã sử dụng rồi thải bỏ dung dịch bên trong theo tiêu chuẩn hiện hành.

Hình 14 Tháo hộp đựng thuốc thử đã sử dụng



LƯU Ý Khi bạn tháo hộp đựng, hãy dùng một tay đỡ ở phía dưới.

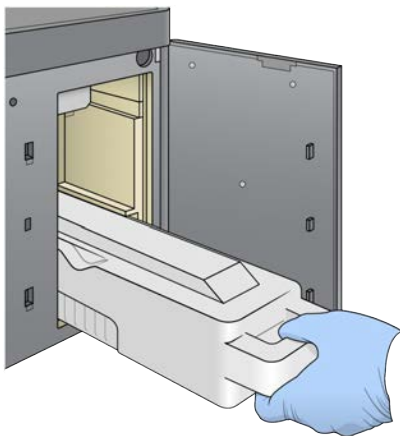


CẢNH BÁO

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem SDS tại support.illumina.com/sds.html.

- 3 Trượt hộp đựng thuốc thử đã sử dụng rỗng vào khoang chứa dung dịch đệm cho đến khi hộp đựng dừng lại. Tiếng ăn khớp cho biết rằng hộp đựng đã ở đúng vị trí.

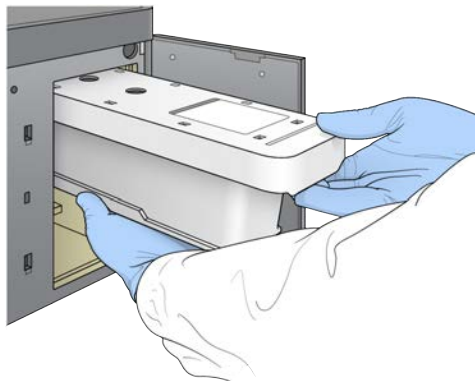
Hình 15 Nạp hộp đựng thuốc thử đã sử dụng rỗng



Nạp hộp dung dịch đệm

- 1 Tháo hộp dung dịch đệm đã sử dụng khỏi khoang chứa bên trên. Bạn cần dùng lực để nhấc rồi kéo hộp dung dịch đệm ra.
- 2 Trượt hộp dung dịch đệm mới vào khoang chứa dung dịch đệm cho đến khi hộp dừng lại. Tiếng ăn khớp cho biết rằng hộp đã ở đúng vị trí, ID hộp dung dịch đệm sẽ xuất hiện trên màn hình và cảm biến được kiểm tra.

Hình 16 Nạp hộp dung dịch đệm



- 3 Đóng cửa khoang chứa dung dịch đệm, rồi chọn **Next** (Tiếp).

Nạp hộp thuốc thử

- 1 Mở cửa khoang chứa thuốc thử bằng chốt ở phía dưới góc dưới bên phải của cửa.
- 2 Tháo hộp thuốc thử đã sử dụng khỏi khoang chứa thuốc thử. Thải bỏ thuốc thử chưa sử dụng theo tiêu chuẩn hiện hành.



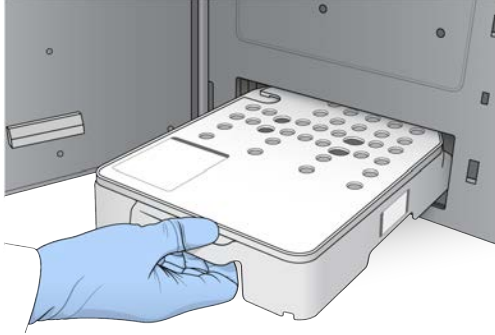
CẢNH BÁO

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem SDS tại support.illumina.com/sds.html.

LƯU Ý Để hỗ trợ thải bỏ thuốc thử chưa sử dụng một cách an toàn, ngăn chứa ở vị trí số 6 là ngăn có thể tháo rời. Để biết thêm thông tin, xem mục *Tháo ngăn chứa đã sử dụng khỏi vị trí số 6* trên trang 22.

- 3 Trượt hộp thuốc thử vào khoang chứa thuốc thử cho đến khi hộp dừng lại, rồi đóng cửa khoang chứa thuốc thử.

Hình 17 Nạp hộp thuốc thử



4 Chọn **Load** (Nạp).

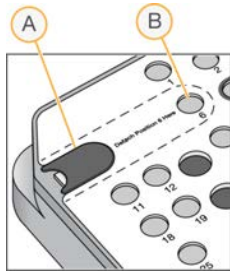
Phần mềm tự động di chuyển hộp vào vị trí (khoảng 30 giây), ID hộp thuốc thử xuất hiện trên màn hình và các cảm biến được kiểm tra.

5 Chọn **Next** (Tiếp).

Tháo ngăn chứa đã sử dụng khỏi vị trí số 6

- 1 Sau khi bạn tháo hộp thuốc thử **đã sử dụng** khỏi thiết bị, hãy tháo nắp cao su bảo vệ phía trên rãnh bên cạnh vị trí số 6.

Hình 18 Vị trí số 6 có thể tháo rời



- A Nắp cao su bảo vệ
- B Vị trí số 6

- 2 Ấn mẫu cầm bằng nhựa trong xuống rồi đẩy sang trái để đẩy ngăn chứa ra.
- 3 Thải bỏ ngăn chứa theo tiêu chuẩn hiện hành.

Chỉ định thông số lần chạy

Các bước trên màn hình Run Setup (Thiết lập lần chạy) sẽ khác nhau, tùy thuộc vào cấu hình hệ thống:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace hoặc BaseSpace Onsite): Màn hình Run Setup (Thiết lập lần chạy) liệt kê các lần chạy được thiết lập bằng tab BaseSpace Prep (Chuẩn bị BaseSpace). Nếu lần chạy bạn dự định dùng không xuất hiện trên màn hình Run Setup (Thiết lập lần chạy), hãy đảm bảo đã đánh dấu giải trình tự lần chạy đó trong BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (Độc lập): Màn hình Run Setup (Thiết lập lần chạy) bao gồm các trường để xác định thông số lần chạy.

Chọn lần chạy có sẵn (Cấu hình BaseSpace)

- 1 Chọn tên lần chạy từ danh sách lần chạy có sẵn.
Sử dụng mũi tên lên và xuống để cuộn qua danh sách hoặc nhập tên lần chạy vào trường Search (Tìm kiếm).
- 2 Chọn **Next** (Tiếp).
- 3 Xác nhận thông số lần chạy.
 - ▶ **Run Name** (Tên lần chạy): Tên của lần chạy như được chỉ định trong BaseSpace.
 - ▶ **Library ID** (ID thư viện): Tên của các thư viện gộp nhóm như được chỉ định trong BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (Công thức): Tên của công thức, là **NextSeq High** hoặc **NextSeq Mid**, tùy thuộc vào hộp thuốc thử bạn dùng trong lần chạy.
 - ▶ **Read Type** (Loại đoạn đọc): Single Read (Đoạn đọc đơn) hoặc Paired End (Kết đôi).
 - ▶ **Read Length** (Độ dài đoạn đọc): Số lượng chu kỳ trong mỗi đoạn đọc.
 - ▶ **[Không bắt buộc]** Custom Primer (Mồi tùy chỉnh), nếu phù hợp.
 - ▶ **Run parameters** (Thông số lần chạy): Thay đổi số lượng đoạn đọc hoặc số lượng chu kỳ trong mỗi đoạn đọc.
 - ▶ **Custom primers** (Mồi tùy chỉnh): Thay đổi chế độ cài đặt cho mồi tùy chỉnh. Để biết thêm thông tin, xem *NextSeq Custom Primers Guide (Hướng dẫn về mồi tùy chỉnh NextSeq) (tài liệu số 15057456)*.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Tháo rửa vật tư tiêu hao cho lần chạy này): Thay đổi chế độ cài đặt để tự động tháo rửa vật tư tiêu hao sau lần chạy hiện tại.
- 4 Chọn **Next** (Tiếp).

Nhập thông số lần chạy (Cấu hình độc lập)

- 1 Nhập tên lần chạy theo ý thích.
- 2 **[Không bắt buộc]** Nhập ID thư viện theo ý thích.
- 3 Chọn loại đoạn đọc, là **Single Read** (Đoạn đọc đơn) hoặc **Paired End** (Kết đôi).
- 4 Nhập số lượng chu kỳ cho mỗi đoạn đọc trong lần chạy giải trình tự.
 - ▶ **Read 1** (Đoạn đọc 1): Nhập giá trị tối đa là 151 chu kỳ.
 - ▶ **Index 1** (Chỉ thị 1): Nhập số lượng chu kỳ cần cho mỗi Chỉ thị 1 (i7).
 - ▶ **Index 2** (Chỉ thị 2): Nhập số lượng chu kỳ cần cho mỗi Chỉ thị 2 (i5).
 - ▶ **Read 2** (Đoạn đọc 2): Nhập giá trị tối đa là 151 chu kỳ. Giá trị này thường giống với số lượng chu kỳ của Đoạn đọc 1.

Phần mềm điều khiển xác nhận thông tin bạn nhập theo các tiêu chí sau:

 - ▶ Tổng số chu kỳ không vượt quá số lượng chu kỳ tối đa được phép
 - ▶ Số lượng chu kỳ của Đoạn đọc 1 lớn hơn 5 chu kỳ được dùng để tạo mẫu
 - ▶ Số lượng chu kỳ của Đoạn đọc chỉ thị không vượt quá số lượng chu kỳ của Đoạn đọc 1 và Đoạn đọc 2
- 5 **[Không bắt buộc]** Nếu bạn đang sử dụng mồi tùy chỉnh, hãy chọn hộp kiểm tương ứng với mồi được sử dụng. Để biết thêm thông tin, xem *NextSeq Custom Primers Guide (Hướng dẫn về mồi tùy chỉnh NextSeq) (tài liệu số 15057456)*.
 - ▶ **Read 1** (Đoạn đọc 1): Mồi tùy chỉnh cho Đoạn đọc 1.
 - ▶ **Index 1** (Chỉ thị 1): Mồi tùy chỉnh cho Chỉ thị 1.
 - ▶ **Index 2** (Chỉ thị 2): Mồi tùy chỉnh cho Chỉ thị 2.

- ▶ **Read 2** (Đoạn đọc 2): Mời tùy chỉnh cho Đoạn đọc 2.





6 **[Không bắt buộc]** Chọn nút **Advanced Settings**  (Chế độ cài đặt nâng cao) để thay đổi thông số lần chạy.

- ▶ Từ danh sách thả xuống Recipe (Công thức), chọn một công thức. Chỉ những công thức tương thích mới được liệt kê.
- ▶ **Output folder location** (Vị trí thư mục đầu ra): Thay đổi vị trí thư mục đầu ra cho lần chạy hiện tại. Chọn **Browse** (Duyệt) để tìm đến vị trí mạng.
- ▶ **Included file** (Tập nằm trong): Chọn đưa vào Output Folder (Thư mục đầu ra) các tập có thể giúp ích nếu cần phân tích thêm. Ví dụ: tập phiếu kê khai và danh sách mẫu.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Tháo rửa vật tư tiêu hao cho lần chạy này): Thay đổi chế độ cài đặt để tự động tháo rửa vật tư tiêu hao sau lần chạy hiện tại.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Sử dụng dịch vụ giám sát lần chạy cho lần chạy này): Thay đổi chế độ cài đặt để sử dụng dịch vụ giám sát lần chạy trong BaseSpace.

7 Chọn **Next** (Tiếp).

Xem xét bước kiểm tra trước lần chạy

Phần mềm thực hiện kiểm tra hệ thống tự động trước lần chạy. Trong khi kiểm tra, các chỉ báo sau đây sẽ xuất hiện trên màn hình:

- ▶ **Dấu kiểm màu xám**  : Chưa thực hiện kiểm tra.
- ▶ **Biểu tượng tiến trình**  : Đang kiểm tra.
- ▶ **Dấu kiểm màu xanh lục**  : Kiểm tra đạt.
- ▶ **Màu đỏ**  : Kiểm tra không đạt. Đối với các mục không đạt, bạn cần xử lý thì mới có thể tiếp tục. Xem mục [Giải quyết lỗi kiểm tra tự động trên trang 44](#).

Để dừng bước kiểm tra tự động trước lần chạy đang diễn ra, hãy chọn nút **Cancel** (Hủy). Để khởi động lại bước kiểm tra, hãy chọn nút **Retry** (Thử lại). Bước kiểm tra sẽ tiếp tục từ lần kiểm tra chưa hoàn thành hoặc không đạt đầu tiên.

Để xem kết quả của từng lần kiểm tra trong một danh mục, hãy chọn tab Category (Danh mục).

Nếu thiết bị không được định cấu hình để tự động bắt đầu lần chạy, hãy bắt đầu lần chạy sau khi bước kiểm tra tự động trước lần chạy hoàn thành.

Bắt đầu lần chạy

Khi bước kiểm tra tự động trước lần chạy hoàn tất, hãy chọn **Start** (Bắt đầu). Lần chạy giải trình tự bắt đầu.

Để định cấu hình cho hệ thống tự động bắt đầu lần chạy sau khi kiểm tra thành công, hãy xem mục [Đặt các tùy chọn thiết lập lần chạy trên trang 13](#).



THẬN TRỌNG

Đảm bảo bạn vẫn duy trì trạng thái đăng nhập vào Windows. Nếu bạn đăng xuất khỏi hệ thống Windows trong khi chạy giải trình tự, lần chạy sẽ dừng lại.

LƯU Ý Thuốc thử không thể nằm yên trong thiết bị quá 24 giờ.

Giám sát tiến trình chạy

1 Giám sát tiến trình chạy, cường độ và điểm chất lượng khi số liệu xuất hiện trên màn hình.









LƯU Ý Sau khi chọn Home (Chính), bạn không thể quay lại xem số liệu lần chạy. Tuy nhiên, bạn có thể truy cập số liệu lần chạy trên BaseSpace hoặc xem từ máy tính độc lập bằng cách sử dụng Sequencing Analysis Viewer (SAV).

Chu kỳ số liệu lần chạy

Số liệu lần chạy xuất hiện tại các thời điểm khác nhau trong lần chạy.

- ▶ Số liệu sẽ không xuất hiện trong các bước tạo cụm.
- ▶ 5 chu kỳ đầu tiên dành cho việc tạo mẫu.
- ▶ Số liệu lần chạy xuất hiện sau chu kỳ 25, bao gồm mật độ cụm, các cụm đi qua bộ lọc, năng suất và điểm chất lượng.

Truyền dữ liệu

Trạng thái	Local Run Manager	Thư mục đầu ra
Đã kết nối		
Đã kết nối và đang truyền dữ liệu		
Đã ngắt kết nối		
Bị vô hiệu hóa		

Nếu việc truyền dữ liệu bị gián đoạn trong lúc chạy, dữ liệu sẽ được lưu trữ tạm thời trên máy tính thiết bị. Khi kết nối được khôi phục, việc truyền dữ liệu sẽ tự động tiếp tục. Nếu không khôi phục được kết nối trước khi lần chạy kết thúc, hãy truyền dữ liệu theo cách thủ công từ máy tính thiết bị trước khi bắt đầu lần chạy tiếp theo.

Universal Copy Service

NextSeq 550Dx bao gồm Universal Copy Service. RTA2 yêu cầu dịch vụ này sao chép tệp từ vị trí gốc đến vị trí đích và dịch vụ này xử lý yêu cầu sao chép theo thứ tự nhận được yêu cầu. Nếu xảy ra ngoại lệ, tệp sẽ được xếp lại vào hàng đợi sao chép dựa trên số lượng tệp trong hàng đợi sao chép.

