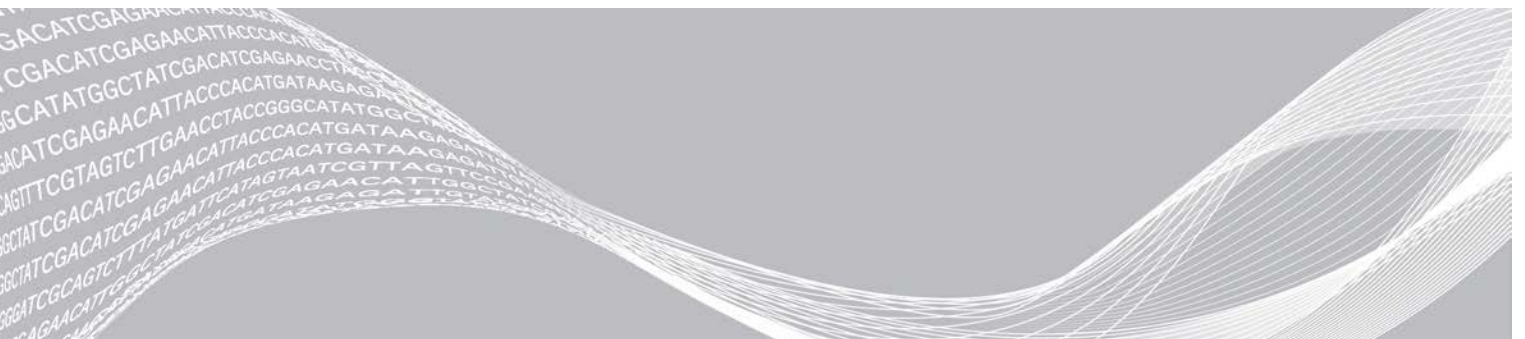


Οδηγός αναφοράς οργάνου NextSeq 550Dx

σε ερευνητική λειτουργία



Το παρόν έγγραφο και τα περιεχόμενά του αποτελούν ιδιοκτησία της Illumina, Inc. και των συνδεδεμένων εταιρειών της («Illumina») και προορίζονται αποκλειστικά για τη συμβατική χρήση του πελάτη της σε συνδυασμό με τη χρήση του(-ων) προϊόντος(-ων) που περιγράφονται στο παρόν έγγραφο και για κανέναν άλλο σκοπό. Απαγορεύεται η χρήση ή η διανομή του παρόντος εγγράφου και των περιεχομένων του για οποιονδήποτε άλλο σκοπό ή/και άλλη κοινοποίηση, αποκάλυψη ή αναπαραγωγή τους με οποιονδήποτε τρόπο χωρίς την πρότερη έγγραφη συναίνεση της Illumina.

Η Illumina δεν μεταβιβάζει διά του παρόντος εγγράφου καμία άδεια δυνάμει διπλώματος ευρεσιτεχνίας, εμπορικού σήματος, πνευματικού δικαιώματος ή κοινού δικαίου τρίτων μερών.

Οι οδηγίες στο παρόν έγγραφο πρέπει να τηρούνται αυστηρά και με ακρίβεια από ειδικευμένο και κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό, προκειμένου να διασφαλιστεί η ορθή και ασφαλής χρήση του(-ων) προϊόντος(-ων) που περιγράφονται στο παρόν. Όλα τα περιεχόμενα του παρόντος εγγράφου πρέπει να αναγνωσθούν και να γίνουν πλήρως κατανοητά πριν από τη χρήση του(-ων) εν λόγω προϊόντος(-ων).

ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΜΗ ΠΛΗΡΟΥΣ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΡΗΣΗΣ ΜΕ ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΟΔΗΓΙΩΝ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΠΑΡΟΝ, ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΡΟΚΛΗΘΕΙ ΖΗΜΙΑ ΣΤΟ(-Α) ΠΡΟΪΟΝ(-ΤΑ), ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΤΟΜΩΝ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΤΩΝ ΧΡΗΣΤΩΝ Ή ΑΛΛΩΝ, ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗ ΥΛΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΚΑΙ ΘΑ ΚΑΤΑΣΤΕΙ ΑΚΥΡΗ Η ΕΓΓΥΗΣΗ ΠΟΥ ΙΣΧΥΕΙ ΓΙΑ ΤΟ(-Α) ΠΡΟΪΟΝ(-ΤΑ).

Η ILLUMINA ΔΕΝ ΑΝΑΛΑΜΒΑΝΕΙ ΚΑΜΙΑ ΕΥΘΥΝΗ ΠΟΥ ΑΠΟΡΡΕΕΙ ΑΠΟ ΕΣΦΑΛΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ(-ΩΝ) ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ(-ΤΩΝ) ΠΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΠΑΡΟΝ [ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΤΩΝ ΕΞΕΡΤΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ(-ΟΥΣ) Ή ΤΟΥ ΛΟΓΙΣΜΙΚΟΥ].

© 2021 Illumina, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Όλα τα σήματα κατατεθέντα είναι ιδιοκτησία της Illumina, Inc. ή των αντίστοιχων κατόχων τους. Για συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με τα σήματα κατατεθέντα, επισκεφτείτε την ηλεκτρονική διεύθυνση www.illumina.com/company/legal.html.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έγγραφο	Ημερομηνία	Περιγραφή αλλαγής
Αρ. εγγράφου 1000000041922 έκδ. 03	Οκτώβριος 2021	Προσθήκη ειδοποίησης σχετικά με το χρονόμετρο 7 ημερών στην ενότητα «Έλεγχοι για εκτελέσεις αλληλούχισης» Ενημέρωση της ροής εργασιών αλληλούχισης με προσθήκη ενότητας για τη δημιουργία εκτέλεσης με τη χρήση του λογισμικού Local Run Manager. Αλλαγή του ορίου σταθερότητας Προσθήκη του Infinium Methylation EPIC στους τύπους BeachChip Ενημέρωση των εικόνων των εικονιδίων ώστε να αντανακλούν τις αλλαγές στη διεπαφή χρήστη.
Αρ. εγγράφου 1000000041922 έκδ. 02	Νοέμβριος 2020	Ενημέρωση εικόνας στην ενότητα «Εκτέλεση μη αυτόματης έκπλυσης» ώστε να αντανακλά τις νέες κασέτες έκπλυσης αντιδραστηρίων και έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων. Ενημέρωση των πληροφοριών στη γραμμή κατάστασης με πρόσθετα χρώματα.
Αρ. εγγράφου 1000000041922 έκδ. 01	Μάρτιος 2018	Προσθήκη πληροφοριών σχετικά με την υπηρεσία προληπτικής παρακολούθησης της Illumina στην ενότητα «Διαμόρφωση ρυθμίσεων συστήματος».
Αρ. εγγράφου 1000000041922 έκδ. 00	Νοέμβριος 2017	Αρχική δημοσίευση.

Πίνακας περιεχομένων

Κεφάλαιο 1 Επισκόπηση	1
Σχετικά με τον παρόντα οδηγό	1
Εισαγωγή	1
Επιπλέον πηγές	2
Εξαρτήματα οργάνου	3
Επισκόπηση kit αντιδραστηρίων	7
Επισκόπηση αναλωσίμων αλληλούχισης	7
Κεφάλαιο 2 Έναρξη χρήσης	11
Εκκίνηση του οργάνου	11
Προσαρμογή ρυθμίσεων συστήματος	12
Αναλώσιμα και εξοπλισμός που παρέχονται από τον χρήστη	13
Κεφάλαιο 3 Αλληλούχιση	15
Εισαγωγή	15
Ροή εργασιών αλληλούχισης	16
Προετοιμασία της κασέτας αντιδραστηρίων	16
Προετοιμασία της κυψελίδας ροής	17
Προετοιμασία βιβλιοθηκών για αλληλούχιση	17
Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης αλληλούχισης	18
Παρακολούθηση της εξέλιξης της εκτέλεσης	26
Αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση	27
Κεφάλαιο 4 Σάρωση	29
Εισαγωγή	29
Ροή εργασιών σάρωσης	30
Λήψη του φακέλου DMAP	30
Φόρτωση του BeadChip στον προσαρμογέα	31
Καθορισμός παραμέτρων σάρωσης	32
Παρακολούθηση της εξέλιξης της σάρωσης	35
Κεφάλαιο 5 Συντήρηση	37
Εισαγωγή	37
Εκτέλεση μη αυτόματης έκπλυσης	37
Αντικατάσταση φίλτρου αέρα	41
Ενημερώσεις λογισμικού	42
Επιλογές επανεκκίνησης και τερματισμού λειτουργίας	44
Παράρτημα Α Αντιμετώπιση προβλημάτων	47
Εισαγωγή	47
Αρχεία αντιμετώπισης προβλημάτων	47
Επίλυση σφαλμάτων αυτόματου ελέγχου	48
Πλήρες δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων	51

Ροή εργασιών εκ νέου υβριδισμού	51
Σφάλματα BeadChip και σάρωσης	53
Προσαρμοσμένες συνταγές και φάκελοι συνταγών	55
Μήνυμα σφάλματος RAID	55
Διαμόρφωση ρυθμίσεων συστήματος	56
Παράρτημα Β Real-Time Analysis	59
Επισκόπηση Real-Time Analysis	59
Ροή εργασιών Real-Time Analysis	60
Παράρτημα C Αρχεία και φάκελοι εξόδου	65
Αρχεία εξόδου αλληλούχισης	65
Δομή φακέλου εξόδου	68
Αρχεία εξόδου σάρωσης	69
Δομή φακέλου εξόδου σάρωσης	69
Ευρετήριο	71
Τεχνική βοήθεια	75

Κεφάλαιο 1 Επισκόπηση

Σχετικά με τον παρόντα οδηγό	1
Εισαγωγή	1
Επιπλέον πηγές	2
Εξαρτήματα οργάνου	3
Επισκόπηση kit αντιδραστηρίων	7
Επισκόπηση αναλωσίμων αλληλούχισης	7

Σχετικά με τον παρόντα οδηγό

Ο παρών οδηγός αναφοράς οργάνου παρέχει οδηγίες σχετικά με τη χρήση του οργάνου NextSeq 550Dx σε ερευνητική (RUO) λειτουργία.

Εισαγωγή

Δυνατότητες αλληλούχισης

- ▶ **Αλληλούχιση υψηλής διεκπεραίωσης** — Το όργανο NextSeq™ 550Dx επιτρέπει την αλληλούχιση βιβλιοθηκών DNA.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** — Πραγματοποιεί επεξεργασία εικόνων και αντιστοίχιση βάσης. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα *Real-Time Analysis* στη σελίδα 59.
- ▶ **Δυνατότητα ανάλυσης δεδομένων εντός του οργάνου** — Οι μονάδες ανάλυσης του λογισμικού Analysis Software που έχουν οριστεί για την εκτέλεση αναλύουν τα δεδομένα της εκτέλεσης.
- ▶ **Διπλή εκκίνηση** — Το όργανο NextSeq 550Dx περιέχει ξεχωριστές μονάδες σκληρού δίσκου που υποστηρίζουν διαγνωστική (Dx) και ερευνητική (RUO) λειτουργία.

Δυνατότητες σάρωσης συστοιχιών

- ▶ **Ενσωματωμένη εφαρμογή σάρωσης συστοιχιών στο λογισμικό ελέγχου** — Το όργανο NextSeq 550Dx σας επιτρέπει να κάνετε εναλλαγή μεταξύ της σάρωσης συστοιχιών και της αλληλούχισης υψηλής διεκπεραίωσης στο ίδιο όργανο χρησιμοποιώντας το ίδιο λογισμικό ελέγχου.
- ▶ **Εκτεταμένη δυνατότητα απεικόνισης** — Το σύστημα απεικόνισης στο όργανο NextSeq 550Dx περιλαμβάνει λογισμικό και τροποποιήσεις βάσης που καθιστούν δυνατή την απεικόνιση μεγαλύτερης επιφάνειας για την πραγματοποίηση σάρωσης BeadChip.
- ▶ **Τύποι BeadChip** — Στους συμβατούς τύπους BeadChip περιλαμβάνονται τα εξής: CytoSNP-12, CytoSNP-850K, Infinium MethylationEPIC και Karyomap-12.
- ▶ **Προσαρμογέας BeadChip** — Ένας επαναχρησιμοποιήσιμος προσαρμογέας BeadChip καθιστά δυνατή την εύκολη φόρτωση ενός BeadChip στο όργανο.
- ▶ **Ανάλυση δεδομένων** — Χρησιμοποιήστε το λογισμικό BlueFuse® Multi για να αναλύσετε δεδομένα συστοιχιών.

Επιπλέον πηγές

Ανατρέξτε στον δικτυακό τόπο της Illumina για να κατεβάσετε τα παρακάτω έγγραφα.