Sequencing Analysis Viewer

Phần mềm Sequencing Analysis Viewer hiển thị số liệu giải trình tự được tạo trong lần chạy. Số liệu hiển thị dưới dạng biểu đồ, đồ thị và bảng dựa trên dữ liệu được tạo bởi RTA và ghi vào tệp InterOp. Số liệu được cập nhật trong quá trình chạy. Chọn **Refresh** (Làm mới) bất kỳ lúc nào trong lần chạy để xem số liệu cập nhật. Để biết thêm thông tin, hãy xem *Sequencing Analysis Viewer User Guide* (Hướng dẫn sử dụng Sequencing Analysis Viewer) (mã bộ phận 15020619).

Sequencing Analysis Viewer nằm trong phần mềm được cài đặt trên máy tính thiết bị. Bạn cũng có thể cài đặt Sequencing Analysis Viewer trên một máy tính khác được liên kết tới cùng mạng với thiết bị này để giám sát số liệu lần chạy từ xa.

Tự động rửa sau lần chạy

Khi chạy giải trình tự xong, phần mềm sẽ khởi chạy quy trình tự động rửa sau lần chạy, sử dụng dung dịch rửa có trong hộp dung dịch đệm và NaOCl có trong hộp thuốc thử.

Quy trình tự động rửa sau lần chạy diễn ra trong khoảng 90 phút. Khi rửa xong, nút Home (Chính) sẽ khả dụng. Trong quá trình rửa, kết quả giải trình tự vẫn hiển thị trên màn hình.

Sau khi rửa

Sau khi rửa, ống sipper vẫn ở vị trí hạ xuống để ngăn không khí xâm nhập vào hệ thống. Để các hộp nguyên tại chỗ cho tới lần chạy tiếp theo.

Chương 4 Quét

Giới thiệu	27
Quy trình công việc quét	28
Tải xuống thư mục DMAP	28
Nạp BeadChip vào adapter	29
Thiết lập lần quét	30
Giám sát tiến trình quét	32

Giới thiệu

Để thực hiện một lần quét trên thiết bị NextSeq 550Dx, bạn cần các thành phần dùng cho lần chạy sau đây:

- ▶ BeadChip đã được tạo thể lai và nhuộm
- ▶ Adapter BeadChip có thể tái sử dụng
- ▶ Tập Decode Map (DMAP) cho BeadChip bạn đang sử dụng
- ▶ Tập phiếu kê khai cho loại BeadChip bạn đang sử dụng
- ▶ Tập cụm cho loại BeadChip bạn đang sử dụng

Các tập đầu ra được tạo trong khi quét, rồi được xếp vào hàng đợi để chuyển vào thư mục đầu ra đã chỉ định.

Thực hiện phân tích bằng phần mềm BlueFuse Multi, việc này yêu cầu có sẵn dữ liệu quét ở định dạng tập phát hiện kiểu gen (GTC, Genotype Call). Theo mặc định, thiết bị NextSeq 550Dx tạo phát hiện kiểu gen liên kết và dữ liệu chuẩn hóa ở định dạng tập GTC. Tùy theo ý định, bạn cũng có thể định cấu hình để thiết bị tạo tập dữ liệu cường độ (IDAT, Intensity Data) bổ sung. Để biết thêm thông tin, hãy xem mục *Cấu hình quét BeadChip* trên trang 52.

Decode File Client

Thư mục DMAP chứa thông tin xác định vị trí hạt trên BeadChip và định lượng tín hiệu có liên quan đến từng hạt. Mỗi mã vạch BeadChip có một thư mục DMAP riêng.

Tiện ích Decode File Client cho phép bạn tải xuống các thư mục DMAP trực tiếp từ các máy chủ Illumina bằng giao thức HTTP tiêu chuẩn.

Để có thể sử dụng Decode File Client, hãy truy cập [trang hỗ trợ Decode File Client](http://support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html) trên trang web Illumina (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Cài đặt Decode File Client trên máy tính có quyền truy cập vào vị trí mạng của thư mục DMAP.

Để biết thêm thông tin, xem mục *Tải xuống thư mục DMAP* trên trang 28.

Tập phiếu kê khai và tập cụm

Với mỗi BeadChip, phần mềm lại yêu cầu truy cập vào một tập phiếu kê khai và tập cụm. Mỗi loại BeadChip đều có tập phiếu kê khai và tập cụm riêng. Đảm bảo rằng bạn sử dụng tập cụm có cụm NS550 trong tên tập. Các tập này tương thích với hệ thống NextSeq 550Dx.

- ▶ **Tập phiếu kê khai:** Tập phiếu kê khai mô tả hàm lượng SNP hoặc hàm lượng đoạn dò trên một BeadChip. Tập phiếu kê khai sử dụng định dạng tập *.bpm.
- ▶ **Tập cụm:** Tập cụm mô tả vị trí cụm của mảng định kiểu gen Illumina và được sử dụng khi phân tích dữ liệu nhằm thực hiện phát hiện kiểu gen. Tập cụm sử dụng định dạng tập *.egt.

Vị trí của tệp được chỉ định trên màn hình BeadChip Scan Configuration (Cấu hình quét BeadChip). Từ màn hình Home (Chính) của NCS, chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị), **System Configuration** (Cấu hình hệ thống), rồi chọn **BeadChip Scan Configuration** (Cấu hình quét BeadChip).

Khi lắp đặt xong thiết bị NextSeq 550Dx, đại diện của Illumina sẽ tải xuống các tệp này và chỉ định đường dẫn trong phần mềm điều khiển. Bạn không cần thay đổi các tệp này, trừ trường hợp tệp bị mất hoặc có phiên bản mới. Để biết thêm thông tin, xem mục *Thay thế tệp phiếu kê khai và tệp cụm trên trang 49*.

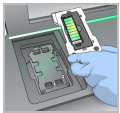
Quy trình công việc quét

DMAP

Tải xuống thông tin DMAP rồi lưu vào vị trí thư mục DMAP được chỉ định.



Nạp BeadChip vào adapter BeadChip.



Nạp adapter BeadChip vào thiết bị.



Chỉ định thông số quét: vị trí thư mục DMAP và vị trí đầu ra.



Xem xét kết quả kiểm tra tự động.
Chọn **Start** (Bắt đầu).



Giám sát lần quét từ giao diện phần mềm điều khiển.

Tải xuống thư mục DMAP

Bạn có thể truy cập thư mục DMAP bằng cách sử dụng Decode File Client theo tài khoản hoặc theo BeadChip (dạng xem mặc định).

Truy cập thư mục DMAP theo tài khoản

- 1 Từ tab chính của Decode File Client, chọn tùy chọn tải xuống:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ Tất cả BeadChip chưa được tải xuống
 - ▶ Tất cả BeadChip
 - ▶ BeadChip theo đơn mua hàng
 - ▶ BeadChip theo mã vạch
- 2 Nhập thông tin được yêu cầu.
- 3 Định vị thư mục DMAP bạn muốn tải xuống.

- 4 Đảm bảo đích tải xuống có đủ dung lượng trống.
- 5 Bắt đầu tải xuống. Xem trạng thái tải xuống trên tab Download Status and Log (Trạng thái và nhật ký tải xuống).
- 6 Lưu thư mục DMAP vào vị trí thư mục DMAP được chỉ định.

Truy cập thư mục DMAP theo BeadChip

- 1 Nhận dạng BeadChip bằng 2 trong số các tùy chọn sau:
 - ▶ Mã vạch BeadChip
 - ▶ ID hộp BeadChip
 - ▶ Số đơn mua hàng
 - ▶ Số đơn bán hàng
- 2 Định vị thư mục DMAP bạn muốn tải xuống.
- 3 Đảm bảo đích tải xuống có đủ dung lượng trống.
- 4 Bắt đầu tải xuống. Xem trạng thái tải xuống trên tab Download Status and Log (Trạng thái và nhật ký tải xuống).
- 5 Lưu thư mục DMAP vào vị trí thư mục DMAP được chỉ định.

Nạp BeadChip vào adapter

- 1 Ấn kẹp giữ adapter xuống. Kẹp sẽ hơi ngả ra sau để mở.
- 2 Cầm vào cạnh của BeadChip, đặt BeadChip sao cho mã vạch ở gần kẹp giữ rồi đặt BeadChip vào hốc của adapter.

Hình 19 Nạp BeadChip vào adapter



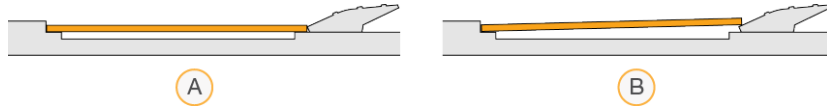
- 3 Dùng khe hở ở hai bên của BeadChip để đảm bảo BeadChip nằm đúng trong hốc của adapter.

Hình 20 Đặt và cố định vị trí BeadChip



- 4 Nhẹ nhàng nhả kẹp giữ để cố định vị trí BeadChip.
- 5 Kiểm tra BeadChip từ góc cạnh bên để đảm bảo BeadChip đã nằm bằng phẳng trên adapter. Điều chỉnh vị trí BeadChip, nếu cần.

Hình 21 Kiểm tra vị trí BeadChip



- A Vị trí đúng: BeadChip nằm bằng phẳng trên adapter sau khi nhả kẹp.
B Vị trí không đúng: BeadChip nằm chưa bằng phẳng sau khi nhả kẹp.

Thiết lập lần quét

- 1 Từ màn hình Home (Chính), chọn **Experiment** (Thử nghiệm), rồi chọn **Scan** (Quét).
Lệnh Scan (Quét) mở cửa khoang chụp ảnh, giải phóng vật tư tiêu hao từ lần chạy trước (nếu có), rồi mở ra loạt màn hình thiết lập lần quét. Hiện tượng chậm trễ trong thời gian ngắn là bình thường.

Tháo vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

Nếu thiết bị có vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự đã sử dụng khi bạn đang thiết lập lần quét, phần mềm sẽ nhắc bạn tháo hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm trước khi tiến hành bước tiếp theo.

- 1 Nếu được nhắc, hãy tháo vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự đã sử dụng từ lần chạy giải trình tự trước đó.
 - a Tháo hộp thuốc thử khỏi khoang chứa thuốc thử. Thải bỏ thuốc thử chưa sử dụng theo tiêu chuẩn hiện hành.
 - b Tháo hộp dung dịch đệm đã sử dụng khỏi khoang chứa dung dịch đệm.



CẢNH BÁO

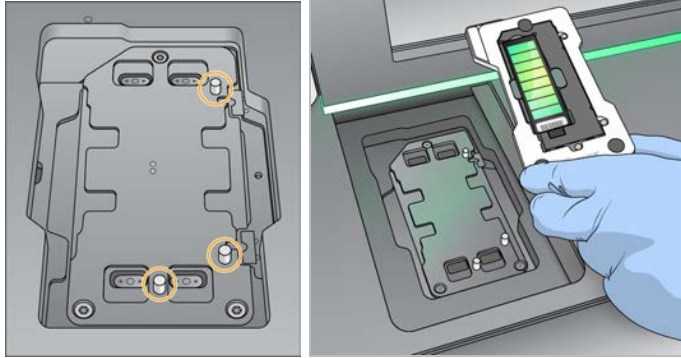
Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem SDS tại support.illumina.com/sds.html.

- 2 Tháo tế bào dòng chảy khỏi khoang chụp ảnh.
- 3 Đóng cửa khoang chứa thuốc thử và khoang chứa dung dịch đệm.

Nạp adapter BeadChip

- 1 Sử dụng các ghim căn chỉnh để đặt adapter BeadChip vào vị trí trên bệ.

Hình 22 Nạp adapter BeadChip



2 Chọn **Load** (Nạp).

Cửa sẽ tự động đóng lại, ID BeadChip xuất hiện trên màn hình và các cảm biến được kiểm tra. Hiện tượng chậm trễ trong thời gian ngắn là bình thường. Nếu phần mềm không thể đọc mã vạch BeadChip, một hộp thoại sẽ xuất hiện để bạn nhập mã vạch theo cách thủ công. Xem mục *Phần mềm không thể đọc mã vạch BeadChip* trên trang 48.

3 Chọn **Next** (Tiếp).

Thiết lập lần quét

1 Trên màn hình Scan Setup (Thiết lập lần quét), xác nhận những thông tin sau:

- ▶ **Barcode** (Mã vạch): Phần mềm đọc mã vạch BeadChip khi BeadChip được nạp. Nếu mã vạch được nhập theo cách thủ công, nút Edit (Chỉnh sửa) sẽ xuất hiện để bạn sửa đổi thêm.
- ▶ **Type** (Loại): Trường loại BeadChip được điền tự động dựa trên mã vạch BeadChip.
- ▶ **DMAP Location** (Vị trí DMAP): Vị trí thư mục DMAP được chỉ định trên màn hình BeadChip Scan Configuration (Cấu hình quét BeadChip). Để chỉ thay đổi vị trí cho lần quét hiện tại, chọn **Browse** (Duyệt) rồi tìm đến vị trí chính xác.
- ▶ **Output Location** (Vị trí đầu ra): Vị trí đầu ra được chỉ định trên màn hình BeadChip Scan Configuration (Cấu hình quét BeadChip). Để chỉ thay đổi vị trí cho lần quét hiện tại, chọn **Browse** (Duyệt) rồi tìm đến vị trí bạn muốn.

2 Chọn **Next** (Tiếp).

Xem xét bước kiểm tra trước lần chạy

Phần mềm thực hiện kiểm tra hệ thống tự động trước lần chạy. Trong khi kiểm tra, các chỉ báo sau đây sẽ xuất hiện trên màn hình:

- ▶ **Dấu kiểm màu xám** ⚪ : Chưa thực hiện kiểm tra.
- ▶ **Biểu tượng tiến trình** ⚪ : Đang kiểm tra.
- ▶ **Dấu kiểm màu xanh lục** ✓ : Kiểm tra đạt.
- ▶ **Màu đỏ** ✖ : Kiểm tra không đạt. Đối với các mục không đạt, bạn cần xử lý thì mới có thể tiếp tục. Xem mục *Giải quyết lỗi kiểm tra tự động* trên trang 44.

Để dừng bước kiểm tra tự động trước lần chạy đang diễn ra, hãy chọn nút **Cancel** (Hủy). Để khởi động lại bước kiểm tra, hãy chọn nút **Retry** (Thử lại). Bước kiểm tra sẽ tiếp tục từ lần kiểm tra chưa hoàn thành hoặc không đạt đầu tiên.

Để xem kết quả của từng lần kiểm tra trong một danh mục, hãy chọn tab Category (Danh mục).

Nếu thiết bị không được định cấu hình để tự động bắt đầu lần chạy, hãy bắt đầu lần chạy sau khi bước kiểm tra tự động trước lần chạy hoàn thành.

Bắt đầu lần quét

Khi bước kiểm tra tự động hoàn tất, hãy chọn **Start** (Bắt đầu). Lần quét bắt đầu.

Để định cấu hình cho hệ thống tự động bắt đầu lần quét sau khi kiểm tra thành công, hãy xem mục [Đặt các tùy chọn thiết lập lần chạy trên trang 13](#).

Giám sát tiến trình quét

1 Giám sát tiến trình quét bằng hình ảnh BeadChip. Mỗi màu trên hình ảnh thể hiện một trạng thái quét.

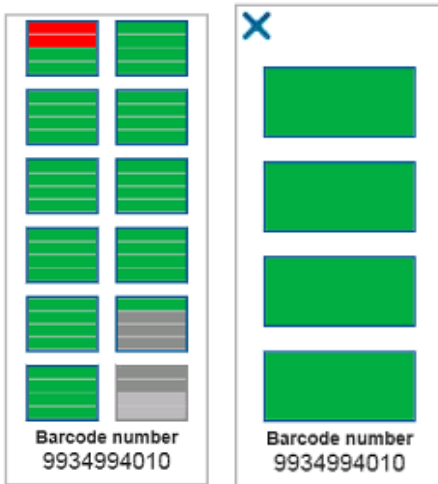
- ▶ **Xám nhạt:** Chưa quét
- ▶ **Xám đậm:** Đã quét nhưng chưa đăng ký.
- ▶ **Xanh lục:** Đã quét và đăng ký thành công.
- ▶ **Đỏ:** Không quét và đăng ký được.

Nếu không đăng ký được, bạn có thể quét lại các mẫu có chứa đoạn không đăng ký được. Xem mục [Lỗi khi quét BeadChip trên trang 48](#).

2 Chọn hình ảnh BeadChip để chuyển giữa dạng xem đầy đủ và dạng xem chi tiết của mẫu được chọn.

- ▶ Dạng xem đầy đủ hiển thị các mẫu trên BeadChip và các đoạn trong từng mẫu.
- ▶ Dạng xem chi tiết hiển thị từng đoạn trong mẫu được chọn.

Hình 23 Hình ảnh BeadChip: Dạng xem đầy đủ và dạng xem chi tiết



LƯU Ý Kết thúc lần quét là bước cuối cùng. Nếu bạn kết thúc lần quét trước khi quét xong, dữ liệu quét sẽ **không** được lưu.

Truyền dữ liệu

Dữ liệu được xếp hàng để truyền đến thư mục đầu ra quét khi quét xong. Dữ liệu được ghi tạm vào máy tính thiết bị. Thư mục tạm thời tự động bị xóa khỏi máy tính thiết bị khi lần quét tiếp theo bắt đầu.

Thời gian cần thiết để truyền dữ liệu phụ thuộc vào kết nối mạng của bạn. Trước khi bắt đầu lần quét tiếp theo, hãy đảm bảo dữ liệu đã được ghi vào thư mục đầu ra. Để kiểm tra, hãy đảm bảo các tệp GTC nằm trong thư mục mã vạch. Để biết thêm thông tin, xem mục *Cấu trúc thư mục đầu ra quét trên trang 63*.

Nếu kết nối bị gián đoạn, quá trình truyền dữ liệu sẽ tự động tiếp tục khi kết nối được khôi phục. Mỗi tệp có khoảng thời gian đếm ngược 1 giờ sau khi được xếp vào hàng đợi để truyền đến thư mục đầu ra. Khi hết khoảng thời gian này hoặc nếu thiết bị được khởi động lại trước khi quá trình truyền hoàn tất thì dữ liệu sẽ không được ghi vào thư mục đầu ra.

Chương 5 Bảo trì

Giới thiệu	35
Thực hiện quy trình rửa thủ công	35
Thay thế bộ lọc không khí	38
Cập nhật phần mềm	39
Các tùy chọn khởi động lại và tắt	41

Giới thiệu

Các quy trình bảo trì bao gồm rửa thiết bị thủ công và thay thế bộ lọc không khí. Các tùy chọn tắt và khởi động lại thiết bị cũng được mô tả.

- ▶ **Rửa thiết bị:** Quy trình rửa tự động sau lần chạy sau mỗi lần chạy giải trình tự giúp duy trì hiệu suất thiết bị. Tuy nhiên, trong một số điều kiện nhất định, bạn cần rửa thủ công định kỳ. Xem mục *Thực hiện quy trình rửa thủ công trên trang 35*.
- ▶ **Thay thế bộ lọc không khí:** Việc thường xuyên thay thế bộ lọc không khí sẽ đảm bảo không khí lưu thông phù hợp trong thiết bị.

Bảo trì phòng ngừa

Illumina khuyên bạn lên lịch cho dịch vụ bảo trì phòng ngừa mỗi năm. Nếu bạn không có hợp đồng dịch vụ, hãy liên hệ với Quản lý khách hàng khu vực hoặc bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina để sắp xếp một dịch vụ bảo trì phòng ngừa có tính phí.

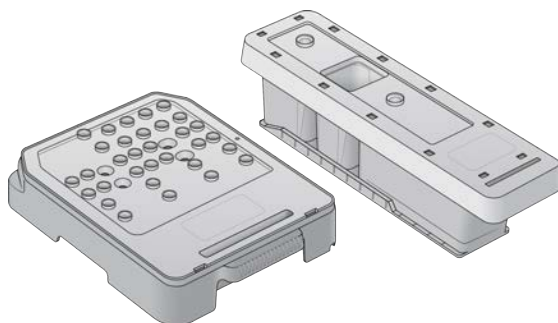
Thực hiện quy trình rửa thủ công

Các quy trình rửa thủ công được khởi chạy từ màn hình Home (Chính). Các tùy chọn rửa bao gồm Quick Wash (Quy trình rửa nhanh) và Manual Post-Run Wash (Quy trình rửa thủ công sau lần chạy).

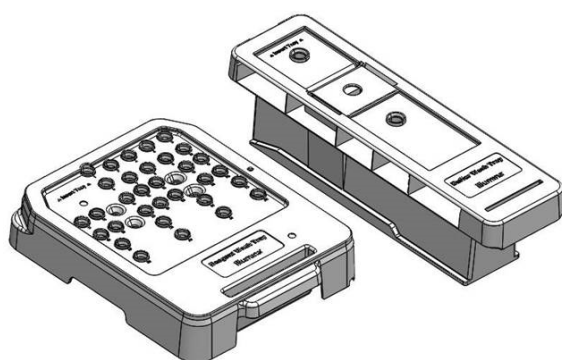
Loại quy trình rửa	Mô tả
Quick Wash (Quy trình rửa nhanh) Thời lượng: 20 phút	Rửa sạch hệ thống bằng dung dịch rửa do người dùng tự chuẩn bị, gồm nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm và Tween 20 (hộp rửa dung dịch đệm). <ul style="list-style-type: none">• Yêu cầu để thiết bị ở trạng thái không hoạt động sau mỗi 14 ngày với hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm ở đúng vị trí.• Yêu cầu để thiết bị ở trạng thái khô sau mỗi 7 ngày (đã tháo hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm).
Manual Post-Run Wash (Quy trình rửa thủ công sau lần chạy) Thời lượng: 90 phút	Rửa sạch hệ thống bằng dung dịch rửa do người dùng tự chuẩn bị, gồm nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm và Tween 20 (hộp rửa dung dịch đệm) và natri hypochlorit 0,12% (hộp rửa thuốc thử). Là yêu cầu bắt buộc nếu không thực hiện quy trình rửa tự động sau lần chạy.

Quy trình rửa thủ công yêu cầu có hộp rửa thuốc thử và hộp rửa dung dịch đệm đi kèm với thiết bị, cũng như tế bào dòng chảy đã sử dụng. Có thể dùng một tế bào dòng chảy đã sử dụng tối đa 20 lần cho các quy trình rửa thiết bị.

Hình 24 Hộp rửa thuốc thử và hộp rửa dung dịch đệm kiểu nguyên bản.



Hình 25 Hộp rửa thuốc thử và hộp rửa dung dịch đệm kiểu mới.



Chuẩn bị cho quy trình rửa thủ công sau lần chạy

Chọn giữa hai lựa chọn: chuẩn bị cho quy trình rửa thủ công sau lần chạy như mô tả bên dưới hoặc chuẩn bị cho quy trình rửa nhanh (mục tiếp theo). Nếu bạn định thực hiện quy trình rửa thủ công sau lần chạy, hãy bỏ qua mục về quy trình rửa nhanh rồi chuyển sang xem mục *Nạp tế bào dòng chảy đã sử dụng và các hộp rửa trên trang 37*.

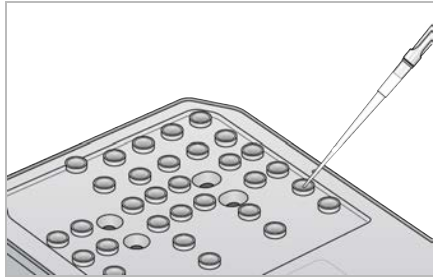
Vật tư tiêu hao do người dùng tự chuẩn bị	Thể tích và mô tả
NaOCl	1 ml, pha loãng tới nồng độ 0,12% Nạp vào hộp rửa thuốc thử (vị trí số 28)
Tween 20 100% Nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm	Dùng để pha 125 ml dung dịch rửa Tween 20 0,05% Nạp vào hộp rửa dung dịch đệm (ngăn chứa trung tâm)

LƯU Ý Luôn sử dụng dung dịch NaOCl pha loãng mới, được pha trong vòng **24 giờ** trước. Nếu bạn pha thể tích lớn hơn 1 ml, hãy bảo quản phần dung dịch pha loãng còn lại ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C và sử dụng trong 24 giờ tới. Nếu không thì hãy thải bỏ phần dung dịch NaOCl pha loãng còn lại.

- 1 Trộn các thể tích sau trong ống ly tâm nhỏ để có được 1 ml NaOCl 0,12%:
 - ▶ NaOCl 5% (24 µl)
 - ▶ Nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm (976 µl)
- 2 Lật ngược ống để trộn đều.

- Thêm 1 ml NaOCl 0,12% vào hộp rửa thuốc thử. Ngăn chứa đúng tương đương với vị trí số **28** trên hộp nạp sẵn.

Hình 26 Nạp NaOCl



- Trộn các thể tích sau để có dung dịch rửa Tween 20 0,05%:
Hộp rửa dung dịch đệm kiểu nguyên bản
 - ▶ Tween 20 100% (62 µl)
 - ▶ Nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm (125 ml)
 - ▶ Thêm 125 ml dung dịch rửa vào ngăn chứa trung tâm của hộp rửa dung dịch đệm.Hộp rửa dung dịch đệm kiểu mới
 - ▶ Tween 20 100% (75 µl)
 - ▶ Nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm (150 ml)
 - ▶ Thêm 150 ml dung dịch rửa vào ngăn chứa trung tâm của hộp rửa dung dịch đệm.
- Chọn **Perform Wash** (Thực hiện quy trình rửa), rồi chọn **Manual Post-Run Wash** (Quy trình rửa thủ công sau lần chạy).

Chuẩn bị cho quy trình rửa nhanh

Bạn có thể chuẩn bị cho quy trình rửa nhanh như mô tả bên dưới để thay cho việc *Chuẩn bị cho quy trình rửa thủ công sau lần chạy trên trang 36*.

Vật tư tiêu hao do người dùng tự chuẩn bị	Thể tích và mô tả
Tween 20 100% Nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm	Dùng để pha 40 ml dung dịch rửa Tween 20 0,05% Nạp vào hộp rửa dung dịch đệm (ngăn chứa trung tâm)

- Trộn các thể tích sau để có dung dịch rửa Tween 20 0,05%:
 - ▶ Tween 20 100% (20 µl)
 - ▶ Nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm (40 ml)
- Thêm 40 ml dung dịch rửa vào ngăn chứa trung tâm của hộp rửa dung dịch đệm.
- Chọn **Perform Wash** (Thực hiện quy trình rửa), rồi chọn **Quick Wash** (Quy trình rửa nhanh).

Nạp tế bào dòng chảy đã sử dụng và các hộp rửa

- Nếu không có tế bào dòng chảy đã sử dụng nào trong thiết bị, hãy nạp một tế bào dòng chảy đã sử dụng. Chọn **Load** (Nạp), rồi chọn **Next** (Tiếp).

- Tháo hộp đựng thuốc thử đã sử dụng rồi thải bỏ dung dịch bên trong theo tiêu chuẩn hiện hành.



CẢNH BÁO

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem SDS tại support.illumina.com/sds.html.

- Trượt hộp đựng thuốc thử đã sử dụng rỗng vào khoang chứa dung dịch đệm cho đến khi hộp đựng dừng lại.
- Tháo hộp dung dịch đệm đã sử dụng từ lần chạy trước, nếu có.
- Nạp hộp rửa dung dịch đệm chứa dung dịch rửa.
- Tháo hộp thuốc thử đã sử dụng từ lần chạy trước, nếu có.
- Nạp hộp rửa thuốc thử.
- Chọn **Next** (Tiếp). Quy trình kiểm tra trước khi rửa tự động bắt đầu.

Bắt đầu rửa

- Chọn **Start** (Bắt đầu).
- Khi rửa xong, chọn **Home** (Chính).

Sau khi rửa

Sau khi rửa, ống sipper vẫn ở vị trí hạ xuống để ngăn không khí xâm nhập vào hệ thống. Để các hộp nguyên tại chỗ cho tới lần chạy tiếp theo.

Thay thế bộ lọc không khí

Hệ thống mới đi kèm 3 bộ lọc không khí dự phòng. Bạn nên bảo quản các bộ lọc dự phòng này và sử dụng khi thiết bị nhắc thay bộ lọc.

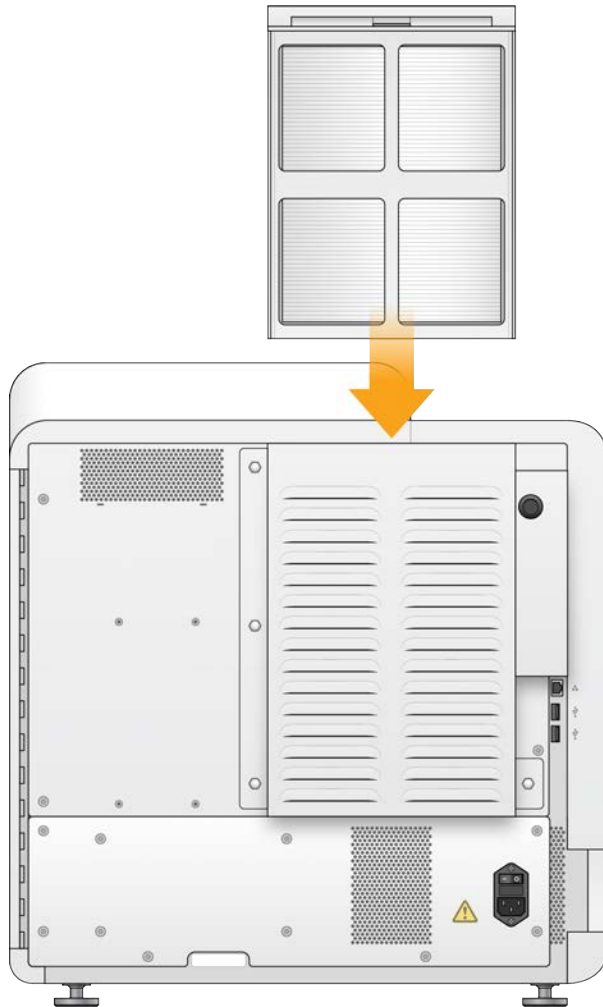
Bộ lọc không khí giúp đảm bảo sự lưu thông không khí trong thiết bị. Sau mỗi 90 ngày, phần mềm lại hiển thị thông báo thay bộ lọc không khí. Khi được nhắc, hãy chọn **Remind in 1 day** (Nhắc lại sau 1 ngày) hoặc làm theo quy trình sau đây và chọn **Filter Changed** (Đã thay bộ lọc). Thời gian đếm ngược 90 ngày được đặt lại khi bạn chọn **Filter Changed** (Đã thay bộ lọc).