Πηγή	Περιγραφή
<i>Οδηγός προετοιμασίας εργαστηρίου για το όργανο NextSeq 550Dx (αρ. εγγράφου 100000009869)</i>	Παρέχει τις προδιαγραφές για τον χώρο του εργαστηρίου, τις απαιτήσεις παροχής ρεύματος και περιλαμβάνει ζητήματα που αφορούν το περιβάλλον.
<i>Οδηγός ασφάλειας και συμμόρφωσης οργάνου NextSeq 550Dx (αρ. εγγράφου 100000009868)</i>	Παρέχει πληροφορίες σχετικά με ζητήματα λειτουργικής ασφάλειας, δηλώσεις συμμόρφωσης και την επισήμανση του οργάνου.
<i>Οδηγός συμμόρφωσης της συσκευής ανάγνωσης RFID (αρ. εγγράφου 1000000030332)</i>	Παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη συσκευή ανάγνωσης RFID του οργάνου, τα πιστοποιητικά συμμόρφωσης και τα ζητήματα ασφάλειας.
<i>Οδηγός αναφοράς οργάνου NextSeq 550Dx σε ερευνητική λειτουργία (αρ. εγγράφου 1000000041922)</i>	Παρέχει οδηγίες για τη λειτουργία του οργάνου, καθώς και για τις διαδικασίες αντιμετώπισης προβλημάτων. Για χρήση κατά τη λειτουργία του οργάνου NextSeq 550Dx σε ερευνητική λειτουργία με λογισμικό ελέγχου NextSeq (NCS) v3.0.
<i>Οδηγός συστήματος NextSeq 550 (αρ. εγγράφου 15069765)</i>	Παρέχει οδηγίες για τη λειτουργία του οργάνου, καθώς και για τις διαδικασίες αντιμετώπισης προβλημάτων. Για χρήση κατά τη λειτουργία του οργάνου NextSeq 550Dx σε ερευνητική λειτουργία με λογισμικό ελέγχου NextSeq (NCS) v4.0 ή μεταγενέστερης έκδοσης.
<i>Οδηγός συστήματος NextSeq 550</i>	Παρέχει μια επισκόπηση των εξαρτημάτων του οργάνου, οδηγίες για τη λειτουργία του οργάνου καθώς και τις διαδικασίες συντήρησης και αντιμετώπισης προβλημάτων.
<i>Βοήθεια BaseSpace</i>	Παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη χρήση του BaseSpace™ Sequence Hub και τις διαθέσιμες επιλογές ανάλυσης.

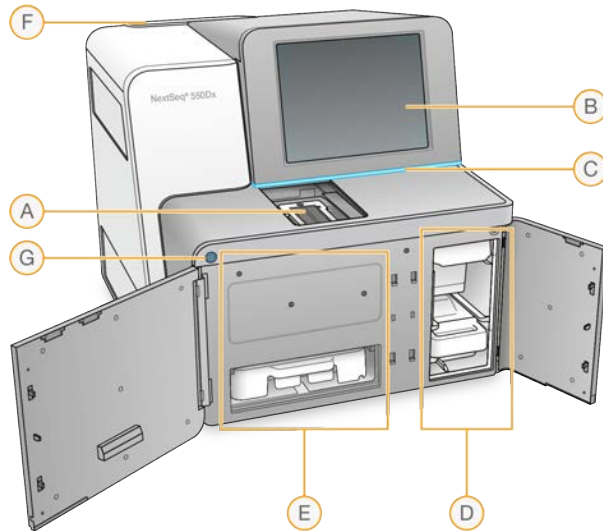
Επισκεφτείτε τη [σελίδα υποστήριξης του οργάνου NextSeq 550Dx](#) στον δικτυακό τόπο της Illumina για να αποκτήσετε πρόσβαση στην τεκμηρίωση, τη λήψη λογισμικού, την ηλεκτρονική εκπαίδευση και για να βρείτε απαντήσεις σε συχνά ερωτήματα.

Επισκεφτείτε τις [σελίδες υποστήριξης του NextSeq 550Dx](#) στον δικτυακό τόπο της Illumina για να αποκτήσετε πρόσβαση στην τεκμηρίωση, τη λήψη λογισμικού, την ηλεκτρονική εκπαίδευση και για να βρείτε απαντήσεις σε συχνά ερωτήματα.

Εξαρτήματα οργάνου

Το όργανο NextSeq 550Dx περιλαμβάνει μια οθόνη αφής, μια γραμμή κατάστασης και 4 διαμερίσματα.

Εικόνα 1 Εξαρτήματα οργάνου



- A **Διαμέρισμα απεικόνισης** — Περιέχει την κυψελίδα ροής κατά τη διάρκεια μιας εκτέλεσης αλληλούχισης.
- B **Οθόνη αφής** — Επιτρέπει τη διαμόρφωση και τη ρύθμιση εντός του οργάνου μέσω της διεπαφής του λογισμικού λειτουργίας.
- C **Γραμμή κατάστασης** — Υποδεικνύει την κατάσταση του οργάνου: διαδικασία σε εξέλιξη (μπλε), απαιτείται προσοχή (πορτοκαλί), έτοιμο για αλληλούχιση (πράσινο), αρχικοποίηση σε εξέλιξη (εναλλαγή μπλε και λευκού), δεν έχει γίνει ακόμα αρχικοποίηση (λευκό) ή απαιτείται έκπλυση εντός των επόμενων 24 ωρών (κίτρινο).
- D **Διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων** — Περιέχει την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων και το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων.
- E **Διαμέρισμα αντιδραστηρίων** — Περιέχει την κασέτα αντιδραστηρίων.
- F **Διαμέρισμα φίλτρου αέρα** — Περιέχει το φίλτρο αέρα. Η πρόσβαση στο φίλτρο γίνεται από την πίσω πλευρά του οργάνου.
- G **Κουμπί τροφοδοσίας** — Ενεργοποιεί ή απενεργοποιεί το όργανο και τον υπολογιστή του οργάνου.

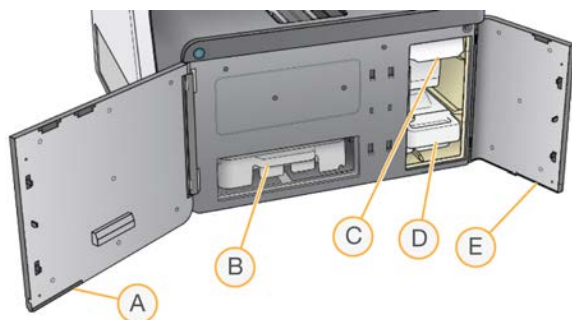
Διαμέρισμα απεικόνισης

Το διαμέρισμα απεικόνισης στεγάζει τη βάση, η οποία περιλαμβάνει τρεις πύρους ευθυγράμμισης για την τοποθέτηση της κυψελίδας ροής. Μετά τη φόρτωση της κυψελίδας ροής, η θύρα του διαμερίσματος απεικόνισης κλείνει αυτόματα και μετακινεί τα εξαρτήματα στη θέση τους.

Διαμερίσματα αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων

Η ρύθμιση παραμέτρων μιας εκτέλεσης αλληλούχισης στο όργανο NextSeq 550Dx απαιτεί πρόσβαση στο διαμέρισμα αντιδραστηρίων και στο διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων για τη φόρτωση των αναλωσίμων εκτέλεσης και το άδειασμα του δοχείου χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων.

Εικόνα 2 Διαμερίσματα αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων



- A **Θύρα διαμερίσματος αντιδραστηρίων** – Κλείνει το διαμέρισμα αντιδραστηρίων με ένα μάνταλο που βρίσκεται κάτω από την περιοχή της θύρας κάτω δεξιά. Το διαμέρισμα αντιδραστηρίων περιέχει την κασέτα αντιδραστηρίων.
- B **Κασέτα αντιδραστηρίων** — Η κασέτα αντιδραστηρίων είναι ένα προπληρωμένο αναλώσιμο μίας χρήσης.
- C **Κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων** — Η κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων είναι ένα προπληρωμένο αναλώσιμο μίας χρήσης.
- D **Δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων** — Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια συλλέγονται για απόρριψη μετά από κάθε εκτέλεση.
- E **Θύρα διαμερίσματος ρυθμιστικών διαλυμάτων** — Κλείνει το διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων με ένα μάνταλο που βρίσκεται κάτω από τη γωνία της θύρας κάτω αριστερά.

Διαμέρισμα φίλτρου αέρα

Το διαμέρισμα φίλτρου αέρα περιέχει το φίλτρο αέρα και βρίσκεται στο πίσω μέρος του οργάνου. Αντικαθιστάτε το φίλτρο αέρα κάθε 90 ημέρες. Για πληροφορίες σχετικά με την αντικατάσταση του φίλτρου, δείτε την ενότητα [Αντικατάσταση φίλτρου αέρα στη σελίδα 41](#).






Λογισμικό NextSeq 550Dx

Το λογισμικό του οργάνου περιλαμβάνει ενσωματωμένες εφαρμογές που πραγματοποιούν εκτελέσεις αλληλούχισης.

- ▶ **Λογισμικό ελέγχου NextSeq (NCS)** — Το λογισμικό ελέγχου σας καθοδηγεί στα βήματα για τον καθορισμό των παραμέτρων μιας εκτέλεσης αλληλούχισης.
- ▶ **Λογισμικό Real-Time Analysis (RTA)** — Η RTA πραγματοποιεί ανάλυση εικόνων και αντιστοίχιση βάσης κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης. Το όργανο NextSeq 550Dx χρησιμοποιεί την έκδ. 2 του RTA, η οποία περιλαμβάνει σημαντικές διαφορές ως προς την αρχιτεκτονική και τις δυνατότητες από τις προηγούμενες εκδόσεις. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα [Real-Time Analysis στη σελίδα 59](#).

Εικονίδια κατάστασης

Ένα εικονίδιο κατάστασης στην επάνω δεξιά γωνία του NCS επισημαίνει τυχόν αλλαγές κατάστασης κατά τον καθορισμό παραμέτρων της εκτέλεσης ή κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.

Εικονίδιο κατάστασης	Όνομα κατάστασης	Περιγραφή
	Κατάσταση OK	Το σύστημα λειτουργεί φυσιολογικά.
	Επεξεργασία σε εξέλιξη	Το σύστημα εκτελεί ενέργειες επεξεργασίας.
	Προειδοποίηση	Παρουσιάστηκε κάποια προειδοποίηση. Οι προειδοποιήσεις δεν σταματούν την εκτέλεση ούτε απαιτείται κάποια ενέργεια μετά την εμφάνισή τους.
	Σφάλμα	Παρουσιάστηκε κάποιο σφάλμα. Τα σφάλματα απαιτούν ενέργεια πριν από τη συνέχιση μιας εκτέλεσης.
	Απαιτείται σέρβις	Παρουσιάστηκε μια ειδοποίηση που απαιτεί την προσοχή του χρήστη. Ανατρέξτε στο μήνυμα για περισσότερες πληροφορίες.

Σε περίπτωση αλλαγής κατάστασης, το εικονίδιο αναβοσβήνει για να σας προειδοποιήσει για την αλλαγή. Επιλέξτε το εικονίδιο για να δείτε μια περιγραφή της κατάστασης. Επιλέξτε **Acknowledge** (Επιβεβαίωση) για να αποδεχτείτε το μήνυμα και **Close** (Κλείσιμο) για να κλείσετε το πλαίσιο διαλόγου.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ

Η επιβεβαίωση ενός μηνύματος επαναφέρει το εικονίδιο και το μήνυμα καθίσταται ανενεργό. Το μήνυμα εξακολουθεί να είναι ορατό στον χρήστη αν ο τελευταίος επιλέξει το εικονίδιο, αλλά εξαφανίζεται με την επανεκκίνηση του NCS.

Κουμπί τροφοδοσίας

Το κουμπί τροφοδοσίας στο μπροστινό μέρος του NextSeq 550Dx ενεργοποιεί την τροφοδοσία προς το όργανο και τον υπολογιστή του οργάνου. Το κουμπί τροφοδοσίας εκτελεί τις παρακάτω ενέργειες, ανάλογα με την κατάσταση της τροφοδοσίας του οργάνου. Από προεπιλογή, το NextSeq 550Dx εκκινείται σε διαγνωστική λειτουργία.

Για πληροφορίες σχετικά με την αρχική ενεργοποίηση του οργάνου, δείτε την ενότητα *Εκκίνηση του οργάνου στη σελίδα 11*.

Για πληροφορίες σχετικά με τον τερματισμό της λειτουργίας του οργάνου, δείτε την ενότητα *Τερματισμός λειτουργίας του οργάνου στη σελίδα 44*.

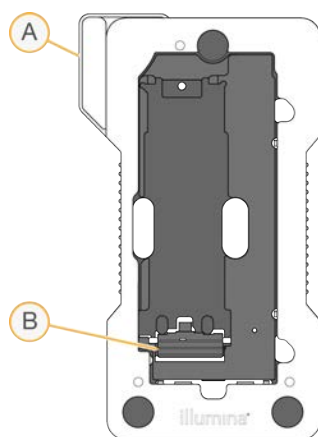
Κατάσταση τροφοδοσίας	Ενέργεια
Το όργανο είναι απενεργοποιημένο	Πατήστε το κουμπί για να ενεργοποιήσετε την τροφοδοσία.
Το όργανο είναι ενεργοποιημένο	Πατήστε το κουμπί για να απενεργοποιήσετε την τροφοδοσία. Εμφανίζεται ένα πλαίσιο διαλόγου στην οθόνη για να επιβεβαιώσετε τον τερματισμό της λειτουργίας του οργάνου.
Το όργανο είναι ενεργοποιημένο	Πατήστε παρατεταμένα το κουμπί για 10 δευτερόλεπτα για επιβεβλημένο τερματισμό της λειτουργίας του οργάνου και του υπολογιστή του οργάνου. Χρησιμοποιήστε αυτήν τη μέθοδο για να απενεργοποιήσετε το όργανο μόνο αν δεν ανταποκρίνεται.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Η απενεργοποίηση του οργάνου κατά τη διάρκεια μιας εκτέλεσης αλληλούχησης τερματίζει αμέσως την εκτέλεση. Ο τερματισμός μιας εκτέλεσης είναι οριστικός. Τα αναλώσιμα της εκτέλεσης δεν μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν και τα δεδομένα της αλληλούχησης από την εκτέλεση δεν αποθηκεύονται.

Επισκόπηση του επαναχρησιμοποιήσιμου προσαρμογέα BeadChip

Ο επαναχρησιμοποιήσιμος προσαρμογέας BeadChip περιέχει το BeadChip κατά τη διάρκεια της σάρωσης. Το BeadChip είναι ασφαλισμένο στο ράφι σε εσοχή του προσαρμογέα με το κλιπ συγκράτησης. Στη συνέχεια, ο προσαρμογέας BeadChip φορτώνεται πάνω στη βάση στο διαμέρισμα απεικόνισης.

Εικόνα 3 Επαναχρησιμοποιήσιμος προσαρμογέας BeadChip



- A Προσαρμογέας BeadChip
- B Κλιπ συγκράτησης

Επισκόπηση κιτ αντιδραστηρίων

Επισκόπηση αναλωσίμων αλληλούχισης

Τα αναλώσιμα αλληλούχισης που απαιτούνται για την εκτέλεση του NextSeq 550Dx παρέχονται ξεχωριστά σε ένα κιτ μίας χρήσης. Κάθε κιτ περιλαμβάνει μία κυψελίδα ροής, μια κασέτα αντιδραστηρίου, μια κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων και ένα ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης βιβλιοθηκών. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας του *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 κύκλοι)*, του *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 κύκλοι)* ή του *NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 κύκλοι)*.

Η κυψελίδα ροής, η κασέτα αντιδραστηρίων και η κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων χρησιμοποιούν τεχνολογία ραδιοσυχνικής αναγνώρισης (RFID) για ακρίβεια στην παρακολούθηση των αναλωσίμων και για λόγους συμβατότητας.

ΠΡΟΣΟΧΗ

Τα κιτ NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 απαιτούν NOS 1.3 ή μεταγενέστερης έκδοσης ώστε το όργανο να δεχτεί την κασέτα κυψελίδας ροής v2.5. Ολοκληρώνετε τις ενημερώσεις λογισμικού πριν από την προετοιμασία των δειγμάτων και των αναλωσίμων ώστε να αποφεύγεται η σπατάλη αντιδραστηρίων ή/και δειγμάτων.



ΣΗΜΕΙΩΣΗ

Φυλάσσετε τα αναλώσιμα αλληλούχισης στα κιβώτιά τους μέχρι να είναι έτοιμα για χρήση.

Επισήμανση συμβατότητας κιτ

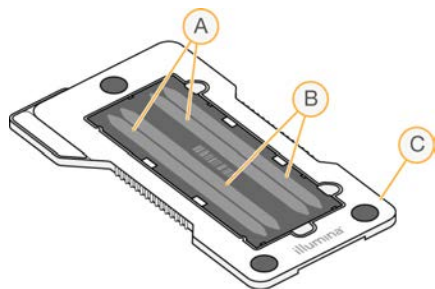
Τα εξαρτήματα του κιτ επισημαίνονται με ενδείξεις με χρωματική κωδικοποίηση ώστε να υποδεικνύεται η συμβατότητα μεταξύ των κυψελίδων ροής και των κασετών αντιδραστηρίων. Χρησιμοποιείτε πάντα συμβατή κασέτα αντιδραστηρίων και κυψελίδα ροής. Η κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων είναι γενικής χρήσης.

Κάθε κυψελίδα ροής και κασέτα αντιδραστηρίων επισημαίνεται με την ένδειξη **High** (Υψηλή) ή **Mid** (Μεσαία). Ελέγχετε πάντα την ετικέτα κατά την προετοιμασία των αναλωσίμων για μια εκτέλεση.

Τύπος κιτ	Σήμανση στην ετικέτα
Εξαρτήματα κιτ υψηλής απόδοσης	
Εξαρτήματα κιτ μεσαίας απόδοσης	

Επισκόπηση κυψελίδας ροής

Εικόνα 4 Κασέτα κυψελίδας ροής



- A Ζεύγος λωρίδων A — Λωρίδες 1 και 3
- B Ζεύγος λωρίδων B — Λωρίδες 2 και 4
- C Πλαίσιο κασέτας κυψελίδας ροής

Η κυψελίδα ροής είναι ένα υπόστρωμα με βάση το γυαλί επάνω στο οποίο δημιουργούνται συστάδες και εκτελείται η αντίδραση της αλληλούχισης. Η κυψελίδα ροής βρίσκεται μέσα σε μια κασέτα κυψελίδας ροής.

Η κυψελίδα ροής περιέχει 4 λωρίδες που απεικονίζονται σε ζεύγη.

- ▶ Οι λωρίδες 1 και 3 (ζεύγος λωρίδων A) απεικονίζονται ταυτόχρονα.
- ▶ Οι λωρίδες 2 και 4 (ζεύγος λωρίδων B) απεικονίζονται όταν ολοκληρωθεί η απεικόνιση του ζεύγους λωρίδων A.

Αν και η κυψελίδα ροής έχει 4 λωρίδες, μόνο μία βιβλιοθήκη ή ένα σύνολο ομαδοποιημένων βιβλιοθηκών αλληλουχείται στην κυψελίδα ροής. Οι βιβλιοθήκες φορτώνονται στην κασέτα αντιδραστήριων από μία δεξαμενή και μεταφέρονται αυτόματα στην κυψελίδα ροής και στις 4 λωρίδες.

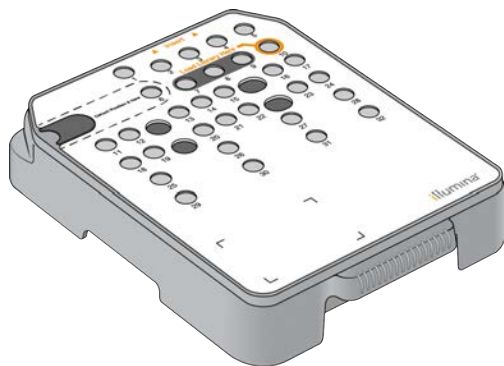
Κάθε λωρίδα απεικονίζεται σε μικρές περιοχές απεικόνισης που ονομάζονται «πλακίδια».

Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα [Πλακίδια κυψελίδας ροής στη σελίδα 65](#).

Επισκόπηση κασέτας αντιδραστήριων

Η κασέτα αντιδραστήριων είναι ένα αναλώσιμο μίας χρήσης με παρακολούθηση RFID και δεξαμενές στεγανοποιημένες με αλουμίνιο οι οποίες είναι προπληρωμένες με αντιδραστήρια δημιουργίας συστάδων και αλληλούχισης.

Εικόνα 5 Κασέτα αντιδραστήριων



Η κασέτα αντιδραστηρίων περιλαμβάνει μια αποκλειστική δεξαμενή για τη φόρτωση των προετοιμασμένων βιβλιοθηκών. Μετά την έναρξη της εκτέλεσης, οι βιβλιοθήκες μεταφέρονται αυτόματα από τη δεξαμενή στην κυψελίδα ροής.

Διάφορες δεξαμενές χρησιμοποιούνται αποκλειστικά για την αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση. Το διάλυμα έκπλυσης αντλείται από την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων στις ειδικές δεξαμενές, μέσω του συστήματος, και, στη συνέχεια, προς το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων.

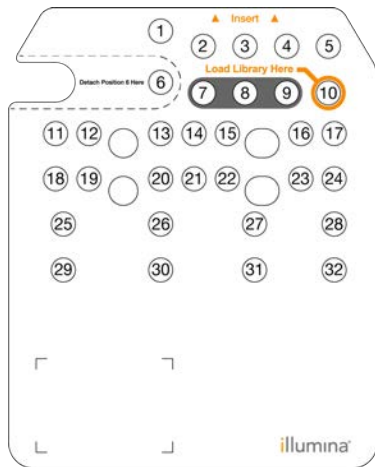


ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Το συγκεκριμένο σετ αντιδραστηρίων περιέχει δυνητικά επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η εισπνοή, η κατάποση και η επαφή με το δέρμα ή τα μάτια μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό. Φοράτε προστατευτικό εξοπλισμό, συμπεριλαμβανομένου εξοπλισμού προστασίας για τα μάτια, γάντια και εργαστηριακά ποδιά, κατάλληλο για τον κίνδυνο έκθεσης. Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως χημικά απόβλητα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες περιφερειακούς, εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το περιβάλλον, την υγεία και την ασφάλεια, ανατρέξτε στο SDS, στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

Ειδικές δεξαμενές

Εικόνα 6 Αριθμημένες δεξαμενές



Θέση	Περιγραφή
7, 8 και 9	Χρήση αποκλειστικά για προαιρετικούς προσαρμοσμένους εκκινητές
10	Φόρτωση βιβλιοθηκών

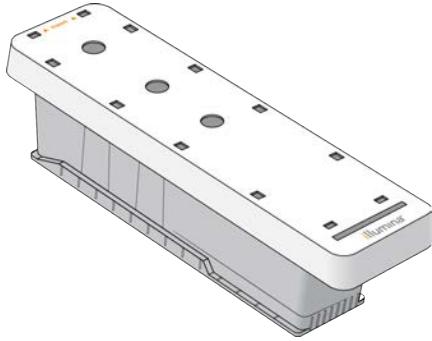
Αφαιρούμενη δεξαμενή στη θέση αρ. 6

Η προπληρωμένη κασέτα αντιδραστηρίων περιλαμβάνει ένα αντιδραστήριο αποδιάταξης στη θέση 6 που περιέχει φορμαμίδιο. Για τη διευκόλυνση της ασφαλούς απόρριψης των μη χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων μετά την εκτέλεση αλληλούχισης, η δεξαμενή στη θέση 6 είναι αφαιρούμενη. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα *Αφαίρεση χρησιμοποιημένης δεξαμενής από τη θέση αρ. 6* στη σελίδα 23.

Επισκόπηση κασέτας ρυθμιστικών διαλυμάτων

Η κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων είναι ένα αναλώσιμο μίας χρήσης που περιέχει τρεις δεξαμενές, οι οποίες είναι προπληρωμένες με ρυθμιστικά διαλύματα και διάλυμα έκπλυσης. Τα περιεχόμενα της κασέτας ρυθμιστικών διαλυμάτων επαρκούν για την αλληλούχιση μίας κυψελίδας ροής.

Εικόνα 7 Κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων



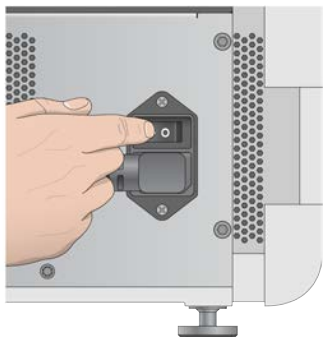
Κεφάλαιο 2 Έναρξη χρήσης

Εκκίνηση του οργάνου	11
Προσαρμογή ρυθμίσεων συστήματος	12
Αναλώσιμα και εξοπλισμός που παρέχονται από τον χρήστη	13

Εκκίνηση του οργάνου

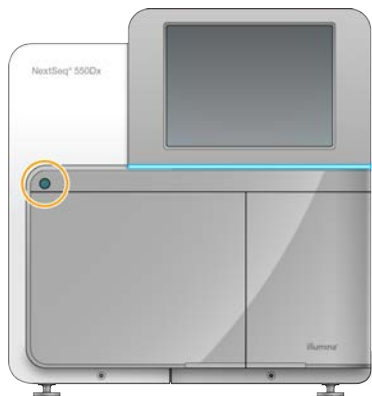
Ενεργοποιήστε τον διακόπτη τροφοδοσίας στη θέση I (ενεργοποίηση).

Εικόνα 8 Διακόπτης τροφοδοσίας που βρίσκεται στην πίσω πλευρά του οργάνου



- 1 Πατήστε το κουμπί τροφοδοσίας πάνω από το διαμέρισμα αντιδραστηρίων. Το κουμπί τροφοδοσίας ενεργοποιεί την τροφοδοσία του οργάνου και εκκινεί τον ενσωματωμένο υπολογιστή του οργάνου και το λογισμικό.