- Lấy bộ lọc không khí mới khỏi bao bì rồi ghi ngày bạn lắp đặt lên khung bộ lọc.
- Ở mặt sau thiết bị, ấn phần đầu khay bộ lọc xuống để nhả khay ra.
- Cầm lấy đầu khay bộ lọc rồi kéo lên để nhắc hẳn khay ra khỏi thiết bị.
- Tháo và thải bỏ bộ lọc không khí cũ.
- Lắp bộ lọc không khí mới vào khay.

LƯU Ý Nếu lắp ngược, bộ lọc không khí sẽ không hoạt động đúng cách. Đảm bảo lắp bộ lọc không khí vào khay sao cho bạn có thể thấy mũi tên hướng lên màu xanh lục và không thấy nhãn cảnh báo. Mũi tên này phải trở đến tay cầm của khay bộ lọc.

- 6 Trượt khay bộ lọc vào thiết bị. Ấn phần đầu khay bộ lọc xuống cho đến khi khay ăn khớp vào vị trí.

Hình 27 Lắp bộ lọc không khí




Cập nhật phần mềm

Các bản cập nhật phần mềm được tích hợp trong một gói phần mềm được gọi là System Suite, bao gồm các phần mềm sau:

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

Bạn có thể cài đặt các bản cập nhật phần mềm theo phương thức tự động qua kết nối Internet hoặc theo phương thức thủ công từ vị trí mạng hoặc USB.

- ▶ **Automatic updates** (Bản cập nhật tự động): Dành cho các thiết bị kết nối tới mạng có quyền truy cập Internet, một biểu tượng cảnh báo  sẽ xuất hiện trên nút Manage Instrument (Quản lý thiết bị) ở màn hình Home (Chính) khi có bản cập nhật.
- ▶ **Manual updates** (Bản cập nhật thủ công): Tải xuống bộ cài đặt System Suite từ [trang hỗ trợ thiết bị NextSeq 550Dx](#) trên trang web Illumina.

Cập nhật phần mềm tự động

- 1 Chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
- 2 Chọn **Software Update** (Cập nhật phần mềm).
- 3 Chọn **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Cài đặt bản cập nhật đã tải xuống từ BaseSpace).
- 4 Chọn **Update** (Cập nhật) để bắt đầu cập nhật. Một hộp thoại mở ra để xác nhận lệnh.
- 5 Làm theo lời nhắc trong trình hướng dẫn cài đặt:
 - a Chấp nhận thỏa thuận cấp phép.
 - b Xem xét thông tin về phiên bản.
 - c Xem xét danh sách phần mềm có trong bản cập nhật.

Khi cập nhật xong, phần mềm điều khiển sẽ tự động khởi động lại.

LƯU Ý Nếu có cả bản cập nhật chương trình cơ sở thì hệ thống sẽ cần tự động khởi động lại sau khi cập nhật chương trình cơ sở.

Cập nhật phần mềm thủ công

- 1 Tải xuống bộ cài đặt System Suite từ trang web Illumina rồi lưu vào một vị trí mạng. Ngoài ra, bạn cũng có thể sao chép tệp cài đặt phần mềm vào ổ đĩa USB di động.
- 2 Chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
- 3 Chọn **Software Update** (Cập nhật phần mềm).
- 4 Chọn **Manually install the update from the following location** (Cài đặt thủ công bản cập nhật từ vị trí sau).
- 5 Chọn **Browse** (Duyệt) để tìm đến vị trí tệp cài đặt phần mềm, rồi chọn **Update** (Cập nhật).
- 6 Làm theo lời nhắc trong trình hướng dẫn cài đặt:
 - a Chấp nhận thỏa thuận cấp phép.
 - b Xem xét thông tin về phiên bản.
 - c Xem xét danh sách phần mềm có trong bản cập nhật.

Khi cập nhật xong, phần mềm điều khiển sẽ tự động khởi động lại.

LƯU Ý Nếu có cả bản cập nhật chương trình cơ sở thì hệ thống sẽ cần tự động khởi động lại sau khi cập nhật chương trình cơ sở.

Các tùy chọn khởi động lại và tắt

Truy cập các tính năng sau bằng cách chọn nút Reboot / Shutdown (Khởi động lại / Tắt):

- ▶ Reboot to RUO (Khởi động lại vào RUO): Thiết bị mở trong chế độ nghiên cứu.
- ▶ Restart (Khởi động lại): Thiết bị mở trong chế độ chẩn đoán.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Khởi động lại vào Dx từ RUO): Thiết bị mở trong chế độ chẩn đoán.
- ▶ Shutdown (Tắt): Khi bật nguồn lại, thiết bị mở trong chế độ chẩn đoán.
- ▶ Exit to Windows (Thoát ra Windows): Tùy thuộc vào quyền, bạn có thể đóng NCS và xem Windows.

Khởi động lại vào chế độ chẩn đoán

Sử dụng lệnh Restart (Khởi động lại) để tắt thiết bị một cách an toàn rồi khởi động lại vào chế độ chẩn đoán. Chế độ chẩn đoán là chế độ khởi động mặc định.

- 1 Chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
- 2 Chọn **Reboot / Shutdown** (Khởi động lại / Tắt).
- 3 Chọn **Restart** (Khởi động lại).

Tắt thiết bị

- 1 Chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
- 2 Chọn **Reboot / Shutdown** (Khởi động lại / Tắt).
- 3 Chọn **Shutdown** (Tắt).

Lệnh Shutdown (Tắt) tắt phần mềm một cách an toàn rồi tắt nguồn thiết bị. Chờ ít nhất 60 giây trước khi bật lại thiết bị.

LƯU Ý Theo mặc định, thiết bị sẽ khởi động vào chế độ chẩn đoán khi bật.



THẬN TRỌNG

Không di chuyển vị trí thiết bị. Việc di chuyển thiết bị không đúng cách có thể ảnh hưởng đến sự căn chỉnh quang học và tính toàn vẹn của dữ liệu. Nếu bạn phải di chuyển thiết bị, hãy liên hệ với đại diện của Illumina.

Thoát ra Windows

Lệnh Exit to Windows (Thoát ra Windows) cung cấp quyền truy cập vào hệ điều hành thiết bị và mọi thư mục trên máy tính thiết bị. Lệnh này đóng phần mềm một cách an toàn rồi thoát ra Windows. Chỉ Người dùng có vai trò quản trị viên mới có thể thoát ra Windows.

- 1 Chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
- 2 Chọn **Reboot / Shutdown** (Khởi động lại / Tắt).
- 3 Chọn **Exit to Windows** (Thoát ra Windows).

Phụ lục A Khắc phục sự cố

Giới thiệu	43
Tệp khắc phục sự cố	43
Giải quyết lỗi kiểm tra tự động	44
Hộp đựng thuốc thử đã sử dụng bị đầy	46
Quy trình công việc tạo lại thể lai	46
BeadChip và các lỗi khi quét	48
Thư mục công thức và công thức tùy chỉnh	50
Thông báo lỗi RAID	50
Định cấu hình chế độ cài đặt hệ thống	50

Giới thiệu

Để khắc phục các vấn đề về chất lượng hoặc hiệu suất lần chạy, hãy liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina. Xem mục *Hỗ trợ kỹ thuật trên trang 69*.

Tệp khắc phục sự cố

Đại diện bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina có thể yêu cầu bản sao của các tệp dành riêng cho lần chạy hoặc lần quét để khắc phục sự cố. Thường thì các tệp sau sẽ được dùng để khắc phục sự cố.

Tệp khắc phục sự cố cho các lần chạy giải trình tự

Tệp chính	Thư mục	Mô tả
Tệp thông tin lần chạy (RunInfo.xml)	Thư mục gốc	Chứa các thông tin sau: <ul style="list-style-type: none">Tên lần chạySố chu kỳ trong lần chạySố chu kỳ trong mỗi đoạn đọcViệc đoạn đọc có phải là đoạn đọc được lập chỉ thị khôngSố lượng dải và ô trên tế bào dòng chảy
Tệp thông số lần chạy (RunParameters.xml)	Thư mục gốc	Chứa thông tin về thông số lần chạy và thành phần lần chạy. Thông tin bao gồm RFID, số seri, mã bộ phận và ngày hết hạn.
Tệp cấu hình RTA (RTAConfiguration.xml)	Thư mục gốc	Chứa chế độ cài đặt cấu hình RTA của lần chạy. Tệp RTAConfiguration.xml được tạo khi bắt đầu lần chạy.
Tệp InterOp (*.bin)	InterOp	Tệp báo cáo nhị phân. Các tệp InterOp được cập nhật trong suốt lần chạy.
Tệp nhật ký	Nhật ký	Tệp nhật ký mô tả từng bước được thiết bị thực hiện trong mỗi chu kỳ, cũng như liệt kê các phiên bản phần mềm và chương trình cơ sở được dùng trong lần chạy. Tệp tên là [Tên thiết bị]_CurrentHardware.csv liệt kê số seri của các thành phần trong thiết bị.
Tệp nhật ký lỗi (*ErrorLog*.txt)	Nhật ký RTA	Nhật ký lỗi RTA. Tệp nhật ký lỗi được cập nhật mỗi khi có lỗi xảy ra.
Tệp nhật ký chung (*GlobalLog*.tsv)	Nhật ký RTA	Ghi lại tất cả các sự kiện của RTA. Các tệp nhật ký chung được cập nhật trong suốt lần chạy.
Tệp nhật ký làn (*LaneLog*.txt)	Nhật ký RTA	Ghi lại các sự kiện xử lý của RTA. Các tệp nhật ký làn được cập nhật trong suốt lần chạy.

Các lỗi RTA

Để khắc phục các lỗi RTA, trước tiên hãy kiểm tra nhật ký lỗi RTA nằm trong thư mục RTALogs. Các lần chạy thành công sẽ không có tệp này. Gửi kèm nhật ký lỗi khi báo cáo sự cố cho bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.

Tệp khắc phục sự cố cho các lần quét mảng

Tệp chính	Thư mục	Mô tả
Tệp thông số quét (ScanParameters.xml)	Thư mục gốc	Chứa thông tin về thông số quét. Thông tin bao gồm ngày quét, mã vạch BeadChip, vị trí tệp cụm và vị trí tệp phiếu kê khai.
Tệp nhật ký	Nhật ký	Tệp nhật ký mô tả từng bước được thực hiện trên thiết bị trong khi quét.
Tệp số liệu	[Mã vạch]	Số liệu được cung cấp dưới dạng số liệu mẫu và số liệu đoạn. [mã vạch]_sample_metrics.csv: Với mỗi mẫu và kênh (đỏ và xanh lục), tệp này liệt kê Percent Off Image (Phần trăm lệch hình ảnh), Percent Outliers (Phần trăm dị biệt), P05, P50, P95, Avg FWHM Avg (Trung bình FWHM trung bình), FWHM Stddev (Độ lệch chuẩn FWHM) và Min Registration Score (Điểm đăng ký nhỏ nhất). [mã vạch]_section_metrics.csv: Với mỗi đoạn và ô, tệp này liệt kê Laser Z-position (Vị trí Z laser), Through Focus Z-position (Vị trí Z qua tiêu điểm), Red FWHM (FWHM đỏ), Green FWHM (FWHM xanh lục), Red Avg Pixel Intensity (Cường độ điểm ảnh trung bình đỏ), Green Avg Pixel Intensity (Cường độ điểm ảnh trung bình xanh lục), Red Registration Score (Điểm đăng ký đỏ) và Green Registration Score (Điểm đăng ký xanh lục).
Tệp quét lại	[Mã vạch]	[mã vạch]_rescan.flowcell: Liệt kê các vị trí ô được điều chỉnh để quét lại, bao gồm tỷ lệ lệ chồng lẫn giữa các ô cao hơn.

Giải quyết lỗi kiểm tra tự động

Nếu lỗi xảy ra trong khi kiểm tra tự động, hãy sử dụng các hành động khuyến nghị sau đây để giải quyết lỗi.

Kiểm tra khi chạy giải trình tự

Nếu bước kiểm tra trước khi chạy thất bại, RFID của hộp thuốc thử không bị khóa và có thể dùng cho lần chạy tiếp theo. Tuy nhiên, RFID của tế bào dòng chảy, hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm sẽ bị khóa trong khi khởi tạo phần mềm điều khiển. Đây có thể là yêu cầu bắt buộc để giải quyết lỗi. Người dùng phải tháo tế bào dòng chảy, hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm ra khỏi thiết bị trước khi khởi động lại hệ thống. Ngoài ra, RFID của vật tư tiêu hao sẽ bị khóa sau khi màng nhôm bị chọc thủng. Sau khi phần mềm đọc RFID của tế bào dòng chảy, đồng hồ đếm ngược 7 tiếng sẽ bắt đầu chạy trước khi tế bào dòng chảy được coi là bị khóa và không sử dụng được.

Kiểm tra hệ thống	Hành động khuyến nghị
Cửa đã đóng	Đảm bảo rằng cửa khoang chứa đã đóng.
Đã nạp vật tư tiêu hao	Cảm biến vật tư tiêu hao không đăng ký. Đảm bảo mỗi vật tư tiêu hao đã được nạp đúng cách. Trên màn hình thiết lập lần chạy, chọn Back (Quay lại) để quay lại bước nạp rồi lặp lại việc thiết lập lần chạy.
Phần mềm cần thiết	Thiếu các thành phần quan trọng của phần mềm. Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.

Kiểm tra hệ thống	Hành động khuyến nghị
Dung lượng ổ đĩa của thiết bị	Ổ cứng của thiết bị không có đủ dung lượng ổ đĩa cần thiết để thực hiện lần chạy. Có thể dữ liệu từ lần chạy trước chưa được truyền. Xóa dữ liệu chạy khỏi ổ cứng của thiết bị.
Kết nối mạng	Kết nối mạng bị gián đoạn. Kiểm tra trạng thái mạng và kết nối mạng thực tế.
Dung lượng ổ đĩa của mạng	Máy chủ mạng đã đầy.

Nhiệt độ	Hành động khuyến nghị
Nhiệt độ	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Cảm biến nhiệt độ	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Quạt	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.

Hệ thống chụp ảnh	Hành động khuyến nghị
Giới hạn chụp ảnh	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Các bước di chuyển và ổn định theo trục Z	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Tỷ lệ lỗi bit	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Đăng ký tế bào dòng chảy	Có thể tế bào dòng chảy chưa nằm đúng vị trí. <ul style="list-style-type: none"> Trên màn hình thiết lập lần chạy, chọn Back (Quay lại) để quay lại bước tế bào dòng chảy. Cửa khoang chụp ảnh mở ra. Tháo rời nạp lại tế bào dòng chảy để đảm bảo tế bào dòng chảy nằm đúng vị trí.

Phân phối thuốc thử	Hành động khuyến nghị
Phân hồi của van	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Bơm	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Cơ chế dung dịch đệm	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Thuốc thử đã sử dụng đã được dốc sạch	Dốc sạch hộp đựng thuốc thử đã sử dụng rồi nạp lại hộp đựng rỗng.

Kiểm tra khi quét mảng

Kiểm tra hệ thống	Hành động khuyến nghị
Cửa đã đóng	Đảm bảo rằng cửa khoang chứa đã đóng.
Đã nạp vật tư tiêu hao	Cảm biến vật tư tiêu hao không đăng ký. Đảm bảo mỗi vật tư tiêu hao đã được nạp đúng cách. Trên màn hình thiết lập lần chạy, chọn Back (Quay lại) để quay lại bước nạp rồi lặp lại việc thiết lập lần chạy.
Phần mềm cần thiết	Thiếu các thành phần quan trọng của phần mềm. Cập nhật phần mềm theo cách thủ công để khôi phục mọi thành phần phần mềm.
Xác minh tệp đầu vào	Đảm bảo đường dẫn tới tệp cụm và tệp phiếu kê khai là đúng và có chứa tệp.
Dung lượng ổ đĩa của thiết bị	Ổ cứng của thiết bị không có đủ dung lượng ổ đĩa cần thiết để thực hiện lần chạy. Có thể dữ liệu từ lần chạy trước chưa được truyền. Xóa dữ liệu chạy khỏi ổ cứng của thiết bị.

Kiểm tra hệ thống	Hành động khuyến nghị
Kết nối mạng	Kết nối mạng bị gián đoạn. Kiểm tra trạng thái mạng và kết nối mạng thực tế.
Dung lượng ổ đĩa của mạng	Tài khoản BaseSpace hoặc máy chủ mạng đã đầy.

Hệ thống chụp ảnh	Hành động khuyến nghị
Giới hạn chụp ảnh	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Các bước di chuyển và ổn định theo trục Z	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Tỷ lệ lỗi bit	Liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.
Tự động căn giữa	Tháo adapter BeadChip. Đảm bảo BeadChip nằm trong adapter, rồi nạp lại adapter.

Hộp đựng thuốc thử đã sử dụng bị đầy

Luôn bắt đầu lần chạy với hộp đựng thuốc thử đã sử dụng rỗng.

Nếu bạn bắt đầu lần chạy mà chưa dốc sạch hộp đựng thuốc thử đã sử dụng, cảm biến hệ thống sẽ kích hoạt để phần mềm tạm dừng lần chạy khi hộp đựng đầy. Cảm biến hệ thống không thể tạm dừng lần chạy trong khi đang phân cụm, tái tổng hợp kết đôi hoặc trong quy trình rửa tự động sau lần chạy. Khi lần chạy tạm dừng, một hộp thoại mở ra và cung cấp các tùy chọn nâng ống sipper lên và dốc sạch hộp đựng đầy.

Dốc sạch hộp đựng thuốc thử đã sử dụng

- 1 Chọn **Raise Sippers** (Nâng ống sipper lên).
- 2 Tháo hộp đựng thuốc thử đã sử dụng và thải bỏ thuốc thử bên trong đúng cách.
- 3 Lắp lại hộp đựng rỗng vào khoang chứa dung dịch đệm.
- 4 Chọn **Continue** (Tiếp tục). Lần chạy sẽ tự động tiếp tục.

Quy trình công việc tạo lại thể lai

Có thể cần thực hiện lần chạy tạo lại thể lai nếu số liệu được tạo trong một vài chu kỳ đầu tiên cho thấy cường độ dưới 2500. Một số thư viện có tính đa dạng thấp có thể cho thấy cường độ dưới 1000, đây là điều có thể dự đoán trước và không thể giải quyết bằng cách tạo lại thể lai.

LƯU Ý Lệnh End Run (Kết thúc lần chạy) là bước cuối cùng. Bạn không thể tiếp tục lần chạy và tái sử dụng vật tư tiêu hao dùng trong lần chạy. Dữ liệu giải trình tự từ lần chạy sẽ không được lưu.

Khi bạn kết thúc lần chạy, phần mềm sẽ thực hiện các bước sau đây trước khi lần chạy kết thúc:

- ▶ Đặt tế bào dòng chảy ở trạng thái an toàn.
- ▶ Mở khóa RFID của tế bào dòng chảy cho lần chạy sau.
- ▶ Chỉ định ngày hết hạn tạo lại thể lai cho tế bào dòng chảy.
- ▶ Ghi nhật ký lần chạy cho các chu kỳ đã hoàn thành. Hiện tượng chậm trễ là bình thường.
- ▶ Bỏ qua quy trình tự động rửa sau lần chạy.

Khi bạn bắt đầu lần chạy tạo lại thể lai, phần mềm sẽ thực hiện các bước sau đây để thực hiện lần chạy:

- ▶ Tạo thư mục lần chạy dựa trên tên lần chạy duy nhất.
- ▶ Kiểm tra để đảm bảo chưa đến ngày hết hạn tạo lại thể lai tế bào dòng chảy.
- ▶ Mời thuốc thử. Hiện tượng chậm trễ là bình thường.
- ▶ Bỏ qua bước phân cụm.
- ▶ Tháo mời Đoạn đọc 1 trước đó.
- ▶ Tạo thể lai mời Đoạn đọc 1 mới.
- ▶ Tiếp tục qua Đoạn đọc 1 và phần còn lại của lần chạy dựa trên các thông số lần chạy được chỉ định.

Các thời điểm cần kết thúc lần chạy để tạo lại thể lai

Bạn chỉ có thể tạo lại thể lai về sau nếu kết thúc lần chạy ở các thời điểm dưới đây:

- ▶ **Sau chu kỳ 5:** Cường độ xuất hiện sau khi đăng ký mẫu, tức là cần 5 chu kỳ giải trình tự đầu tiên. Mặc dù có thể kết thúc lần chạy một cách an toàn sau chu kỳ 1, nhưng chúng tôi khuyến nghị bạn nên kết thúc sau chu kỳ 5. Không kết thúc lần chạy trong quá trình tạo cụm.
- ▶ **Đoạn đọc 1 hoặc Đoạn đọc chỉ thị 1:** Kết thúc lần chạy *trước* khi quá trình tái tổng hợp kết đôi bắt đầu. Bạn không thể lưu tế bào dòng chảy để tạo lại thể lai sau một khi quá trình tái tổng hợp kết đôi đã bắt đầu.

Vật tư tiêu hao cần có

Lần chạy tạo lại thể lai yêu cầu hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm NextSeq 550Dx mới, bất kể thời điểm dừng lần chạy.

Kết thúc lần chạy hiện tại

- 1 Chọn **End Run** (Kết thúc lần chạy). Khi được nhắc xác nhận lệnh, chọn **Yes** (Có).
- 2 Khi được nhắc lưu tế bào dòng chảy, chọn **Yes** (Có). Hãy chú ý ngày hết hạn tạo lại thể lai.
- 3 Tháo tế bào dòng chảy đã lưu ra rồi đặt ở nơi có nhiệt độ từ 2°C đến 8°C cho đến khi bạn sẵn sàng thiết lập lần chạy tạo lại thể lai.

LƯU Ý Bạn có thể bảo quản tế bào dòng chảy trong tối đa 7 ngày ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C trong hộp vỏ sò *mà không cần* gói hút ẩm. Để có được kết quả tốt nhất, hãy tạo lại thể lai của tế bào dòng chảy đã lưu trong vòng 3 ngày.

Thực hiện quy trình rửa thủ công

- 1 Từ màn hình Home (Chính), chọn **Perform Wash** (Thực hiện quy trình rửa).
- 2 Từ màn hình Wash Selection (Chọn quy trình rửa), chọn **Manual Post-Run Wash** (Quy trình rửa thủ công sau lần chạy). Xem mục *Thực hiện quy trình rửa thủ công trên trang 35*.

LƯU Ý Nếu chưa tháo hộp thuốc thử và hộp dung dịch đệm sau khi dừng lần chạy, bạn có thể dùng các hộp đó cho quy trình rửa thủ công. Nếu không, bạn có thể thực hiện quy trình rửa thủ công bằng hộp rửa thuốc thử và hộp rửa dung dịch đệm.

Thiết lập lần chạy mới trên tab BaseSpace Prep (Chuẩn bị BaseSpace)

- 1 Nếu thiết bị được định cấu hình cho BaseSpace hoặc BaseSpace Onsite, hãy thiết lập một lần chạy mới trên tab Prep (Chuẩn bị) bằng cách sử dụng các thông số giống như lần chạy ban đầu.

MẸO Nhấp vào tab Pools (Nhóm gộp), chọn ID nhóm gộp thích hợp để giữ lại chế độ cài đặt lần chạy trước đó, rồi đặt tên duy nhất cho lần chạy mới.

Thiết lập lần chạy trên thiết bị

- 1 Chuẩn bị hộp thuốc thử mới.
- 2 Nếu tế bào dòng chảy đã lưu được bảo quản, hãy để tế bào dòng chảy đạt nhiệt độ phòng (15 đến 30 phút).
- 3 Vệ sinh rồi nạp tế bào dòng chảy đã lưu.
- 4 Tháo hộp đựng thuốc thử đã sử dụng và thải bỏ thuốc thử bên trong đúng cách, rồi nạp lại hộp đựng rỗng.
- 5 Nạp hộp dung dịch đệm và hộp thuốc thử mới.
- 6 Từ màn hình Run Setup (Thiết lập lần chạy), chọn trong các tùy chọn sau đây:
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace hoặc BaseSpace Onsite): Chọn lần chạy và xác nhận thông số lần chạy.
 - ▶ **Standalone** (Độc lập): Nhập tên của lần chạy rồi chỉ định các thông số giống với lần chạy ban đầu.
- 7 Chọn **Next** (Tiếp) để chuyển sang bước kiểm tra trước khi chạy và bắt đầu lần chạy.

BeadChip và các lỗi khi quét

Phần mềm không thể đọc mã vạch BeadChip

Khi hộp thoại lỗi mã vạch xuất hiện, hãy chọn trong các tùy chọn sau:

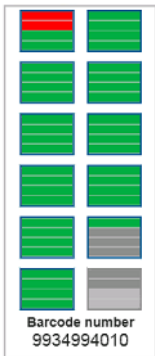
- ▶ Chọn **Rescan** (Quét lại). Phần mềm tìm cách đọc lại mã vạch.
- ▶ Chọn trường văn bản rồi nhập số mã vạch như trong hình. Tùy thuộc vào BeadChip, số mã vạch có thể có tới 12 chữ số. Chọn **Save** (Lưu). Hình ảnh mã vạch được lưu trữ trong thư mục đầu ra.
- ▶ Chọn **Cancel** (Hủy). Cửa khoang chụp ảnh mở ra để tháo adapter BeadChip.

Lỗi khi quét BeadChip

Hình ảnh được đăng ký sau khi quét. Việc đăng ký sẽ nhận dạng hạt bằng cách kết nối tương quan các vị trí trên hình ảnh được quét với thông tin được cung cấp trong bản đồ hạt hoặc thư mục DMAP.

Các đoạn không đăng ký được sẽ có màu đỏ trên hình ảnh BeadChip.

Hình 28 BeadChip thể hiện các đoạn không quét được



Sau khi quá trình quét hoàn tất và dữ liệu quét được ghi vào thư mục đầu ra, nút Rescan (Quét lại) sẽ khả dụng.

Khi bạn chọn Rescan (Quét lại), phần mềm sẽ thực hiện các bước sau:

- ▶ Quét lại các mẫu chứa đoạn không quét được bằng cách sử dụng tỷ lệ chồng lấn giữa các ô cao hơn.
- ▶ Tạo các tệp đầu ra trong thư mục đầu ra gốc.
- ▶ Ghi đè các tệp đầu ra trước đó đối với các đoạn không quét được.
- ▶ Tăng tổng số lần quét thêm 1 với mỗi lần quét lại, nhưng thực hiện việc này trong nền. Phần mềm không đặt lại tên cho thư mục đầu ra.

Quét lại hoặc bắt đầu quy trình quét mới

- 1 Chọn **Rescan** (Quét lại) để quét các mẫu chứa đoạn không quét được.
- 2 Nếu vẫn không quét được, bạn hãy chấm dứt việc quét.
- 3 Tháo BeadChip và adapter ra rồi kiểm tra xem BeadChip có dính bụi hay mảnh vụn không. Sử dụng bình xịt bụi khí nén hoặc phương pháp xịt bụi nén khí khác để loại bỏ mảnh vụn.
- 4 Nạp lại BeadChip rồi bắt đầu quy trình quét mới.
Khi bắt đầu quy trình quét mới, phần mềm sẽ thực hiện các bước sau:
 - ▶ Quét toàn bộ BeadChip.
 - ▶ Tạo các tệp đầu ra trong một thư mục đầu ra mới.
 - ▶ Tăng tổng số lần quét thêm 1 dựa trên số lần quét của lần quét lại gần nhất.

Thay thế tệp phiếu kê khai và tệp cụm

- 1 Truy cập trang hỗ trợ của Illumina (support.illumina.com) dành cho BeadChip bạn đang sử dụng rồi nhấp vào tab **Downloads** (Tải xuống).
- 2 Tải xuống các tệp cần thay thế hoặc cập nhật, rồi sao chép các tệp đó vào vị trí mạng mong muốn.

LƯU Ý Đảm bảo bạn chọn các tệp phiếu kê khai và tệp cụm tương thích với hệ thống thiết bị NextSeq 550Dx. Các tệp tương thích có cụm **NS550** trong tên tệp.


- 3 Cập nhật vị trí trên màn hình BeadChip Scan Configuration (Cấu hình quét BeadChip) theo cách sau (nhưng chỉ cập nhật trong trường hợp vị trí đã thay đổi):
 - a Từ màn hình Home (Chính) của NCS, chọn **Manage Instrument** (Quản lý thiết bị).
 - b Chọn **System Configuration** (Cấu hình hệ thống).
 - c Chọn **BeadChip Scan Configuration** (Cấu hình quét BeadChip).
- 4 Chọn **Browse** (Duyệt) rồi tìm đến vị trí tệp được thay thế hoặc cập nhật.

Thư mục công thức và công thức tùy chỉnh

Không sửa đổi công thức gốc. Luôn tạo bản sao công thức gốc với tên mới. Nếu công thức gốc bị sửa đổi, trình cập nhật phần mềm sẽ không thể nhận dạng công thức đó cho những lần cập nhật sau được nữa và các phiên bản mới hơn cũng sẽ không được cài đặt.


Lưu trữ công thức tùy chỉnh trong thư mục công thức phù hợp. Các thư mục công thức được sắp xếp như sau.


Custom

 **High**: Các công thức tùy chỉnh được dùng với bộ kit hiệu suất cao.

 **Mid**: Các công thức tùy chỉnh được dùng với bộ kit hiệu suất trung bình.

 **High**: Các công thức gốc được dùng với bộ kit hiệu suất cao.

 **Mid**: Các công thức gốc được dùng với bộ kit hiệu suất trung bình.

 **Wash**: Chứa công thức rửa thủ công.

Thông báo lỗi RAID

Máy tính NextSeq 550Dx được trang bị 4 ổ cứng, 2 ổ cho chế độ chẩn đoán và 2 ổ cho chế độ nghiên cứu. Nếu có một ổ cứng bắt đầu gặp lỗi, hệ thống sẽ tạo thông báo lỗi RAID và đề xuất bạn liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina. Thường thì bạn sẽ cần thay thế ổ cứng.

Bạn có thể tiến hành các bước thiết lập lần chạy và vận hành bình thường. Mục đích của thông báo này là để lên lịch dịch vụ trước nhằm tránh gây gián đoạn cho hoạt động vận hành thiết bị bình thường. Chỉ quản trị viên mới có thể xác nhận cảnh báo RAID. Việc sử dụng thiết bị chỉ với một ổ cứng có thể dẫn đến mất dữ liệu.