Εικόνα 9 Κουμπί τροφοδοσίας που βρίσκεται στη μπροστινή πλευρά του οργάνου



- 2 Περιμένετε μέχρι να ολοκληρωθεί η φόρτωση του λειτουργικού συστήματος. Το λογισμικό ελέγχου NextSeq (NCS) εκκινείται και προετοιμάζει αυτόματα το σύστημα. Μετά την ολοκλήρωση του βήματος αρχικοποίησης, ανοίγει η αρχική οθόνη.
- 3 Εισαγάγετε το όνομα χρήστη και τον κωδικό πρόσβασής σας στο Local Run Manager. Για πληροφορίες σχετικά με τους κωδικούς πρόσβασης, δείτε την ενότητα *Κωδικοί πρόσβασης χρήστη στη σελίδα 1*. Για πληροφορίες σχετικά με τη ρύθμιση ενός λογαριασμού στο Local Run Manager, δείτε την ενότητα *Διαχειριστικές ρυθμίσεις και εργασίες στη σελίδα 1*.
- 4 Επιλέξτε **Login** (Σύνδεση).
Ανοίγει η αρχική οθόνη με τα εικονίδια Αλληλουχίας, Local Run Manager, Διαχείρισης οργάνου και Εκτέλεσης έκπλυσης.

Ενδείξεις λειτουργίας οργάνου

Η προεπιλεγμένη λειτουργία του NextSeq 550Dx είναι η διαγνωστική λειτουργία. Τα παρακάτω στην οθόνη του NCS υποδεικνύουν τη λειτουργία του οργάνου.

Λειτουργία	Αρχική οθόνη	Χρώμα γραμμής	Προσανατολισμός εικονιδίου κατάστασης
Διαγνωστική λειτουργία	Καλωσορίσατε στο NextSeqDx	Μπλε	Οριζόντιος
Ερευνητική λειτουργία	Καλωσορίσατε στο NextSeq	Πορτοκαλί	Κατακόρυφος

Προσαρμογή ρυθμίσεων συστήματος

Το λογισμικό λειτουργίας περιλαμβάνει προσαρμόσιμες ρυθμίσεις συστήματος για τα αναγνωριστικά στοιχεία του οργάνου, τις προτιμήσεις εισόδου, τις ρυθμίσεις ήχου και τη θέση του φακέλου εξόδου. Για να αλλάξετε τις ρυθμίσεις διαμόρφωσης δικτύου, δείτε την ενότητα [Διαμόρφωση ρυθμίσεων συστήματος στη σελίδα 56](#).

Ρυθμίσεις προσαρμογής:

- ▶ Προσαρμογή αναγνωριστικών στοιχείων οργάνου (άβαταρ και ψευδώνυμο)
- ▶ Ρύθμιση επιλογής εισόδου και ηχητικής ένδειξης
- ▶ Ρύθμιση επιλογών καθορισμού παραμέτρων εκτέλεσης
- ▶ Επιλογές τερματισμού λειτουργίας
- ▶ Διαμόρφωση έναρξης οργάνου μετά από τον έλεγχο πριν από την εκτέλεση
- ▶ Επιλογή της αποστολής των δεδομένων απόδοσης του οργάνου στην Illumina
- ▶ Καθορισμός φακέλου εξόδου εκτέλεσης

Προσαρμογή του άβαταρ και του ψευδωνύμου του οργάνου

- 1 Από την αρχική οθόνη, επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
- 2 Επιλέξτε **System Customization** (Προσαρμογή συστήματος).
- 3 Για να αντιστοιχίσετε μια προτιμώμενη εικόνα για το όργανό σας, επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε στην εικόνα.
- 4 Στο πεδίο Nickname (Ψευδώνυμο) εισαγάγετε το επιθυμητό όνομα για το όργανο.
- 5 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) για να αποθηκεύσετε τις ρυθμίσεις και να εξέλθετε από την οθόνη. Η εικόνα και το όνομα εμφανίζονται στην επάνω αριστερή γωνία κάθε οθόνης.

Ρύθμιση επιλογής πληκτρολογίου και ηχητικής ένδειξης

- 1 Από την αρχική οθόνη, επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
- 2 Επιλέξτε **System Customization** (Προσαρμογή συστήματος).
- 3 Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Use on-screen keyboard** (Χρήση πληκτρολογίου οθόνης) για να ενεργοποιήσετε το πληκτρολόγιο οθόνης για την εισαγωγή δεδομένων στο όργανο.
- 4 Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Play audio** (Αναπαραγωγή ήχου) για να ενεργοποιήσετε τις ηχητικές ενδείξεις για τα παρακάτω συμβάντα.
 - ▶ Κατά την αρχικοποίηση του οργάνου
 - ▶ Κατά την έναρξη μιας εκτέλεσης

- ▶ Κατά την εμφάνιση ορισμένων σφαλμάτων
- ▶ Όταν απαιτείται ενέργεια του χρήστη
- ▶ Κατά την ολοκλήρωση μιας εκτέλεσης

5 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) για να αποθηκεύσετε τις ρυθμίσεις και να εξέλθετε από την οθόνη.

Ρύθμιση επιλογών καθορισμού παραμέτρων εκτέλεσης

- 1 Από την οθόνη «Manage Instrument» (Διαχείριση οργάνου), επιλέξτε **System Customization** (Προσαρμογή συστήματος).
- 2 Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Use Advanced Load Consumables** (Χρήση φόρτωσης αναλωσίμων για προχωρημένους) για να ενεργοποιήσετε την επιλογή φόρτωσης όλων των αναλωσίμων από μία μόνο οθόνη.
- 3 Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Skip Pre-Run Check Confirmation** (Παράβλεψη επιβεβαίωσης ελέγχου πριν από την εκτέλεση) για την αυτόματη έναρξη της αλληλούχισης μετά από επιτυχή αυτόματο έλεγχο.
- 4 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) για να αποθηκεύσετε τις ρυθμίσεις και να εξέλθετε από την οθόνη.

Ρύθμιση επιλογής αυτόματης εκκαθάρισης

- 1 Από την οθόνη «Manage Instrument» (Διαχείριση οργάνου), επιλέξτε **System Customization** (Προσαρμογή συστήματος).
- 2 Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Purge Consumables at End of Run** (Εκκαθάριση αναλωσίμων στο τέλος της εκτέλεσης) ώστε να γίνεται αυτόματα εκκαθάριση των μη χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων από την κασέτα αντιδραστηρίων στο δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων μετά από κάθε εκτέλεση.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Με την εκκαθάριση αναλωσίμων προστίθεται αυτόματα επιπλέον χρόνος στη ροή εργασιών.

- 3 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) για να αποθηκεύσετε τις ρυθμίσεις και να εξέλθετε από την οθόνη.

Αναλώσιμα και εξοπλισμός που παρέχονται από τον χρήστη

Με το σύστημα αλληλούχισης NextSeq 550Dx χρησιμοποιούνται τα αναλώσιμα και ο εξοπλισμός που αναφέρονται παρακάτω. Τα παρακάτω αναλώσιμα και ο εξοπλισμός χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία αναλωσίμων, την αλληλούχιση και τη συντήρηση του οργάνου. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στον *Οδηγό συστήματος NextSeq 550*.

Αναλώσιμα για αλληλούχιση

Αναλώσιμο	Προμηθευτής	Σκοπός
Μαντηλάκια ισοπροπυλικής αλκοόλης, 70% ή Αιθανόλη, 70%	VWR, αρ. καταλόγου 95041-714 (ή αντίστοιχος) Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Καθαρισμός κυψελίδας ροής και γενική χρήση
Πανάκια εργαστηρίου, που δεν αφήνουν χνουδί	VWR, αρ. καταλόγου 21905-026 (ή αντίστοιχος)	Καθαρισμός κυψελίδας ροής και γενική χρήση

Αναλώσιμα για συντήρηση και αντιμετώπιση προβλημάτων

Αναλώσιμο	Προμηθευτής	Σκοπός
NaOCl, 5% (υποχλωριώδες νάτριο)	Sigma-Aldrich, αρ. καταλόγου 239305 (ή ισοδύναμο εργαστηριακής ποιότητας)	Έκπλυση του οργάνου μέσω της λειτουργίας μη αυτόματης έκπλυσης μετά την εκτέλεση, αραίωση στο 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, αρ. καταλόγου P7949	Έκπλυση του οργάνου μέσω των επιλογών μη αυτόματης έκπλυσης, αραίωση στο 0,05%
Νερό, εργαστηριακής ποιότητας	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου	Έκπλυση του οργάνου (μη αυτόματη έκπλυση)
Φίλτρο αέρα	Illumina, αρ. καταλόγου 20022240	Καθαρισμός του αέρα που εισάγεται στο όργανο για ψύξη

Κατευθυντήριες γραμμές για το νερό εργαστηριακής ποιότητας

Χρησιμοποιείτε πάντα νερό εργαστηριακής ποιότητας ή αποιονισμένο νερό για την εκτέλεση των εργαστηριακών διαδικασιών. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ νερό βρύσης. Χρησιμοποιείτε νερό ή ισοδύναμο μόνο με τις ακόλουθες προδιαγραφές:

- ▶ Αποιονισμένο νερό
- ▶ Illumina PW1
- ▶ Νερό 18 Megohms (MΩ)
- ▶ Νερό Milli-Q
- ▶ Νερό Super-Q
- ▶ Νερό ποιότητας μοριακής βιολογίας

Εξοπλισμός

Αντικείμενο	Προέλευση
Καταψύκτης, -25 °C έως -15 °C, με τεχνολογία χωρίς πάγο (frost-free)	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου
Ψυγείο, 2 °C έως 8 °C	Γενικός προμηθευτής εργαστηρίου

Κεφάλαιο 3 Αλληλούχιση

Εισαγωγή	15
Ροή εργασιών αλληλούχισης	16
Προετοιμασία της κασέτας αντιδραστηρίων	16
Προετοιμασία της κυψελίδας ροής	17
Προετοιμασία βιβλιοθηκών για αλληλούχιση	17
Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης αλληλούχισης	18
Παρακολούθηση της εξέλιξης της εκτέλεσης	26
Αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση	27

Εισαγωγή

Για τη διενέργεια μιας εκτέλεσης αλληλούχισης στο όργανο NextSeq 550Dx, ετοιμάστε μια κασέτα αντιδραστηρίων και μια κυψελίδα ροής και, στη συνέχεια, ακολουθήστε τα μηνύματα του λογισμικού για τον καθορισμό των παραμέτρων και την εκκίνηση της εκτέλεσης. Η δημιουργία των συστάδων και η αλληλούχιση εκτελούνται στο όργανο. Μετά την εκτέλεση, ξεκινά αυτόματα μια έκπλυση στο όργανο με εξαρτήματα που έχουν ήδη φορτωθεί στο όργανο.

Δημιουργία συστάδων

Κατά τη διάρκεια της δημιουργίας συστάδων, μεμονωμένα μόρια DNA δεσμεύονται στην επιφάνεια της κυψελίδας ροής και, στη συνέχεια, ενισχύονται με σκοπό να σχηματιστούν συστάδες.

Αλληλούχιση

Οι συστάδες απεικονίζονται μέσω χημικής αλληλούχισης δύο καναλιών και μέσω συνδυασμών φίλτρων που είναι συγκεκριμένοι για κάθε νουκλεοτίδιο επσημασμένο μέσω φθορισμού. Όταν ολοκληρωθεί η απεικόνιση ενός πλακιδίου στην κυψελίδα ροής, απεικονίζεται το επόμενο πλακίδιο. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για κάθε κύκλο αλληλούχισης. Μετά την ανάλυση εικόνων, το λογισμικό πραγματοποιεί αντιστοίχιση βάσης, φιλτράρισμα και βαθμολόγηση ποιότητας.

Ανάλυση

Καθώς εξελίσσεται η εκτέλεση, το λειτουργικό λογισμικό μεταφέρει αυτόματα τα αρχεία αντιστοίχισης βάσης (BCL) στην καθορισμένη θέση εξόδου για δευτερεύουσα ανάλυση.

Διάρκεια εκτέλεσης αλληλούχισης

Η διάρκεια της εκτέλεσης αλληλούχισης εξαρτάται από τον αριθμό των κύκλων που εκτελούνται. Η μέγιστη διάρκεια της εκτέλεσης είναι μια εκτέλεση συζευγμένων άκρων με 150 κύκλους σε κάθε ανάγνωση (2 x 150), συν έως και 8 κύκλους για κάθε 2 αναγνώσεις ευρετηρίου.

Αριθμός κύκλων σε μια ανάγνωση

Σε μια εκτέλεση αλληλούχισης, ο αριθμός των κύκλων που εκτελούνται σε μια ανάγνωση είναι 1 κύκλος παραπάνω από τον αριθμό των κύκλων της ανάλυσης. Για παράδειγμα, μια εκτέλεση συζευγμένων άκρων με 150 κύκλους συνεπάγεται αναγνώσεις 151 κύκλων (2 x 151) για σύνολο 302 κύκλων. Στο τέλος της εκτέλεσης, αναλύονται 2 x 150 κύκλοι. Ο επιπλέον κύκλος απαιτείται για τους υπολογισμούς στα στάδια του phasing (καθυστέρηση βάσης) και του prephasing (προχώρηση βάσης).

Ροή εργασιών αλληλούχισης

Δημιουργία εκτέλεσης



Δημιουργήστε μια εκτέλεση στη μονάδα λογισμικού του Local Run Manager. Ανατρέξτε στον οδηγό ροής εργασιών της ανάλυσης για τη συγκεκριμένη μονάδα που χρησιμοποιείτε.