Định cấu hình chế độ cài đặt hệ thống

Hệ thống được định cấu hình trong quá trình lắp đặt. Tuy nhiên, nếu cần thay đổi hoặc cần định cấu hình lại hệ thống, hãy sử dụng các tùy chọn cấu hình hệ thống. Chỉ tài khoản quản trị viên Windows mới có quyền truy cập các tùy chọn cấu hình hệ thống.

- ▶ **Cấu hình mạng**: Cung cấp các tùy chọn về chế độ cài đặt địa chỉ IP, địa chỉ máy chủ tên miền (DNS, Domain Name Server), tên máy tính và tên miền.

Đặt cấu hình mạng

- 1 Từ màn hình Manage Instrument (Quản lý thiết bị), chọn **System Configuration** (Cấu hình hệ thống).
- 2 Chọn **Obtain an IP address automatically** (Tự động lấy một địa chỉ IP) để lấy địa chỉ IP bằng cách sử dụng máy chủ DHCP.

LƯU Ý Giao thức cấu hình máy chủ động (DHCP, Dynamic Host Configuration Protocol) là giao thức mạng tiêu chuẩn được dùng trên các mạng IP để phân phối thông số cấu hình mạng một cách chủ động.

Ngoài ra, bạn có thể chọn **Use the following IP address** (Sử dụng địa chỉ IP sau) để kết nối thủ công thiết bị với một máy chủ khác như sau. Liên hệ với quản trị viên mạng để biết các địa chỉ dành riêng cho cơ sở của bạn.

- ▶ Nhập địa chỉ IP. Địa chỉ IP là chuỗi gồm bốn số tách biệt bằng dấu chấm, ví dụ như 168.62.20.37.
- ▶ Nhập mặt nạ mạng con, là mạng chia nhỏ của mạng IP.
- ▶ Nhập cổng mặc định là bộ định tuyến trên mạng kết nối với Internet.

- 3 Chọn **Obtain a DNS server address automatically** (Tự động lấy một địa chỉ DNS) để kết nối thiết bị với máy chủ tên miền liên kết với địa chỉ IP.

Ngoài ra, bạn có thể chọn **Use the following DNS addresses** (Sử dụng các địa chỉ máy chủ DNS sau) để kết nối thủ công thiết bị với một máy chủ tên miền như sau.

- ▶ Nhập địa chỉ DNS bạn muốn. Địa chỉ DNS là tên máy chủ được dùng để dịch tên miền thành địa chỉ IP.
- ▶ Nhập địa chỉ DNS thay thế. Địa chỉ DNS thay thế được dùng trong trường hợp DNS bạn chọn không thể dịch một tên miền cụ thể thành địa chỉ IP.

- 4 Chọn **Save** (Lưu) để chuyển đến màn hình Computer (Máy tính).

LƯU Ý Tên máy tính thiết bị được chỉ định cho máy tính thiết bị tại thời điểm sản xuất. Mọi thay đổi đối với tên máy tính có thể ảnh hưởng đến khả năng kết nối và chỉ quản trị viên mạng mới có thể thực hiện việc thay đổi này.

- 5 Kết nối máy tính thiết bị với một miền hoặc nhóm làm việc như sau.

- ▶ **Đối với các thiết bị kết nối với Internet:** Chọn **Member of Domain** (Thành viên miền), rồi nhập tên miền liên kết với kết nối Internet ở cơ sở của bạn. Cần sử dụng tên người dùng và mật khẩu của quản trị viên để thực hiện thay đổi đối với miền.
- ▶ **Đối với các thiết bị không kết nối với Internet:** Chọn **Member of Work Group** (Thành viên nhóm làm việc), rồi nhập tên nhóm làm việc. Tên nhóm làm việc chỉ dùng riêng cho cơ sở của bạn.

- 6 Chọn **Save** (Lưu).

Đặt cấu hình phân tích

- 1 Từ màn hình Manage Instrument (Quản lý thiết bị), chọn **System Configuration** (Cấu hình hệ thống).

- 2 Chọn **Analysis Configuration** (Cấu hình phân tích).

- 3 Chọn trong các tùy chọn sau đây để chỉ định vị trí truyền dữ liệu đến cho quá trình phân tích tiếp theo.

- ▶ Chọn **BaseSpace** để gửi dữ liệu giải trình tự đến Illumina BaseSpace. **[Không bắt buộc]** Chọn hộp kiểm **Output Folder** (Thư mục đầu ra), chọn **Browse** (Duyệt), rồi tìm đến vị trí mạng phụ để lưu tệp BCL cùng với BaseSpace.

- ▶ Chọn **BaseSpace Onsite**. Trong trường Server Name (Tên máy chủ), hãy nhập toàn bộ đường dẫn đến máy chủ BaseSpace Onsite của bạn. **[Không bắt buộc]** Chọn hộp kiểm **Output Folder** (Thư mục đầu ra), chọn **Browse** (Duyệt), rồi tìm đến vị trí mạng phụ để lưu tệp BCL cùng với máy chủ BaseSpace Onsite.
 - ▶ Chọn **Standalone instrument** (Thiết bị độc lập) để chỉ lưu dữ liệu vào vị trí mạng. Chọn **Browse** (Duyệt) rồi tìm đến vị trí mạng mà bạn muốn. Phần mềm điều khiển tự động tạo tên thư mục đầu ra.
 - ▶ **[Không bắt buộc]** Chọn **Use Run Monitoring** (Sử dụng dịch vụ giám sát lần chạy) để giám sát lần chạy bằng các công cụ trực quan hóa trên BaseSpace. Yêu cầu đăng nhập BaseSpace và có kết nối Internet.
- 4 Nếu bạn chọn BaseSpace hoặc BaseSpace Onsite, hãy đặt các thông số BaseSpace như sau.
- ▶ Nhập **User Name** (Tên người dùng) và **Password** (Mật khẩu) BaseSpace để đăng ký thiết bị với BaseSpace.
 - ▶ Chọn **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Sử dụng thông tin đăng nhập mặc định và bỏ qua màn hình đăng nhập BaseSpace) để đặt tên người dùng và mật khẩu đã đăng ký làm thông tin đăng nhập mặc định. Chế độ cài đặt này sẽ bỏ qua màn hình BaseSpace trong khi thiết lập lần chạy.
- 5 Chọn **Send Instrument Performance Data to Illumina (Gửi dữ liệu hiệu suất thiết bị đến Illumina)** để bật dịch vụ giám sát Illumina Proactive. Tên của chế độ cài đặt trong giao diện phần mềm có thể khác với tên trong hướng dẫn này, tùy thuộc vào phiên bản NCS mà bạn sử dụng. Khi chế độ cài đặt này được bật, dữ liệu hiệu suất thiết bị sẽ được gửi đến Illumina. Dữ liệu này giúp Illumina khắc phục sự cố dễ dàng hơn và phát hiện các lỗi có thể xảy ra, cho phép bảo trì chủ động và tối đa hóa thời gian hoạt động của thiết bị. Để biết thêm thông tin về các lợi ích của dịch vụ này, hãy tham khảo *Illumina Proactive Technical Note (Chú giải kỹ thuật về Illumina Proactive)* (tài liệu số 100000052503).
- Dịch vụ này:
- ▶ Không gửi dữ liệu giải trình tự
 - ▶ Yêu cầu thiết bị kết nối với mạng có quyền truy cập Internet
 - ▶ Được tắt theo mặc định. Để chọn tham gia dịch vụ này, hãy bật chế độ cài đặt **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Gửi dữ liệu hiệu suất thiết bị đến Illumina).
- 6 Chọn **Save** (Lưu).

Cấu hình quét BeadChip

- 1 Từ màn hình Manage Instrument (Quản lý thiết bị), chọn **System Configuration** (Cấu hình hệ thống).
- 2 Chọn **BeadChip Scan Configuration** (Cấu hình quét BeadChip).
- 3 Để chỉ định vị trí thư mục DMAP mặc định, chọn **Browse** (Duyệt) rồi tìm đến vị trí thư mục bạn muốn trên mạng cơ sở.

LƯU Ý Trước mỗi lần quét, hãy tải xuống và sao chép nội dung DMAP vào vị trí này. Cần có nội dung DMAP cho từng BeadChip và nội dung này là riêng biệt với từng mã vạch BeadChip.

- 4 Để chỉ định vị trí đầu ra mặc định, hãy chọn **Browse** (Duyệt) rồi tìm đến vị trí bạn muốn trên mạng cơ sở.
- 5 Chọn định dạng tệp hình ảnh cho các hình ảnh được lưu. Loại hình ảnh mặc định là **JPG**.

- 6 Chọn định dạng tệp đầu ra cho dữ liệu quét. Loại tệp đầu ra mặc định chỉ là **GTC**.
- 7 Chọn **Save** (Lưu).
- 8 Từ màn hình Scan Map (Bản đồ quét), hãy chỉ định toàn bộ đường dẫn đến tệp phiếu kê khai và tệp cụm cho từng loại BeadChip. Chọn **Browse** (Duyệt) cho từng loại tệp rồi tìm đến vị trí thư mục chứa các tệp này.
- 9 **[Không bắt buộc]** Chọn **Hide Obsolete BeadChips** (Ẩn BeadChip không dùng nữa) để loại bỏ các BeadChip không dùng nữa khỏi dạng xem.
- 10 Chọn **Save** (Lưu).

Phụ lục B Real-Time Analysis

Tổng quan về Real-Time Analysis	55
Quy trình công việc của Real-Time Analysis	56

Tổng quan về Real-Time Analysis

Thiết bị NextSeq 550Dx sử dụng bản triển khai của phần mềm Real-Time Analysis (RTA) tên là RTA2. RTA2 chạy trên máy tính thiết bị và trích xuất cường độ từ hình ảnh, thực hiện phát hiện base và chỉ định điểm chất lượng cho phát hiện base. RTA2 và phần mềm vận hành giao tiếp thông qua giao diện HTTP web và các tệp bộ nhớ được chia sẻ. Nếu RTA2 đã dừng hoạt động, quá trình xử lý sẽ không tiếp tục và dữ liệu lần chạy sẽ không được lưu.

Đầu vào RTA2

RTA2 cần có nội dung đầu vào sau để xử lý:

- ▶ Hình ảnh ô nằm trong bộ nhớ hệ thống của thiết bị.
- ▶ **RunInfo.xml**, là tệp được tạo tự động khi bắt đầu lần chạy. Tệp này cung cấp tên lần chạy, số chu kỳ, số ô trên tế bào dòng chảy và cho biết đoạn đọc có được lập chỉ thị không.
- ▶ **RTA.exe.config**, là tệp cấu hình phần mềm ở định dạng XML.

RTA2 nhận lệnh từ phần mềm vận hành về vị trí của tệp **RunInfo.xml** và tình trạng chỉ định thư mục đầu ra không bắt buộc.

Tệp đầu ra RTA2

Hình ảnh cho mỗi kênh được **chuyển** vào bộ nhớ dưới dạng ô. Ô là các khu vực chụp ảnh nhỏ trên tế bào dòng chảy được xác định là trường ngắm của máy ảnh. Từ những hình ảnh này, phần mềm sẽ tạo ra đầu ra dưới dạng một tập hợp các tệp phát hiện base và các tệp bộ lọc có điểm chất lượng. Tất cả các tệp khác đều là tệp đầu ra hỗ trợ.

Loại tệp	Mô tả
Các tệp phát hiện base	Mỗi ô được phân tích đều nằm trong một tệp phát hiện base (*.bcl.bgzf) tổng hợp cho từng làn và từng chu kỳ. Tệp phát hiện base tổng hợp chứa phát hiện base và điểm chất lượng đi kèm cho mỗi cụm trong làn đó.
Tệp bộ lọc	Mỗi ô lại tạo thông tin bộ lọc được tổng hợp vào 1 tệp bộ lọc (*.filter) cho từng làn. Tệp bộ lọc chỉ định xem một cụm có đi qua bộ lọc hay không.
Tệp vị trí cụm	Các tệp vị trí cụm (*.locs) chứa các tọa độ X, Y cho mỗi cụm trong một ô. Một tệp vị trí cụm sẽ được tạo cho mỗi làn trong khi tạo mẫu.
Các tệp chỉ thị phát hiện base	Một tệp chỉ thị phát hiện base (*.bci) được tạo cho mỗi làn để lưu giữ thông tin về ô gốc. Tệp chỉ thị chứa các cặp giá trị của từng ô, tức là gồm số ô và số lượng cụm trong ô đó.

RTA2 cung cấp số liệu trong thời gian thực về chất lượng lần chạy, được lưu trữ dưới dạng tệp InterOp. Tệp InterOp là đầu ra nhị phân chứa các số liệu ở cấp độ đoạn đọc, chu kỳ và ô.

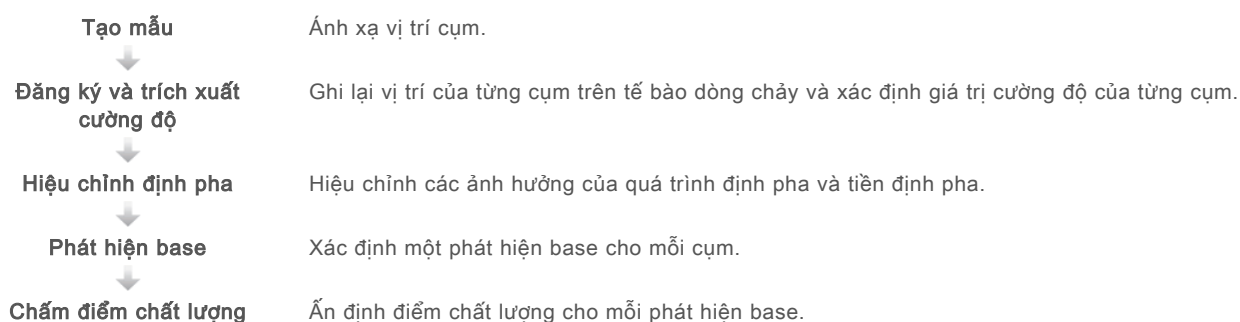
Xử lý lỗi

RTA2 tạo các tệp nhật ký và ghi các tệp đó vào thư mục RTALogs. Lỗi được ghi lại trong một tệp lỗi ở định dạng tệp *.tsv.

Các tệp nhật ký và lỗi sau được chuyển tới thư mục đích đầu ra cuối cùng ở cuối quá trình xử lý:

- ▶ *GlobalLog*.tsv tóm tắt các sự kiện quan trọng trong lần chạy.
- ▶ *LaneNLog*.tsv liệt kê các sự kiện xử lý của từng làn.
- ▶ *Error*.tsv liệt kê các lỗi đã xảy ra trong lần chạy.
- ▶ *WarningLog*.tsv liệt kê các cảnh báo đã xảy ra trong lần chạy.

Quy trình công việc của Real-Time Analysis



Tạo mẫu

Bước đầu tiên trong quy trình công việc của RTA là tạo mẫu, tức là xác định vị trí của mỗi cụm trong ô bằng cách sử dụng các tọa độ X và Y.

Việc tạo mẫu yêu cầu dữ liệu hình ảnh từ 5 chu kỳ đầu tiên trong lần chạy. Sau khi chụp ảnh xong chu kỳ mẫu cuối cùng của ô, mẫu sẽ được tạo.

LƯU Ý Để phát hiện cụm trong khi tạo mẫu, phải có ít nhất 1 base không thuộc loại G trong 5 chu kỳ đầu tiên. Với mọi trình tự chỉ thị, RTA2 yêu cầu ít nhất 1 không thuộc loại G trong 2 chu kỳ đầu tiên.