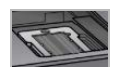
Προετοιμάστε μια νέα κασέτα αντιδραστηρίων: αποψύξτε και επιθεωρήστε. Προετοιμάστε μια νέα κυψελίδα ροής: αφήστε την να έλθει σε θερμοκρασία δωματίου, αποσυσκευάστε την και επιθεωρήστε την.



Φορτώστε τις αραιωμένες βιβλιοθήκες στην κασέτα αντιδραστηρίων στη δεξαμενή αρ. 10.



Από την αρχική οθόνη του οργάνου NCS, επιλέξτε **Sequence** (Αλληλουχία), το αναγνωριστικό της εκτέλεσης, και ξεκινήστε τα βήματα καθορισμού παραμέτρων της εκτέλεσης. Επιλέξτε **Run** (Εκτέλεση).



Φορτώστε την κυψελίδα ροής.



Αδειάστε το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων και επαναφορτώστε το. Φορτώστε την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων και την κασέτα αντιδραστηρίων.



Κάντε επισκόπηση των αποτελεσμάτων του ελέγχου πριν από την εκτέλεση. Επιλέξτε **Start** (Έναρξη). (Δεν απαιτείται αν το όργανο έχει διαμορφωθεί για αυτόματη εκκίνηση).



Παρακολουθήστε την εκτέλεση μέσω της διεπαφής του λειτουργικού λογισμικού ή μέσω ενός δικτυωμένου υπολογιστή με το Local Run Manager.



Όταν ολοκληρωθεί η αλληλούχιση, ξεκινά αυτόματα η έκπλυση του οργάνου.

Προετοιμασία της κασέτας αντιδραστηρίων

Βεβαιωθείτε ότι ακολουθείτε προσεκτικά τις οδηγίες της κασέτας αντιδραστηρίων για επιτυχημένη αλληλούχιση.

- 1 Πάρτε την κασέτα αντιδραστηρίων από τον χώρο αποθήκευσης όπου βρίσκεται σε θερμοκρασία $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 2 Επιλέξτε μία από τις παρακάτω μεθόδους για την απόψυξη των αντιδραστηρίων. Μην βυθίζετε την κασέτα. Μετά την απόψυξη της κασέτας, στεγνώστε την προτού περάσετε στο επόμενο βήμα.

Θερμοκρασία	Χρόνος απόψυξης	Όριο σταθερότητας
Λουτρό ύδατος σε θερμοκρασία 15 °C έως 30 °C	60 λεπτά	Να μην υπερβαίνονται οι 6 ώρες
2 °C έως 8 °C	7 ώρες	Να μην υπερβαίνονται οι 7 ημέρες

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Εάν αποψύχετε πάνω από μία κασέτα στο ίδιο λουτρό ύδατος, αυξήστε τον χρόνο της απόψυξης.

- 3 Αναποδογυρίστε την κασέτα πέντε φορές για να αναμειχθούν τα αντιδραστήρια.
- 4 Επιθεωρήστε το κάτω μέρος της κασέτας για να βεβαιωθείτε ότι τα αντιδραστήρια έχουν αποψυχθεί και ότι δεν υπάρχουν ιζήματα. Επιβεβαιώστε ότι οι θέσεις 29, 30, 31, και 32 έχουν αποψυχθεί, καθώς είναι οι μεγαλύτερες και χρειάζονται τον περισσότερο χρόνο απόψυξης.
- 5 Χτυπήστε απαλά την κασέτα στον πάγκο για να περιορίσετε τις φυσαλίδες αέρα. Για βέλτιστα αποτελέσματα, φορτώστε απευθείας το δείγμα και καθορίστε τις παραμέτρους της εκτέλεσης.



ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Το συγκεκριμένο σετ αντιδραστηρίων περιέχει δυνητικά επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η εισπνοή, η κατάποση και η επαφή με το δέρμα ή τα μάτια μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό. Φοράτε προστατευτικό εξοπλισμό, συμπεριλαμβανομένου εξοπλισμού προστασίας για τα μάτια, γάντια και εργαστηριακή ποδιά, κατάλληλο για τον κίνδυνο έκθεσης. Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως χημικά απόβλητα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες περιφερειακούς, εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το περιβάλλον, την υγεία και την ασφάλεια, ανατρέξτε στο SDS, στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

Προετοιμασία της κυψελίδας ροής

- 1 Πάρτε ένα νέο κιβώτιο κυψελίδας ροής από τον χώρο αποθήκευσης όπου βρίσκεται σε θερμοκρασία 2 °C έως 8 °C.
- 2 Αφαιρέστε την αλουμινένια συσκευασία από το κιβώτιο και αφήστε την σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Εάν η αλουμινένια συσκευασία είναι άθικτη, η κυψελίδα ροής μπορεί να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου για έως και 12 ώρες. Αποφύγετε την επανειλημμένη ψύξη και θέρμανση της κυψελίδας ροής.

Προετοιμασία βιβλιοθηκών για αλληλούχιση

Εκτελέστε αποδιάταξη και αραίωση στις βιβλιοθήκες σας σε όγκο φόρτωσης 1,3 ml. Στην πράξη, η συγκέντρωση της φόρτωσης μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την προετοιμασία των βιβλιοθηκών και τις μεθόδους ποσοτικοποίησης. Η αραίωση των βιβλιοθηκών των δειγμάτων εξαρτάται από την πολυπλοκότητα των ομάδων ολιγονουκλεοτιδίων. Για οδηγίες σχετικά με τον τρόπο προετοιμασίας των βιβλιοθηκών δειγμάτων προς αλληλούχιση, συμπεριλαμβανομένης της αραίωσης και της

ομαδοποίησης των βιβλιοθηκών, ανατρέξτε στην ενότητα με τις Οδηγίες χρήσης για το αντίστοιχο kit προετοιμασίας βιβλιοθηκών. Στο NextSeq 550Dx η βελτιστοποίηση της πυκνότητας των συστάδων είναι απαραίτητη.

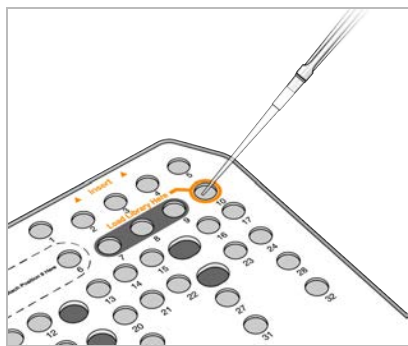
Αποδιάταξη και αραιώση βιβλιοθηκών

Εκτελέστε αποδιάταξη και αραιώση στις βιβλιοθήκες σας σε όγκο φόρτωσης 1,3 ml και σε συγκέντρωση φόρτωσης 1,8 pM. Στην πράξη, η συγκέντρωση της φόρτωσης μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την προετοιμασία των βιβλιοθηκών και τις μεθόδους ποσοτικοποίησης. Για οδηγίες, ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας προετοιμασίας βιβλιοθήκης.

Φόρτωση βιβλιοθηκών στην κασέτα αντιδραστηρίων

- 1 Χρησιμοποιώντας ένα πανί που δεν αφήνει χνούδι, καθαρίστε τη στεγανοποίηση αλουμινίου που καλύπτει τη δεξαμενή αρ. 10 με ετικέτα **Load Library Here** (Φόρτωση βιβλιοθήκης εδώ).
- 2 Τρυπήστε τη στεγανοποίηση με ένα καθαρό άκρο πιπέτας 1 ml.
- 3 Φορτώστε 1,3 ml προετοιμασμένων βιβλιοθηκών στη δεξαμενή αρ. 10 με ετικέτα **Load Library Here** (Φόρτωση βιβλιοθήκης εδώ). Μην αγγίζετε τη στεγανοποίηση αλουμινίου κατά τη διανομή των βιβλιοθηκών.

Εικόνα 10 Φόρτωση βιβλιοθηκών



Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης αλληλούχισης

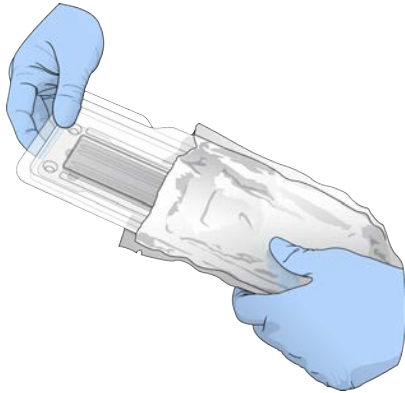
Σύνδεση στο BaseSpace

- 1 Εισαγάγετε το όνομα χρήστη και τον κωδικό πρόσβασής σας στο BaseSpace.
- 2 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Φόρτωση της κυψελίδας ροής

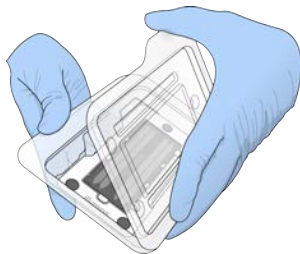
- 1 Αφαιρέστε τη χρησιμοποιημένη κυψελίδα ροής από προηγούμενη εκτέλεση.
- 2 Αφαιρέστε την κυψελίδα ροής από την αλουμινένια συσκευασία.

Εικόνα 11 Αφαίρεση από την αλουμινένια συσκευασία



- 3 Ανοίξτε τη διάφανη πλαστική αναδιπλούμενη συσκευασία και αφαιρέστε την κυψελίδα ροής.

Εικόνα 12 Αφαίρεση από την αναδιπλούμενη συσκευασία

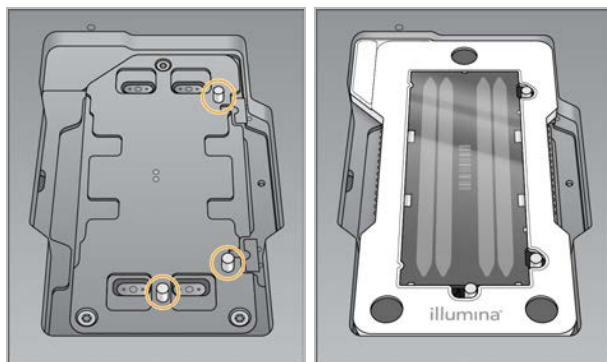


- 4 Καθαρίστε τη γυάλινη επιφάνεια της κυψελίδας ροής με μαντηλάκι αλκοόλης που δεν αφήνει χνούδι. Στεγνώστε τη γυάλινη επιφάνεια με πανάκι εργαστηρίου που δεν αφήνει χνούδι.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Βεβαιωθείτε ότι η γυάλινη επιφάνεια της κυψελίδας ροής είναι καθαρή. Εάν είναι απαραίτητο, επαναλάβετε το βήμα του καθαρισμού.

- 5 Ευθυγραμμίστε την κυψελίδα ροής επάνω από τους πίσους ευθυγράμμισης και τοποθετήστε την κυψελίδα ροής επάνω στη βάση.

Εικόνα 13 Φόρτωση της κυψελίδας ροής



6 Επιλέξτε **Load** (Φόρτωση).

Η θύρα κλείνει αυτόματα, το αναγνωριστικό της κυψελίδας ροής εμφανίζεται στην οθόνη και γίνεται έλεγχος των αισθητήρων.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Κρατήστε τα χέρια σας μακριά από τη θύρα της κυψελίδας ροής κατά το κλείσιμο για να μην παστούν στη θύρα.

7 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Άδειασμα του δοχείου χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων

- 1 Ανοίξτε τη θύρα του διαμερίσματος ρυθμιστικών διαλυμάτων με ένα μάνταλο που βρίσκεται κάτω από τη γωνία της θύρας κάτω αριστερά.
- 2 Αφαιρέστε το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων και απορρίψτε τα περιεχόμενα σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα.

Εικόνα 14 Αφαιρέστε το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων



ΣΗΜΕΙΩΣΗ Καθώς αφαιρείτε το δοχείο, τοποθετήστε το άλλο σας χέρι από κάτω για στήριξη.

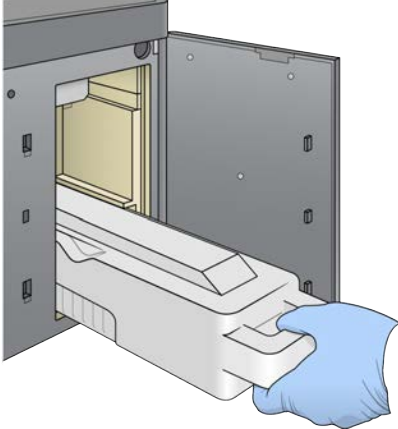


ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Το συγκεκριμένο σετ αντιδραστηρίων περιέχει δυνητικά επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η εισπνοή, η κατάποση και η επαφή με το δέρμα ή τα μάτια μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό. Φοράτε προστατευτικό εξοπλισμό, συμπεριλαμβανομένου εξοπλισμού προστασίας για τα μάτια, γάντια και εργαστηριακή ποδιά, κατάλληλο για τον κίνδυνο έκθεσης. Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως χημικά απόβλητα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες περιφερειακούς, εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το περιβάλλον, την υγεία και την ασφάλεια, ανατρέξτε στο SDS, στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

- 3 Σύρετε το άδειο δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων μέσα στο διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων μέχρι να ακινητοποιηθεί. Θα ακουστεί ένα κλικ που δείχνει ότι το δοχείο βρίσκεται στη θέση του.

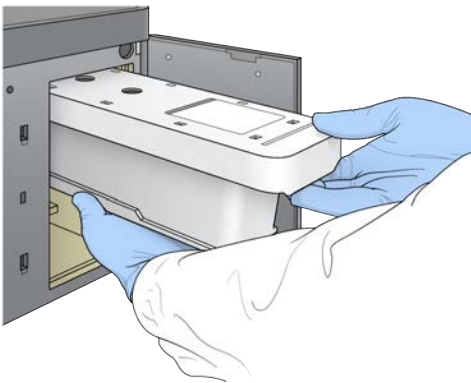
Εικόνα 15 Φορτώστε το άδειο δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων



Φόρτωση της κασέτας ρυθμιστικών διαλυμάτων

- 1 Αφαιρέστε τη χρησιμοποιημένη κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων από το επάνω διαμέρισμα. Απαιτείται λίγη δύναμη για να ανασηκώσετε και, στη συνέχεια, για να τραβήξετε έξω την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων.
- 2 Σύρετε μια νέα κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων μέσα στο διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων μέχρι να ακινητοποιηθεί.
Θα ακουστεί ένα «κλικ» που δείχνει ότι η κασέτα βρίσκεται στη θέση της, το αναγνωριστικό της κασέτας ρυθμιστικών διαλυμάτων εμφανίζεται στην οθόνη και γίνεται έλεγχος του αισθητήρα.

Εικόνα 16 Φόρτωση της κασέτας ρυθμιστικών διαλυμάτων



- 3 Κλείστε τη θύρα του διαμερίσματος ρυθμιστικών διαλυμάτων και επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Φόρτωση της κασέτας αντιδραστηρίων

- 1 Ανοίξτε τη θύρα του διαμερίσματος αντιδραστηρίων με ένα μάνταλο που βρίσκεται κάτω από τη γωνία της θύρας κάτω δεξιά.
- 2 Αφαιρέστε τη χρησιμοποιημένη κασέτα αντιδραστηρίων από το διαμέρισμα αντιδραστηρίων. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο περιεχόμενο σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα.



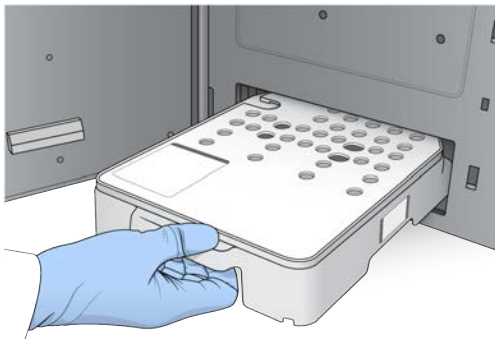
ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Το συγκεκριμένο σετ αντιδραστηρίων περιέχει δυνητικά επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η εισπνοή, η κατάποση και η επαφή με το δέρμα ή τα μάτια μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό. Φοράτε προστατευτικό εξοπλισμό, συμπεριλαμβανομένου εξοπλισμού προστασίας για τα μάτια, γάντια και εργαστηριακή ποδιά, κατάλληλο για τον κίνδυνο έκθεσης. Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως χημικά απόβλητα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες περιφερειακούς, εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το περιβάλλον, την υγεία και την ασφάλεια, ανατρέξτε στο SDS, στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Για τη διευκόλυνση της ασφαλούς απόρριψης του μη χρησιμοποιημένου αντιδραστηρίου, η δεξαμενή στη θέση 6 είναι αφαιρούμενη. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα *Αφαίρεση χρησιμοποιημένης δεξαμενής από τη θέση αρ. 6* στη σελίδα 23.

- 3 Σύρετε την κασέτα αντιδραστηρίων στο διαμέρισμα αντιδραστηρίων μέχρι να ακινητοποιηθεί και, στη συνέχεια, κλείστε τη θύρα του διαμερίσματος αντιδραστηρίων.

Εικόνα 17 Φόρτωση κασέτας αντιδραστηρίων

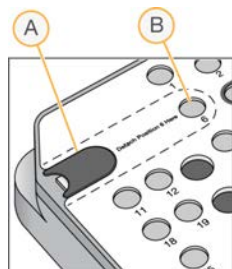


- 4 Επιλέξτε **Load** (Φόρτωση). Το λογισμικό μετακινεί την κασέτα στη θέση της αυτόματα (σε περίπου 30 δευτερόλεπτα), το αναγνωριστικό της κασέτας αντιδραστηρίων εμφανίζεται στην οθόνη και γίνεται έλεγχος των αισθητήρων.
- 5 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Αφαίρεση χρησιμοποιημένης δεξαμενής από τη θέση αρ. 6

- 1 Αφού αφαιρέσετε τη **χρησιμοποιημένη** κασέτα αντιδραστηρίων από το όργανο, αφαιρέστε το προστατευτικό ελαστικό κάλυμμα από την υποδοχή δίπλα στη θέση αρ. 6.

Εικόνα 18 Αφαιρούμενο δοχείο στη θέση αρ. 6



- A Προστατευτικό ελαστικό κάλυμμα
- B Θέση αρ. 6

- 2 Πιέστε τη διάφανη πλαστική γλωττίδα προς τα κάτω και ωθήστε την προς τα αριστερά για να αφαιρέσετε τη δεξαμενή.
- 3 Απορρίψτε τη δεξαμενή σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα.

Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης

Τα βήματα στην οθόνη «Run Setup» (Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης) διαφέρουν ανάλογα με τη διαμόρφωση συστήματος:

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace ή BaseSpace Onsite) — Στην οθόνη «Run Setup» (Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης) παρατίθενται οι εκτελέσεις που ρυθμίστηκαν μέσω της καρτέλας «Prep» (Προετοιμασία) του BaseSpace. Εάν η επιθυμητή εκτέλεση δεν εμφανίζεται στην οθόνη «Run Setup» (Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης), βεβαιωθείτε ότι η εκτέλεση έχει σημειωθεί για αλληλούχιση στο BaseSpace.
- ▶ **Standalone** (Αυτόνομη) — Η οθόνη «Run Setup» (Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης) περιλαμβάνει πεδία για τον καθορισμό των παραμέτρων εκτέλεσης.

Επιλογή διαθέσιμης εκτέλεσης (διαμόρφωση BaseSpace)

- 1 Επιλέξτε ένα όνομα εκτέλεσης από τη λίστα διαθέσιμων εκτελέσεων.
Χρησιμοποιήστε τα βέλη επάνω και κάτω για να μετακινηθείτε με κύλιση στη λίστα ή εισαγάγετε ένα όνομα εκτέλεσης στο πεδίο «Search» (Αναζήτηση).
- 2 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).
- 3 Επιβεβαιώστε τις παραμέτρους εκτέλεσης.
 - ▶ **Run Name** (Όνομα εκτέλεσης) — Το όνομα της εκτέλεσης όπως αντιστοιχίστηκε στο BaseSpace.
 - ▶ **Library ID** (Αναγνωριστικό βιβλιοθήκης) — Το όνομα των ομαδοποιημένων βιβλιοθηκών όπως αντιστοιχίστηκε στο BaseSpace.
 - ▶ **Recipe** (Συνταγή) — Το όνομα της συνταγής, είτε **NextSeq High** (NextSeq υψηλής απόδοσης) ή **NextSeq Mid** (NextSeq μεσαίας απόδοσης), ανάλογα με την κασέτα αντιδραστηρίων που χρησιμοποιείται για την εκτέλεση.

- ▶ **Read Type** (Τύπος ανάγνωσης) — Αλληλούχιση ενός άκρου ή αλληλούχιση συζευγμένων άκρων.
- ▶ **Read Length** (Μήκος ανάγνωσης) — Αριθμός κύκλων για κάθε ανάγνωση.
- ▶ **[Προαιρετικό]** Προσαρμοσμένοι εκκινητές, κατά περίπτωση.
- ▶ **Run parameters** (Παράμετροι εκτέλεσης) — Αλλάξτε τον αριθμό αναγνώσεων ή τον αριθμό κύκλων ανά ανάγνωση.
- ▶ **Custom primers** (Προσαρμοσμένοι εκκινητές) — Αλλάξτε τις ρυθμίσεις για προσαρμοσμένους εκκινητές. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στον *Οδηγό προσαρμοσμένων εκκινητών NextSeq* (αρ. εγγράφου 15057456).
- ▶ **Purge consumables for this run** (Εκκαθάριση αναλωσίμων για αυτήν την εκτέλεση) — Αλλάξτε τη ρύθμιση ώστε να γίνεται εκκαθάριση των αναλωσίμων αυτόματα μετά την τρέχουσα εκτέλεση.


4 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Εισαγωγή παραμέτρων εκτέλεσης (αυτόνομη διαμόρφωση)

- 1 Εισαγάγετε ένα όνομα εκτέλεσης της προτίμησής σας.
- 2 **[Προαιρετικό]** Εισαγάγετε ένα αναγνωριστικό βιβλιοθήκης της προτίμησής σας.
- 3 Επιλέξτε έναν τύπο ανάγνωσης, είτε **Single Read** (Αλληλούχιση ενός άκρου) ή **Paired End** (Αλληλούχιση συζευγμένων άκρων).
- 4 Εισαγάγετε τον αριθμό των κύκλων για κάθε ανάγνωση στην εκτέλεση αλληλούχισης.
 - ▶ **Read 1** (Ανάγνωση 1) — Εισαγάγετε μια τιμή έως 151 κύκλους.
 - ▶ **Index 1** (Ευρετήριο 1) — Εισαγάγετε τον αριθμό των κύκλων που απαιτούνται για τον εκκινητή του Ευρετηρίου 1 (i7).
 - ▶ **Index 2** (Ευρετήριο 2) — Εισαγάγετε τον αριθμό των κύκλων που απαιτούνται για τον εκκινητή του Ευρετηρίου 2 (i5).
 - ▶ **Read 2** (Ανάγνωση 2) — Εισαγάγετε μια τιμή έως 151 κύκλους. Η τιμή αυτή είναι συνήθως ο ίδιος αριθμός κύκλων με την Ανάγνωση 1.

Το λογισμικό ελέγχου επιβεβαιώνει τις καταχωρίσεις σας χρησιμοποιώντας τα παρακάτω κριτήρια:

- ▶ Ο συνολικός αριθμός κύκλων δεν υπερβαίνει τον μέγιστο επιτρεπόμενο αριθμό κύκλων
- ▶ Οι κύκλοι για την Ανάγνωση 1 είναι περισσότεροι από τους 5 κύκλους που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία προτύπου
- ▶ Οι κύκλοι για τις αναγνώσεις ευρετηρίου δεν υπερβαίνουν τους κύκλους για την Ανάγνωση 1 και την Ανάγνωση 2





- 5 **[Προαιρετικό]** Εάν χρησιμοποιείτε προσαρμοσμένους εκκινητές, επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου για τους εκκινητές που χρησιμοποιούνται. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στον *Οδηγό προσαρμοσμένων εκκινητών NextSeq* (αρ. εγγράφου 15057456).
 - ▶ **Read 1** (Ανάγνωση 1) — Προσαρμοσμένος εκκινητής για την Ανάγνωση 1.
 - ▶ **Index 1** (Ευρετήριο 1) — Προσαρμοσμένος εκκινητής για το Ευρετήριο 1.
 - ▶ **Index 2** (Ευρετήριο 2) — Προσαρμοσμένος εκκινητής για το Ευρετήριο 2.
 - ▶ **Read 2** (Ανάγνωση 2) — Προσαρμοσμένος εκκινητής για την Ανάγνωση 2.
- 6 **[Προαιρετικό]** Επιλέξτε το κουμπί **Advanced Settings**  (Ρυθμίσεις για προχωρημένους) για να αλλάξετε τις παραμέτρους εκτέλεσης.
 - ▶ Από την αναπτυσσόμενη λίστα «Recipe» (Συνταγή), επιλέξτε μια συνταγή. Παρατίθενται μόνο συμβατές συνταγές.

- ▶ **Output folder location** (Θέση φακέλου εξόδου) — Αλλάξτε τη θέση του φακέλου εξόδου για την τρέχουσα εκτέλεση. Επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) για να μεταβείτε σε μια θέση δικτύου.
- ▶ **Included file** (Συμπεριληφθέν αρχείο) — Επιλέξτε τα αρχεία προς συμπερίληψη στον φάκελο εξόδου τα οποία μπορεί να είναι χρήσιμα εάν απαιτηθεί περαιτέρω ανάλυση. Για παράδειγμα, αρχεία δελτίου δείγματος και λίστες δειγμάτων.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Εκκαθάριση αναλωσίμων για αυτήν την εκτέλεση) — Αλλάξτε τη ρύθμιση ώστε να γίνεται εκκαθάριση των αναλωσίμων αυτόματα μετά την τρέχουσα εκτέλεση.
- ▶ **Use run monitoring for this run** (Χρήση παρακολούθησης εκτέλεσης για αυτήν την εκτέλεση) — Αλλάξτε τη ρύθμιση για να χρησιμοποιήσετε την παρακολούθηση εκτέλεσης στο BaseSpace.