Mẫu được dùng làm tham chiếu cho bước đăng ký và trích xuất cường độ tiếp theo. Các vị trí cụm của toàn bộ tế bào dòng chảy được ghi vào các tệp vị trí cụm (*.locs), mỗi làn 1 tệp.

Đăng ký và trích xuất cường độ

Quy trình đăng ký và trích xuất cường độ bắt đầu sau khi tạo mẫu.

- ▶ Quy trình đăng ký sẽ căn chỉnh hình ảnh được tạo trong mọi chu kỳ chụp ảnh tiếp theo dựa trên mẫu.
- ▶ Quy trình trích xuất cường độ xác định giá trị cường độ cho từng cụm trong mẫu của một hình ảnh cụ thể.

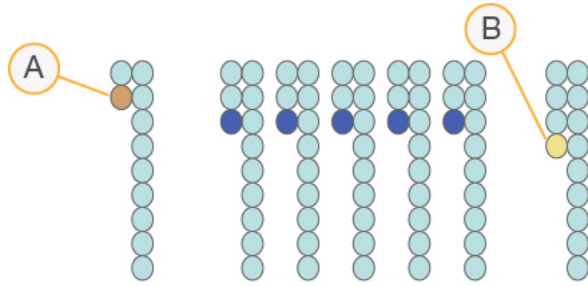
Nếu bất kỳ hình ảnh nào trong một chu kỳ không được đăng ký thành công thì không có phát hiện base nào được tạo cho ô đó trong chu kỳ đó.

Hiệu chỉnh định pha

Trong phản ứng giải trình tự, mỗi sợi ADN trong một cụm kéo dài thêm 1 base trong mỗi chu kỳ. Định pha và tiền định pha xảy ra khi một sợi trở nên không hợp pha với chu kỳ kết hợp hiện tại.

- ▶ Định pha xảy ra khi một base rơi lại phía sau.
- ▶ Tiền định pha xảy ra khi một base nhảy lên phía trước.

Hình 29 Định pha và tiền định pha



- A Đoạn đọc có base định pha
- B Đoạn đọc có base tiền định pha.

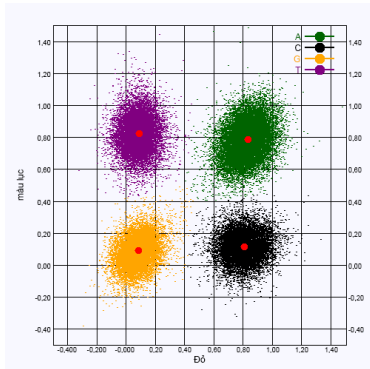
RTA2 hiệu chỉnh các ảnh hưởng của định pha và tiền định pha, nhờ vậy tối đa hóa chất lượng dữ liệu ở mỗi chu kỳ trong suốt lần chạy.

Phát hiện base

Quá trình phát hiện base sẽ xác định một base (A, C, G hoặc T) cho mỗi cụm của một ô cho trước ở một chu kỳ cụ thể. Thiết bị NextSeq 550Dx sử dụng phương pháp giải trình tự 2 kênh. Phương pháp này chỉ cần 2 hình ảnh để mã hóa dữ liệu cho 4 base ADN, 1 từ kênh đỏ và 1 từ kênh xanh lục.

Các cường độ trích xuất từ một hình ảnh được so sánh với một hình ảnh khác dẫn đến 4 quần thể riêng biệt, mỗi quần thể tương ứng với một nucleotide. Quá trình phát hiện base xác định mỗi cụm thuộc về quần thể nào.

Hình 30 Trực quan hóa cường độ của cụm



Bảng 1 Phát hiện base trong giải trình tự hai kênh

Base	Kênh đỏ	Kênh xanh lục	Kết quả
A	1 (bật)	1 (bật)	Các cụm thể hiện cường độ ở cả kênh đỏ và xanh lục.
C	1 (bật)	0 (tắt)	Các cụm chỉ thể hiện cường độ ở kênh đỏ.
G	0 (tắt)	0 (tắt)	Các cụm không thể hiện cường độ nào tại vị trí cụm đã xác định.
T	0 (tắt)	1 (bật)	Các cụm chỉ thể hiện cường độ ở kênh xanh lục.

Các cụm đi qua bộ lọc

Trong lần chạy, RTA2 lọc dữ liệu thô để xóa các đoạn đọc không đáp ứng được ngưỡng chất lượng dữ liệu. Các cụm chùng chéo và chất lượng thấp sẽ được loại bỏ.

Đối với quá trình phân tích 2 kênh, RTA2 sử dụng hệ thống dựa trên quần thể để xác định độ tinh khiết của phát hiện base. Các cụm đi qua bộ lọc (PF, Pass Filter) khi có không quá 1 phát hiện base trong 25 chu kỳ đầu có độ tinh khiết < 0,63. Các cụm không đi qua bộ lọc không được phát hiện base.

Các lưu ý về việc lập chỉ thị

Quy trình dành cho các đoạn đọc chỉ thị phát hiện base khác với quy trình phát hiện base trong các đoạn đọc khác.

Đoạn đọc chỉ thị phải bắt đầu với ít nhất 1 base không phải loại G ở một trong hai chu kỳ đầu. Nếu Đoạn đọc chỉ thị bắt đầu với 2 phát hiện base loại G thì sẽ không có cường độ tín hiệu nào được tạo ra. Tín hiệu phải xuất hiện ở một trong hai chu kỳ đầu để đảm bảo hiệu suất tách đoạn.

Để tăng hiệu lực tách đoạn, hãy chọn trình tự chỉ thị cung cấp tín hiệu trong ít nhất 1 kênh và tốt nhất là trong cả 2 kênh, ở mọi chu kỳ. Làm theo hướng dẫn này để tránh các tổ hợp chỉ thị chỉ cho ra kết quả base G ở mọi chu kỳ.

- ▶ Kênh đỏ: A hoặc C
- ▶ Kênh xanh lục: A hoặc T

Quy trình phát hiện base này đảm bảo độ chính xác khi phân tích các mẫu ít kênh.

Chấm điểm chất lượng

Điểm chất lượng, hoặc điểm Q, là dự đoán về xác suất xảy ra một phát hiện base không chính xác. Điểm Q cao hơn đồng nghĩa với một kết quả phát hiện base có chất lượng cao hơn và độ chính xác cao hơn.

Điểm Q là một cách đơn giản để truyền đạt các xác suất lỗi nhỏ. Điểm chất lượng được biểu thị dưới dạng Q(X), trong đó X là số điểm. Bảng dưới đây cho thấy mối quan hệ giữa điểm chất lượng và xác suất lỗi.

Điểm chất lượng Q(X)	Xác suất lỗi
Q40	0,0001 (1 trên 10.000)
Q30	0,001 (1 trên 1.000)
Q20	0,01 (1 trên 100)
Q10	0,1 (1 trên 10)

LƯU Ý Chấm điểm chất lượng dựa trên một phiên bản sửa đổi của thuật toán Phred.

Chấm điểm chất lượng tính toán một bộ dự báo cho mỗi kết quả phát hiện base, rồi sử dụng các giá trị dự báo để tìm kiếm điểm Q trong một bảng chất lượng. Bảng chất lượng được tạo ra để cung cấp các dự đoán chất lượng chính xác tối ưu cho các lần chạy được tạo ra bởi một cấu hình cụ thể của nền tảng giải trình tự và phiên bản quy trình hóa học.

Sau khi xác định điểm chất lượng, kết quả được ghi vào tệp phát hiện base (*.bcl.bgzf).

Phụ lục C Tập và thư mục đầu ra

Tập đầu ra giải trình tự	59
Cấu trúc thư mục đầu ra	62
Tập đầu ra quét	63
Cấu trúc thư mục đầu ra quét	63

Tập đầu ra giải trình tự

Loại tập	Mô tả, vị trí và tên tập
Các tập phát hiện base	Mỗi ô được phân tích đều được đưa vào một tập phát hiện base, được tổng hợp thành 1 tập cho mỗi làn và mỗi chu kỳ. Tập tổng hợp chứa phát hiện base và điểm chất lượng được mã hóa cho mỗi cụm của làn đó. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] : Các tập được lưu trữ trong 1 thư mục cho mỗi làn. [Chu kỳ].bcl.bgzf , trong đó [Chu kỳ] thể hiện số chu kỳ có 4 chữ số. Các tập phát hiện base được nén bằng phương thức nén gzip theo khối.
Tập chỉ thị phát hiện base	Với mỗi làn, tập chỉ thị nhị phân liệt kê thông tin ô gốc trong một cặp giá trị của từng ô, tức là gồm số ô và số lượng cụm trong ô đó. Tập chỉ thị phát hiện base được tạo vào lần đầu tạo tập phát hiện base cho làn đó. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] : Các tập được lưu trữ trong 1 thư mục cho mỗi làn. s_[Làn].bci
Tập vị trí cụm	Với mỗi ô, tọa độ XY của tất cả các cụm được tổng hợp vào 1 tập vị trí cụm cho mỗi làn. Tập vị trí cụm là kết quả của việc tạo mẫu. Data\Intensities\L00[X] : Các tập được lưu trữ trong 1 thư mục cho mỗi làn. s_[làn].locs
Tập bộ lọc	Tập bộ lọc chỉ định xem một cụm có đi qua bộ lọc hay không. Thông tin bộ lọc được tổng hợp vào 1 tập bộ lọc cho mỗi làn và đoạn đọc. Các tập bộ lọc được tạo ở chu kỳ 26 bằng 25 chu kỳ dữ liệu. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] : Các tập được lưu trữ trong 1 thư mục cho mỗi làn. s_[làn].filter
Tập InterOp	Tập báo cáo nhị phân. Các tập InterOp được cập nhật trong suốt lần chạy. Thư mục InterOp
Tập cấu hình RTA	Được tạo ra khi bắt đầu lần chạy, tập cấu hình RTA liệt kê chế độ cài đặt của lần chạy. [Thư mục gốc], RTAConfiguration.xml
Tập thông tin lần chạy	Liệt kê tên lần chạy, số lượng chu kỳ trong mỗi đoạn đọc, việc đoạn đọc có phải là đoạn đọc được lập chỉ thị hay không cũng như số lượng dải và ô trên tế bào dòng chảy. Tập thông tin lần chạy được tạo ở đầu lần chạy. [Thư mục gốc], RunInfo.xml

Ô trên tế bào dòng chảy

Ô là các khu vực chụp ảnh nhỏ trên tế bào dòng chảy được xác định là trường ngắm của máy ảnh. Tổng số lượng ô phụ thuộc vào số lượng làn, dải và bề mặt được chụp ảnh trên tế bào dòng chảy, cũng như cách các máy ảnh phối hợp để thu thập hình ảnh. Các tế bào dòng chảy hiệu suất cao có tổng cộng 864 ô.

Bảng 2 Ô trên tế bào dòng chảy

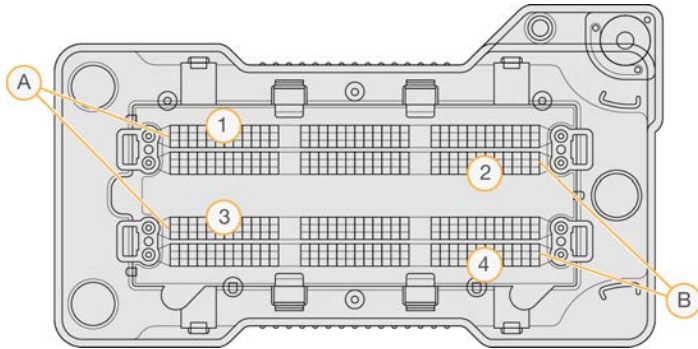
Thành phần của tế bào dòng chảy	Hiệu suất cao	Mô tả
Số làn	4	Làn là một kênh vật lý có các cổng đầu ra và đầu vào riêng.
Số bề mặt	2	Tế bào dòng chảy được chụp ảnh ở 2 bề mặt: trên và dưới. Mặt trên và mặt dưới của 1 ô lần lượt được chụp ảnh, rồi đến ô tiếp theo.

Thành phần của tế bào dòng chảy	Hiệu suất cao	Mô tả
Số dải ở mỗi làn	3	Dải là một cột ô trong làn.
Số đoạn máy ảnh	3	Thiết bị sử dụng 6 máy ảnh để chụp ảnh tế bào dòng chảy ở 3 đoạn của mỗi làn.
Số ô ở mỗi dải trong một đoạn máy ảnh	12	Ô là khu vực trên tế bào dòng chảy được máy ảnh coi là 1 hình ảnh.
Tổng số ô được chụp ảnh	864	Tổng số ô bằng số làn × số bề mặt × số dải × số đoạn máy ảnh × số ô ở mỗi dải trong một đoạn.

Đánh số làn

Làn 1 và 3, gọi là cặp làn A, được chụp ảnh cùng lúc. Làn 2 và 4, gọi là cặp làn B, được chụp ảnh sau khi đã chụp xong cặp làn A.

Hình 31 Đánh số làn

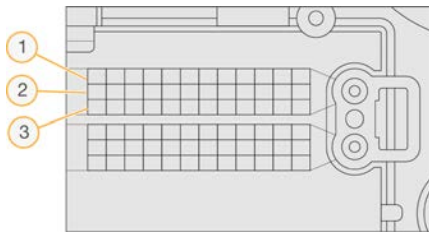


- A Cặp làn A: Làn 1 và 3
- B Cặp làn B: Làn 2 và 4

Đánh số dải

Mỗi làn được chụp ảnh theo 3 dải. Các dải được đánh số từ 1 đến 3 đối với tế bào dòng chảy hiệu suất cao.

Hình 32 Đánh số dải

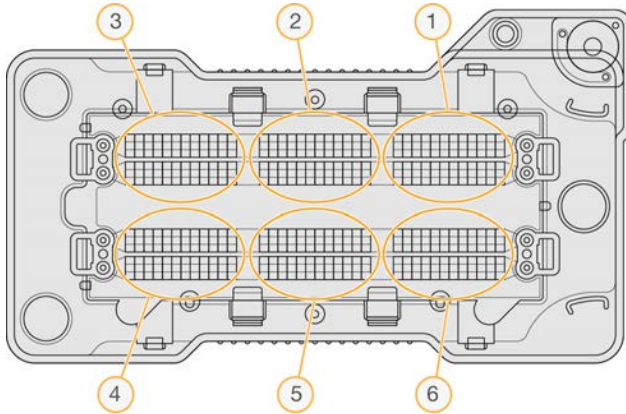


Đánh số máy ảnh

Thiết bị NextSeq 550Dx dùng 6 máy ảnh để chụp ảnh tế bào dòng chảy.

Các máy ảnh được đánh số từ 1 đến 6. Các máy ảnh từ 1 đến 3 chụp ảnh làn 1. Các máy ảnh từ 4 đến 6 chụp ảnh làn 3. Sau khi chụp ảnh làn 1 và 3, mô-đun chụp ảnh di chuyển theo chiều ngang để chụp ảnh làn 2 và 4.

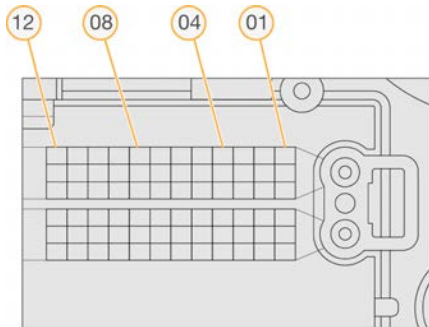
Hình 33 Đánh số máy ảnh và đoạn (Trong hình minh họa là tế bào dòng chảy hiệu suất cao)



Đánh số ô

Mỗi dải trong một đoạn máy ảnh có 12 ô. Các ô được đánh số từ 01 đến 12, bất kể số dải hay đoạn máy ảnh, và được thể hiện bằng 2 chữ số.