7 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Επισκόπηση ελέγχου πριν από την εκτέλεση

Το λογισμικό εκτελεί έναν αυτοματοποιημένο έλεγχο πριν την εκτέλεση στο σύστημα. Κατά τη διάρκεια του ελέγχου, εμφανίζονται στην οθόνη οι παρακάτω ενδείξεις:

- ▶ **Γκρίζο**  **σημάδι ελέγχου** — Ο έλεγχος δεν έχει διενεργηθεί ακόμα.
- ▶ **Εικονίδιο**  **προόδου** — Ο έλεγχος βρίσκεται σε εξέλιξη.
- ▶ **Πράσινο**  **σημάδι ελέγχου** — Ο έλεγχος ολοκληρώθηκε με επιτυχία.
- ▶ **Κόκκινο**  — Ο έλεγχος δεν ολοκληρώθηκε με επιτυχία. Για να μπορέσετε να συνεχίσετε, πρέπει να εκτελέσετε μια ενέργεια σε όσα στοιχεία δεν πέρασαν τον έλεγχο με επιτυχία. Δείτε την ενότητα *Επίλυση σφαλμάτων αυτόματου ελέγχου στη σελίδα 48*.

Για να διακόψετε τον αυτοματοποιημένο έλεγχο πριν από την εκτέλεση που βρίσκεται σε εξέλιξη, επιλέξτε το κουμπί **Cancel** (Ακύρωση). Για να επανεκκινήσετε τον έλεγχο, επιλέξτε το κουμπί **Retry** (Νέα προσπάθεια). Ο έλεγχος συνεχίζεται στο πρώτο βήμα που δεν έχει ολοκληρωθεί ή απέτυχε.

Για να δείτε τα αποτελέσματα κάθε επιμέρους ελέγχου σε μια κατηγορία, επιλέξτε την καρτέλα «Category» (Κατηγορία).

Εάν το όργανο δεν έχει διαμορφωθεί για αυτόματη εκκίνηση της εκτέλεσης, εκκινήστε την εκτέλεση μετά την ολοκλήρωση του αυτοματοποιημένου ελέγχου πριν από την εκτέλεση.

Έναρξη εκτέλεσης

Όταν ολοκληρωθεί ο αυτόματος έλεγχος πριν από την εκτέλεση, επιλέξτε **Start** (Έναρξη). Η εκτέλεση αλληλούχισης ξεκινά.

Για να διαμορφώσετε το σύστημα έτσι ώστε η εκτέλεση να ξεκινά αυτόματα μετά από έναν επιτυχημένο έλεγχο, δείτε την ενότητα *Ρύθμιση επιλογών καθορισμού παραμέτρων εκτέλεσης στη σελίδα 13*.



ΠΡΟΣΟΧΗ

Βεβαιωθείτε ότι παραμένετε συνδεδεμένοι στα Windows. Εάν αποσυνδεθείτε από το σύστημα των Windows κατά τη διάρκεια μιας εκτέλεσης αλληλούχισης, η εκτέλεση σταματά.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Τα αντιδραστήρια δεν μπορούν να παραμένουν σε αδράνεια στο όργανο για πάνω από 24 ώρες.

Παρακολούθηση της εξέλιξης της εκτέλεσης

- 1 Παρακολουθήστε την πρόοδο της εκτέλεσης, τις εντάσεις και τις βαθμολογίες ποιότητας καθώς οι μετρήσεις εμφανίζονται στην οθόνη.




ΣΗΜΕΙΩΣΗ Εάν επιλέξετε το Home (Αρχική), δεν θα μπορείτε πλέον να επιστρέψετε για να δείτε τις μετρήσεις της εκτέλεσης. Ωστόσο, οι μετρήσεις της εκτέλεσης είναι προσβάσιμες στο BaseSpace ή μπορούν να προβληθούν από έναν αυτόνομο υπολογιστή μέσω του προγράμματος προβολής ανάλυσης αλληλούχισης (Sequencing Analysis Viewer, SAV).

Κύκλοι για μετρήσεις εκτέλεσης

Οι μετρήσεις εκτέλεσης εμφανίζονται σε διαφορετικά σημεία μιας εκτέλεσης.

- ▶ Κατά τη διάρκεια των βημάτων της δημιουργίας συστάδων, δεν εμφανίζονται μετρήσεις.
- ▶ Οι πρώτοι 5 κύκλοι διατηρούνται για τη δημιουργία προτύπου.
- ▶ Οι μετρήσεις εκτέλεσης εμφανίζονται μετά τον κύκλο 25, συμπεριλαμβανομένης της πυκνότητας συστάδων, των συστάδων που διέρχονται από το φίλτρο διέλευσης, της απόδοσης και των βαθμολογιών ποιότητας.

Μεταφορά δεδομένων

Κατάσταση	Local Run Manager	Φάκελος εξόδου
Συνδεδεμένο		
Συνδεδεμένο και γίνεται μεταφορά δεδομένων		
Αποσυνδεδεμένο		
Απενεργοποιημένο		

Εάν η μεταφορά δεδομένων διακοπεί κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης, τα δεδομένα αποθηκεύονται προσωρινά στον υπολογιστή του οργάνου. Όταν η σύνδεση αποκατασταθεί, η μεταφορά δεδομένων συνεχίζεται αυτόματα. Εάν η σύνδεση δεν αποκατασταθεί πριν τον τερματισμό της εκτέλεσης, μεταφέρετε μη αυτόματα τα δεδομένα από τον υπολογιστή του οργάνου πριν από την έναρξη της επόμενης εκτέλεσης.

Universal Copy Service

Το NextSeq 550Dx περιλαμβάνει μια υπηρεσία Universal Copy Service. Το RTA2 στέλνει αίτημα στην υπηρεσία για την αντιγραφή αρχείων από μια θέση-πηγή σε μια θέση-προορισμό και η υπηρεσία διαπεραιώνει τα αιτήματα αντιγραφής με τη σειρά που ελήφθησαν. Σε περίπτωση εξαίρεσης, το αρχείο επανατοποθετείται στην ουρά για αντιγραφή βάσει του αριθμού των αρχείων στην ουρά προς αντιγραφή.

Πρόγραμμα προβολής ανάλυσης αλληλούχισης

Το λογισμικό του προγράμματος προβολής ανάλυσης αλληλούχισης εμφανίζει τις μετρήσεις αλληλούχισης που δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης. Οι μετρήσεις εμφανίζονται με τη μορφή διαγραμμάτων, γραφημάτων και πινάκων με βάση τα δεδομένα που δημιουργούνται από το RTA και εγγράφονται στα αρχεία InterOp. Οι μετρήσεις ενημερώνονται με την εξέλιξη της εκτέλεσης. Επιλέξτε **Refresh** (Ανανέωση) οποιαδήποτε στιγμή κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης για προβολή των ενημερωμένων μετρήσεων. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στον *Οδηγό χρήσης προγράμματος προβολής ανάλυσης αλληλούχισης (αρ. είδους 15020619)*.

Το πρόγραμμα προβολής ανάλυσης αλληλούχισης περιλαμβάνεται στο λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στον υπολογιστή του οργάνου. Μπορείτε επίσης να εγκαταστήσετε το πρόγραμμα προβολής ανάλυσης αλληλούχισης σε άλλον υπολογιστή που είναι συνδεδεμένος στο ίδιο δίκτυο με το όργανο για να παρακολουθείτε τις μετρήσεις εκτέλεσης εξ αποστάσεως.

Αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση

Όταν ολοκληρωθεί η εκτέλεση αλληλούχισης, το λογισμικό ξεκινά μια αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση χρησιμοποιώντας το διάλυμα που παρέχεται στην κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων και το NaOCl που παρέχεται στην κασέτα αντιδραστηρίων.

Η αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση διαρκεί περίπου 90 λεπτά. Όταν η έκπλυση ολοκληρωθεί, το κουμπί αρχικής σελίδας γίνεται ενεργό. Τα αποτελέσματα της αλληλούχισης παραμένουν ορατά στην οθόνη κατά τη διάρκεια της έκπλυσης.

Μετά την έκπλυση

Μετά την έκπλυση, οι διατάξεις αναρρόφησης παραμένουν στην κάτω θέση ώστε να αποτρέπεται η είσοδος αέρα στο σύστημα. Αφήνετε τις κασέτες στη θέση τους μέχρι την επόμενη εκτέλεση.

Κεφάλαιο 4 Σάρωση

Εισαγωγή	29
Ροή εργασιών σάρωσης	30
Λήψη του φακέλου DMAP	30
Φόρτωση του BeadChip στον προσαρμογέα	31
Καθορισμός παραμέτρων σάρωσης	32
Παρακολούθηση της εξέλιξης της σάρωσης	35

Εισαγωγή

Για την εκτέλεση μιας σάρωσης στο όργανο NextSeq 550Dx, χρειάζεστε τα παρακάτω εξαρτήματα εκτέλεσης:

- ▶ Ένα BeadChip που έχει υποβληθεί σε υβριδισμό και χρώση
- ▶ Τον επαναχρησιμοποιήσιμο προσαρμογέα BeadChip
- ▶ Αρχεία Decode Map (DMAP) για το BeadChip που χρησιμοποιείτε
- ▶ Ένα αρχείο δελτίου δείγματος για τον τύπο BeadChip που χρησιμοποιείτε
- ▶ Ένα αρχείο συστάδων για τον τύπο BeadChip που χρησιμοποιείτε

Τα αρχεία εξόδου δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της σάρωσης και, στη συνέχεια, τοποθετούνται σε ουρά για μεταφορά στον καθορισμένο φάκελο εξόδου.

Εκτελέστε ανάλυση χρησιμοποιώντας το λογισμικό BlueFuse Multi, το οποίο απαιτεί τη διαθεσιμότητα των δεδομένων σάρωσης σε μορφή αρχείου αντιστοίχισης γονοτύπου (GTC). Από προεπιλογή, το όργανο NextSeq 550Dx δημιουργεί κανονικοποιημένα δεδομένα και σχετιζόμενες αντιστοιχίσεις γονοτύπου στη μορφή αρχείου GTC. Προαιρετικά, μπορείτε να διαμορφώσετε το όργανο για τη δημιουργία πρόσθετων αρχείων δεδομένων έντασης (IDAT). Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα [Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip](#) στη σελίδα 58.

Decode File Client

Ο φάκελος DMAP περιέχει πληροφορίες που ταυτοποιούν θέσεις σφαιριδίων στο BeadChip και ποσοτικοποιούν το σήμα που σχετίζεται με κάθε σφαιρίδιο. Ένας φάκελος DMAP είναι μοναδικός για κάθε γραμμωτό κώδικα BeadChip.

Το βοηθητικό πρόγραμμα Decode File Client σας παρέχει τη δυνατότητα να πραγματοποιήσετε λήψη φακέλων DMAP απευθείας από διακομιστές της Illumina χρησιμοποιώντας το βασικό πρωτόκολλο HTTP.

Για να αποκτήσετε πρόσβαση στο Decode File Client, μεταβείτε στη [σελίδα υποστήριξης του Decode File Client](#) στον ιστότοπο της Illumina (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html). Εγκαταστήστε το Decode File Client σε έναν υπολογιστή με πρόσβαση στη θέση δικτύου του φακέλου DMAP.

Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα [Λήψη του φακέλου DMAP](#) στη σελίδα 30.

Αρχεία δελτίου δείγματος και αρχεία συστάδων

Για κάθε BeadChip, το λογισμικό απαιτεί πρόσβαση σε ένα αρχείο δελτίου δείγματος και σε ένα αρχείο συστάδων. Κάθε αρχείο δελτίου δείγματος και κάθε αρχείο συστάδων είναι μοναδικό για κάθε τύπο BeadChip. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε αρχεία συστάδων που περιλαμβάνουν την ένδειξη NS550 στο όνομα αρχείου. Τα αρχεία αυτά είναι συμβατά με το σύστημα NextSeq 550Dx.

- ▶ **Αρχεία δελτίου δείγματος** — Στα αρχεία δελτίου δείγματος περιγράφεται το περιεχόμενο SNP ή ανιχνευτή σε ένα BeadChip. Τα αρχεία δελτίου δείγματος χρησιμοποιούν τη μορφή αρχείου *.brm.
- ▶ **Αρχεία συστάδων** — Τα αρχεία συστάδων περιγράφουν τις θέσεις συστάδων για τη συστοιχία προσδιορισμού γονοτύπου της Illumina και χρησιμοποιούνται κατά την ανάλυση δεδομένων για τη δημιουργία της αντιστοίχισης γονοτύπου. Τα αρχεία συστάδων χρησιμοποιούν τη μορφή αρχείου *.egt.

Η θέση των αρχείων καθορίζεται στην οθόνη «BeadChip Scan Configuration» (Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip). Από την αρχική οθόνη του NCS, επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου), **System Configuration** (Διαχείριση συστήματος) και, στη συνέχεια, **BeadChip Scan Configuration** (Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip).