Hình 34 Đánh số ô



Số ô hoàn thiện bao gồm 5 chữ số thể hiện vị trí, cụ thể như sau:

- ▶ **Bề mặt:** 1 thể hiện mặt trên; 2 thể hiện mặt dưới
- ▶ **Dải:** 1, 2 hoặc 3
- ▶ **Máy ảnh:** 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6
- ▶ **Ô:** 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 hoặc 12

Ví dụ: Số ô 12508 chỉ mặt trên, dải 2, máy ảnh 5 và ô 8.

Số ô hoàn thiện gồm 5 chữ số này được dùng trong tên tệp của hình ảnh thu nhỏ và tệp định pha thực nghiệm. Để biết thêm thông tin, hãy xem mục [Tệp đầu ra giải trình tự](#) trên trang 59.

Cấu trúc thư mục đầu ra

Phần mềm vận hành tự động tạo tên thư mục đầu ra.

Data

Intensities

BaseCalls

 **L001**: Các tệp phát hiện base của làn 1, được tổng hợp vào 1 tệp trong mỗi chu kỳ.

 **L002**: Các tệp phát hiện base của làn 2, được tổng hợp vào 1 tệp trong mỗi chu kỳ.

 **L003**: Các tệp phát hiện base của làn 3, được tổng hợp vào 1 tệp trong mỗi chu kỳ.

 **L004**: Các tệp phát hiện base của làn 4, được tổng hợp vào 1 tệp trong mỗi chu kỳ.

 **L001**: Tệp *.locs tổng hợp của làn 1.


 **L002**: Tệp *.locs tổng hợp của làn 2.


 **L003**: Tệp *.locs tổng hợp của làn 3.

 **L004**: Tệp *.locs tổng hợp của làn 4.

Images

Focus


 **L001**: Hình ảnh lấy nét của làn 1.


 **L002**: Hình ảnh lấy nét của làn 2.


 **L003**: Hình ảnh lấy nét của làn 3.

 **L004**: Hình ảnh lấy nét của làn 4.

 **InterOp**: Tệp nhị phân.

 **Logs**: Tệp nhật ký mô tả các bước vận hành.

 **Recipe**: Tệp công thức dành riêng cho từng lần chạy được đặt tên theo ID hộp thuốc thử.

 **RTALogs**: Tệp nhật ký mô tả các bước phân tích.

 RTAComplete.txt

 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

Tệp đầu ra quét

Loại tệp	Mô tả, vị trí và tên tệp
Tệp GTC	Tệp phát hiện kiểu gen. Mỗi mẫu được quét trên BeadChip được tạo một tệp GTC. Tên tệp bao gồm mã vạch và mẫu được quét. [mã vạch]_[mẫu].gtc
Tệp hình ảnh	Tệp hình ảnh được đặt tên theo khu vực quét trên BeadChip. Tên bao gồm mã vạch, mẫu và đoạn trên BeadChip, dải và kênh chụp ảnh (đỏ hoặc xanh lục). [mã vạch]_[mẫu]_[đoạn]_[dải]_[máy ảnh]_[ô]_[kênh].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Mã vạch: Tên tệp bắt đầu bằng mã vạch BeadChip. • Mẫu: Một khu vực của BeadChip, được đánh số dưới dạng hàng (R0X) từ trên xuống dưới và cột (C0X) từ trái sang phải. • Đoạn: Hàng được đánh số trong một mẫu. • Dải: BeadChip được chụp ảnh dưới dạng tập hợp các ô chồng lấn. Vì vậy, chỉ có 1 dải được dùng để chụp ảnh đoạn. • Máy ảnh: Máy ảnh dùng để thu thập hình ảnh. • Ô: Khu vực chụp ảnh được xác định là trường ngắm của máy ảnh. • Kênh: Kênh đỏ hoặc xanh lục.

Cấu trúc thư mục đầu ra quét

- 📁 [Ngày]_[Tên thiết bị]_[Số lần quét]_[Mã vạch]
 - 📁 [Mã vạch]
 - 📁 Config
 - 📄 Effective.cfg: Ghi lại chế độ cài đặt cấu hình được dùng trong khi quét.
 - 📁 Focus: Chứa các tệp hình ảnh được dùng để lấy nét lần quét.
 - 📁 Logs: Chứa các tệp nhật ký liệt kê từng bước được thực hiện trong khi quét.
 - 📁 PreScanDiagnosticFiles
 - 📁 [Ngày_Giờ] Barcode Scan
 - 📄 ProcessedBarcode.jpg: Hình ảnh mã vạch BeadChip.
 - 📄 Scanning Diagnostics (tệp nhật ký)
 - 📄 PreScanChecks.csv: Ghi lại kết quả kiểm tra tự động.
 - 📄 GTC files: Tệp phát hiện kiểu gen (1 tệp/mẫu).
 - 📄 IDAT files: [Không bắt buộc] Tệp dữ liệu cường độ (2 tệp/mẫu; 1 tệp/kênh).
 - 📄 Image files: Hình ảnh quét của từng mẫu, đoạn, dải, máy ảnh, ô và kênh.
 - 📄 [Mã vạch]_sample_metrics.csv
 - 📄 [Mã vạch]_section_metrics.csv
 - 📄 ScanParameters.xml

Chỉ mục

A

adapter
 hướng BeadChip 29
 nạp BeadChip 30
 tổng quan 5

Â

âm thanh 12

B

bàn phím 12
bảo trì phòng ngừa 35
bảo trì thiết bị
 vật tư tiêu hao 14
bảo trì, phòng ngừa 35
BaseSpace 51
 đăng nhập 18
BeadChip
 adapter 5, 29
 hướng mã vạch 29
 không đăng ký được 48
 không thể đọc mã vạch 48
 loại 1
 nạp 30
 phân tích 1
biểu tượng
 lỗi và cảnh báo 4
 trạng thái 4
bộ lọc độ tinh khiết 57
bộ lọc không khí 4, 38

C

các cụm đi qua bộ lọc 57
các lưu ý về việc lập chỉ thị 58
cảnh báo trạng thái 4
cấp làn 60
cập nhật phần mềm 39
Cấu hình 51
Cấu hình BaseSpace 23
cấu hình độc lập 23
công tắc nguồn 11
cường độ 57
chế độ cài đặt cấu hình 50
chế độ cài đặt hệ thống 12
chế độ RUO 12

chụp ảnh, giải trình tự 2 kênh 57

D

Decode File Client 27
 truy cập theo BeadChip 29
 truy cập theo tài khoản 28
Dịch vụ giám sát Illumina Proactive 51

Đ

đánh số dài 60
đánh số làn 60
đánh số máy ảnh 60
đánh số ô 61
đào tạo trực tuyến 2
đi qua bộ lọc (PF) 57
Điểm chất lượng 58
định pha thực nghiệm 56
định pha, tiền định pha 56
độ dài đoạn đọc 15-16

F

formamide, vị trí số 6 22

G

giải trình tự
 giới thiệu 15
 vật tư tiêu hao do người dùng cung cấp 13

H

hỗ trợ kỹ thuật 69
hỗ trợ khách hàng 69
hộp dung dịch đệm 9, 21
hộp thuốc thử
 ngăn chứa số 28 36
 ngăn chứa số 6 22
 tổng quan 8
hướng dẫn về nước ở cấp độ dùng trong
 phòng thí nghiệm 14

K

kiểm tra trước lần chạy 24, 31

khả năng tương thích

- tế bào dòng chảy, hộp thuốc thử 6
- theo dõi bằng RFID 6, 8

khắc phục sự cố

- hộp đựng thuốc thử đã sử dụng 46
- kiểm tra trước khi chạy 44
- không thể đọc mã vạch BeadChip 48
- lỗi đăng ký khi quét 48
- số liệu chất lượng thấp 46
- tệp dành riêng cho lần chạy 43
- tệp dành riêng cho lần quét 44
- thay thế tệp phiếu kê khai và tệp cụm 49

khoang chụp ảnh 3

khoang chứa dung dịch đệm 3

khoang chứa thuốc thử 3

khởi động lại 41

- thiết bị 41

khởi động lại vào chế độ nghiên cứu 12

L

lỗi kiểm tra trước khi chạy 44

lỗi và cảnh báo 4, 55

N

natri hypoclorit, rửa 36

nút nguồn 5, 11

P

phát hiện base 57

- các lưu ý về việc lập chỉ thị 58

phần mềm

- cập nhật tự động 40
- cập nhật thủ công 40
- chế độ cài đặt cấu hình 50
- khởi chạy 11
- phân tích hình ảnh, phát hiện base 4
- thời lượng lần chạy 15-16
- trên thiết bị 4

phần mềm BlueFuse Multi 1

phần mềm điều khiển 4

phần mềm Real-Time Analysis 4

- định pha 56
- quy trình công việc 56

Phần mềm Real-Time Analysis

- kết quả 59

phân tích

- tệp đầu ra 59

Q

quá trình phân tích, chính

- độ tinh sạch của tín hiệu 57

quản lý thiết bị

- tất 41

quy trình công việc

- BeadChip 30
- các lưu ý về việc lập chỉ thị 58
- chế độ BaseSpace 23
- chế độ độc lập 23
- chuẩn bị tế bào dòng chảy 17
- đăng nhập BaseSpace 18
- giải trình tự 56
- hộp dung dịch đệm 21
- hộp thuốc thử 21
- kiểm tra trước lần chạy 24, 31
- natri hypoclorit 36
- số liệu lần chạy 25
- tế bào dòng chảy 18
- tổng quan 16, 28
- tùy chọn nạp nâng cao 13
- thời lượng lần chạy 15-16
- thuốc thử đã sử dụng 19

quy trình công việc giải trình tự 16, 56

quy trình rửa

- quy trình rửa thủ công 35
- tự động 26
- thành phần trong quy trình rửa 35
- vật tư tiêu hao do người dùng tự chuẩn bị 35

quy trình rửa sau lần chạy 26

quy trình rửa thiết bị 35

R

RunInfo.xml 43, 59

S

số chu kỳ trong một đoạn đọc 15

số liệu

- chu kỳ cường độ 25
- chu kỳ mật độ cụm 25
- phát hiện base 57

số liệu lần chạy 25

số lượng chu kỳ trong một đoạn đọc 15

T

- tài liệu hướng dẫn 2, 69
- tạo cụm 15, 25
- tạo lại thể lai mới 46
- tạo lại thể lai, Đoạn đọc 1 46
- tạo mẫu 56
- tắt thiết bị 41
- tế bào dòng chảy
 - cặp làn 7
 - chụp ảnh 60
 - đánh số làn 60
 - đánh số ô 61
 - đóng gói 17
 - ghim căn chỉnh 18
 - làm sạch 17
 - ô 59
 - số dải 60
 - tạo lại thể lai 46
 - tổng quan 7
- tên người dùng và mật khẩu 11
- tên người dùng và mật khẩu trên hệ thống 11
- tệp bộ lọc 59
- tệp đầu ra 59
- tệp đầu ra quét
 - GTC, IDAT 63
- tệp đầu ra, giải trình tự 59
- tệp đầu ra, quét
 - GTC, IDAT 63
- tệp đầu vào, quét
 - tệp cụm 27, 49
 - tệp phiếu kê khai 27, 49
 - thư mục DMAP 27
 - thư mục DMAP, tải xuống 28
- tệp GTC 63
- tệp InterOp 43, 59
- tệp locs 59
- tệp phát hiện base 59
- tùy chọn nạp nâng cao 13
- thành phần
 - khoang chụp ảnh 3
 - khoang chứa dung dịch đệm 3
 - khoang chứa thuốc thử 3
 - thanh trạng thái 3
- thanh trạng thái 3
- tháo rửa vật tư tiêu hao 13
- theo dõi bằng RFID 6
- thiết bị
 - ảnh đại diện 12
 - biệt danh 12
 - chế độ cài đặt cấu hình 50
 - chỉ báo chế độ 12
 - khởi động 11
 - khởi động lại 41
 - nút nguồn 5
 - tắt 41
- thiết lập lần chạy, tùy chọn nâng cao 13
- Thông báo lỗi RAID 50
- thông số lần chạy
 - chế độ BaseSpace 23
 - chế độ đọc lặp 23
 - chỉnh sửa thông số 23
- thời lượng lần chạy 15-16
- thuật toán Phred 58
- thuốc thử
 - thải bỏ đúng cách 21
 - theo bộ kit 6
- thuốc thử đã sử dụng
 - hộp đựng đầy 46
 - thải bỏ 19, 37
- thư mục DMAP
 - Decode File Client 27
 - tải xuống 28
- trợ giúp
 - tài liệu hướng dẫn 2
- trợ giúp, kỹ thuật 69
- truyền dữ liệu
 - dữ liệu quét 33
 - universal copy service 25

U

Universal Copy Service 25

V

- vật tư tiêu hao 6
 - bảo trì thiết bị 14
 - chạy giải trình tự 13
 - hộp dung dịch đệm 9
 - hộp thuốc thử 8
 - nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm 14
 - tế bào dòng chảy 7
 - vật tư tiêu hao cho việc rửa 36
 - vật tư tiêu hao trong quy trình rửa 35
- vật tư tiêu hao do người dùng cung cấp 13-14
- vị trí cụm
 - tạo mẫu 56
 - tệp 59
- vị trí thư mục 23

W

Windows
thoát 41

X

xác suất lỗi 58

Hỗ trợ kỹ thuật

Để được hỗ trợ kỹ thuật, liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.

Trang web: www.illumina.com
Email: techsupport@illumina.com

Các số điện thoại hỗ trợ khách hàng của Illumina

Khu vực	Số miễn cước	Khu vực
Bắc Mỹ	+1.800.809.4566	
Áo	+43 800006249	+43 19286540
Bỉ	+32 80077160	+32 34002973
Đài Loan, Trung Quốc	00806651752	
Đan Mạch	+45 80820183	+45 89871156
Đức	+49 8001014940	+49 8938035677
Hà Lan	+31 8000222493	+31 207132960
Hàn Quốc	+82 80 234 5300	
Hồng Kông, Trung Quốc	800960230	
Ireland	+353 1800936608	+353 016950506
Na Uy	+47 800 16836	+47 21939693
New Zealand	0800.451.650	
Nhật Bản	0800.111.5011	
Pháp	+33 805102193	+33 170770446
Phần Lan	+358 800918363	+358 974790110
Singapore	+1.800.579.2745	
Tây Ban Nha	+34 911899417	+34 800300143
Thụy Điển	+46 850619671	+46 200883979
Thụy Sĩ	+41 565800000	+41 800200442
Trung Quốc	400.066.5835	
Úc	+1.800.775.688	
Vương quốc Anh	+44 8000126019	+44 2073057197
Ý	+39 800985513	+39 236003759
Các quốc gia khác	+44.1799.534000	

Các bảng dữ liệu an toàn (SDS) — Có trên trang web của Illumina tại địa chỉ support.illumina.com/sds.html.

Tài liệu hướng dẫn về sản phẩm — Có thể tải xuống từ support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ngoài khu vực Bắc Mỹ)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Chỉ dùng cho mục đích nghiên cứu. Không dùng trong các quy trình chẩn đoán.

© 2021 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

illumina[®]