Όταν το όργανο NextSeq 550Dx εγκατασταθεί, ο εκπρόσωπος της Illumina πραγματοποιεί λήψη αυτών των αρχείων και καθορίζει τη διαδρομή στο λογισμικό ελέγχου. Δεν χρειάζεται να αλλάξετε αυτά τα αρχεία, εκτός εάν προκύψει απώλεια ή καταστεί διαθέσιμη νέα έκδοση. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα *Αντικατάσταση αρχείων δελτίου δείγματος και αρχείων συστάδων στη σελίδα 55*.

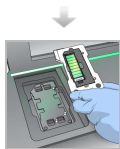
Ροή εργασιών σάρωσης

DMAP

Πραγματοποιήστε λήψη των πληροφοριών DMAP και αποθηκεύστε τις στην καθορισμένη θέση φακέλου DMAP.



Φορτώστε το BeadChip στον προσαρμογέα BeadChip.



Φορτώστε τον προσαρμογέα BeadChip στο όργανο.



Καθορίστε τις παραμέτρους σάρωσης: θέση φακέλου DMAP και θέση εξόδου.



Κάντε επισκόπηση των αποτελεσμάτων του αυτόματου ελέγχου. Επιλέξτε **Start** (Έναρξη).



Παρακολουθήστε τη σάρωση από τη διεπαφή του λογισμικού ελέγχου.

Λήψη του φακέλου DMAP

Μπορείτε να αποκτήσετε πρόσβαση στον φάκελο DMAP χρησιμοποιώντας το Decode File Client από λογαριασμό ή από BeadChip (προεπιλεγμένη προβολή).

Πρόσβαση στον φάκελο DMAP από λογαριασμό

- 1 Από την κύρια καρτέλα του Decode File Client, επιλέξτε μια επιλογή λήψης:
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ Όλα τα BeadChip που δεν έχουν ληφθεί ακόμη
 - ▶ Όλα τα BeadChip
 - ▶ BeadChip κατά εντολής αγοράς
 - ▶ BeadChip κατά γραμμωτό κώδικα
- 2 Εισαγάγετε τις απαιτούμενες πληροφορίες.
- 3 Εντοπίστε τον φάκελο DMAP για τον οποίο θέλετε να πραγματοποιήσετε λήψη.
- 4 Βεβαιωθείτε ότι υπάρχει επαρκής ελεύθερος χώρος στον προορισμό λήψης.
- 5 Ξεκινήστε τη λήψη. Δείτε την κατάσταση λήψης στην καρτέλα «Download Status and Log» (Κατάσταση λήψης και Αρχείο καταγραφής).
- 6 Αποθηκεύστε τον φάκελο DMAP στην καθορισμένη θέση φακέλου DMAP.

Πρόσβαση στον φάκελο DMAP από BeadChip

- 1 Ταυτοποιήστε τα BeadChip χρησιμοποιώντας 2 από τις ακόλουθες επιλογές:
 - ▶ Γραμμωτό κώδικα BeadChip
 - ▶ Αναγνωριστικό κιβωτίου BeadChip
 - ▶ Αριθμό εντολής αγοράς
 - ▶ Αριθμό εντολής πώλησης
- 2 Εντοπίστε τον φάκελο DMAP για τον οποίο θέλετε να πραγματοποιήσετε λήψη.
- 3 Βεβαιωθείτε ότι υπάρχει επαρκής ελεύθερος χώρος στον προορισμό λήψης.
- 4 Ξεκινήστε τη λήψη. Δείτε την κατάσταση λήψης στην καρτέλα «Download Status and Log» (Κατάσταση λήψης και Αρχείο καταγραφής).
- 5 Αποθηκεύστε τον φάκελο DMAP στην καθορισμένη θέση φακέλου DMAP.

Φόρτωση του BeadChip στον προσαρμογέα

- 1 Πιέστε το κλιπ συγκράτησης του προσαρμογέα. Το κλιπ κλίνει ελαφρώς προς τα πίσω για να ανοίξει.
- 2 Κρατώντας το BeadChip από τα άκρα, τοποθετήστε το BeadChip με τον γραμμωτό κώδικα κοντά στο κλιπ συγκράτησης και τοποθετήστε το BeadChip στο ράφι σε εσοχή του προσαρμογέα.

Εικόνα 19 Φόρτωση του BeadChip στον προσαρμογέα



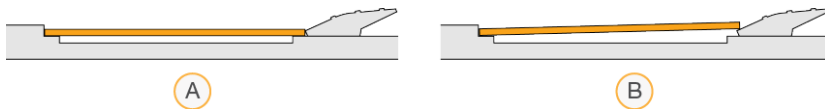
- Χρησιμοποιώντας τα ανοίγματα σε κάθε πλευρά του BeadChip, βεβαιωθείτε ότι το BeadChip έχει τοποθετηθεί στο ράφι σε εσοχή του προσαρμογέα.

Εικόνα 20 Τοποθέτηση και ασφάλιση του BeadChip



- Απελευθερώστε προσεκτικά το κλιπ συγκράτησης για να ασφαλίσετε το BeadChip.
- Επιθεωρήστε το BeadChip πλευρικά για να βεβαιωθείτε ότι το BeadChip βρίσκεται σε επίπεδη θέση πάνω στον προσαρμογέα. Εάν χρειάζεται, επανατοποθετήστε το BeadChip.

Εικόνα 21 Επιθεώρηση της θέσης του BeadChip



- A Σωστή θέση — Το BeadChip βρίσκεται σε επίπεδη θέση πάνω στον προσαρμογέα όταν το κλιπ απελευθερώνεται.
- B Εσφαλμένη θέση — Το BeadChip δεν βρίσκεται σε επίπεδη θέση όταν το κλιπ απελευθερώνεται.

Καθορισμός παραμέτρων σάρωσης

- Από την αρχική οθόνη, επιλέξτε **Experiment** (Πείραμα) και, στη συνέχεια, επιλέξτε **Scan** (Σάρωση).
Με την εντολή σάρωσης, η θύρα του διαμερίσματος απεικόνισης ανοίγει, απελευθερώνονται τα αναλώσιμα από την προηγούμενη εκτέλεση (εάν υπάρχουν) και ανοίγει μια σειρά από οθόνες καθορισμού παραμέτρων της εκτέλεσης. Μια σύντομη καθυστέρηση είναι φυσιολογική.

Εκφόρτωση αναλωσίμων αλληλούχισης

Εάν υπάρχουν χρησιμοποιημένα αναλώσιμα αλληλούχισης όταν καθορίζετε τις παραμέτρους μιας σάρωσης, το λογισμικό σας ζητά να εκφορτώσετε την κασέτα αντιδραστηρίων και την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων προτού προχωρήσετε στο επόμενο βήμα.

- 1 Εάν σας ζητηθεί, αφαιρέστε τα χρησιμοποιημένα αναλώσιμα αλληλούχισης από προηγούμενη εκτέλεση αλληλούχισης.
 - a Αφαιρέστε την κασέτα αντιδραστηρίων από το διαμέρισμα αντιδραστηρίων. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο περιεχόμενο σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα.
 - b Αφαιρέστε τη χρησιμοποιημένη κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων από το διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων.



ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

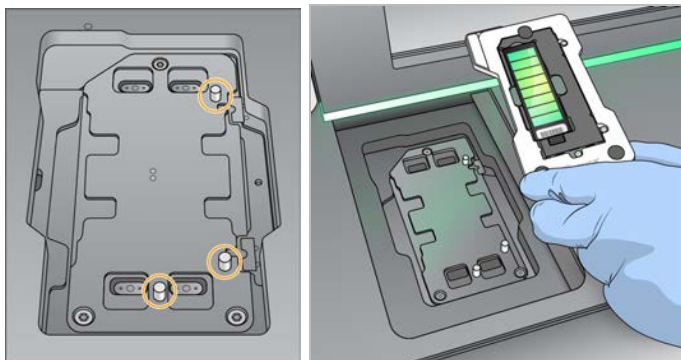
Το συγκεκριμένο σετ αντιδραστηρίων περιέχει δυνητικά επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η εισπνοή, η κατάποση και η επαφή με το δέρμα ή τα μάτια μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό. Φοράτε προστατευτικό εξοπλισμό, συμπεριλαμβανομένου εξοπλισμού προστασίας για τα μάτια, γάντια και εργαστηριακή ποδιά, κατάλληλο για τον κίνδυνο έκθεσης. Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως χημικά απόβλητα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες περιφερειακούς, εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το περιβάλλον, την υγεία και την ασφάλεια, ανατρέξτε στο SDS, στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

- 2 Αφαιρέστε την κυψελίδα ροής από το διαμέρισμα απεικόνισης.
- 3 Κλείστε τις θύρες του διαμερίσματος αντιδραστηρίων και του διαμερίσματος ρυθμιστικών διαλυμάτων.

Φόρτωση του προσαρμογέα BeadChip

- 1 Χρησιμοποιήστε τους πύρους ευθυγράμμισης για να τοποθετήσετε τον προσαρμογέα BeadChip στη βάση.

Εικόνα 22 Φόρτωση του προσαρμογέα BeadChip



- 2 Επιλέξτε **Load** (Φόρτωση).

Η θύρα κλείνει αυτόματα, το αναγνωριστικό του BeadChip εμφανίζεται στην οθόνη και γίνεται έλεγχος των αισθητήρων. Μια σύντομη καθυστέρηση είναι φυσιολογική.

Εάν δεν είναι δυνατή η ανάγνωση του γραμμωτού κώδικα του BeadChip, εμφανίζεται ένα πλαίσιο

διαλόγου που σας επιτρέπει να εισαγάγετε τον γραμμωτό κώδικα μη αυτόματα. Δείτε την ενότητα *Αδυναμία ανάγνωσης του γραμμωτού κώδικα του BeadChip από το λογισμικό στη σελίδα 53*.

3 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Καθορισμός παραμέτρων σάρωσης





1 Στην οθόνη «Scan Setup» (Καθορισμός παραμέτρων σάρωσης), επιβεβαιώστε τις παρακάτω πληροφορίες:

- ▶ **Barcode** (Γραμμωτός κώδικας) — Το λογισμικό διαβάζει τον γραμμωτό κώδικα του BeadChip όταν το BeadChip φορτωθεί. Εάν ο γραμμωτός κώδικας εισήχθη μη αυτόματα, το κουμπί «Edit» (Επεξεργασία) εμφανίζεται για περαιτέρω αλλαγές.
- ▶ **Type** (Τύπος) — Το πεδίο τύπου BeadChip συμπληρώνεται αυτόματα με βάση τον γραμμωτό κώδικα του BeadChip.
- ▶ **DMAP Location** (Θέση DMAP) — Η θέση του φακέλου DMAP καθορίζεται στην οθόνη «BeadChip Scan Configuration» (Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip). Για να αλλάξετε τη θέση μόνο για την τρέχουσα σάρωση, επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε στη σωστή θέση.
- ▶ **Output Location** (Θέση εξόδου) — Η θέση εξόδου καθορίζεται στην οθόνη «BeadChip Scan Configuration» (Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip). Για να αλλάξετε τη θέση μόνο για την τρέχουσα σάρωση, επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε στην προτιμώμενη θέση.

2 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο).

Επισκόπηση ελέγχου πριν από την εκτέλεση

Το λογισμικό εκτελεί έναν αυτοματοποιημένο έλεγχο πριν την εκτέλεση στο σύστημα. Κατά τη διάρκεια του ελέγχου, εμφανίζονται στην οθόνη οι παρακάτω ενδείξεις:

- ▶ **Γκρίζο**  **σημάδι ελέγχου** — Ο έλεγχος δεν έχει διενεργηθεί ακόμα.
- ▶ **Εικονίδιο**  **προόδου** — Ο έλεγχος βρίσκεται σε εξέλιξη.
- ▶ **Πράσινο**  **σημάδι ελέγχου** — Ο έλεγχος ολοκληρώθηκε με επιτυχία.
- ▶ **Κόκκινο**  — Ο έλεγχος δεν ολοκληρώθηκε με επιτυχία. Για να μπορέσετε να συνεχίσετε, πρέπει να εκτελέσετε μια ενέργεια σε όσα στοιχεία δεν πέρασαν τον έλεγχο με επιτυχία. Δείτε την ενότητα *Επίλυση σφαλμάτων αυτόματου ελέγχου στη σελίδα 48*.

Για να διακόψετε τον αυτοματοποιημένο έλεγχο πριν από την εκτέλεση που βρίσκεται σε εξέλιξη, επιλέξτε το κουμπί **Cancel** (Ακύρωση). Για να επανεκκινήσετε τον έλεγχο, επιλέξτε το κουμπί **Retry** (Νέα προσπάθεια). Ο έλεγχος συνεχίζεται στο πρώτο βήμα που δεν έχει ολοκληρωθεί ή απέτυχε.

Για να δείτε τα αποτελέσματα κάθε επιμέρους ελέγχου σε μια κατηγορία, επιλέξτε την καρτέλα «Category» (Κατηγορία).

Εάν το όργανο δεν έχει διαμορφωθεί για αυτόματη εκκίνηση της εκτέλεσης, εκκινήστε την εκτέλεση μετά την ολοκλήρωση του αυτοματοποιημένου ελέγχου πριν από την εκτέλεση.

Έναρξη της σάρωσης

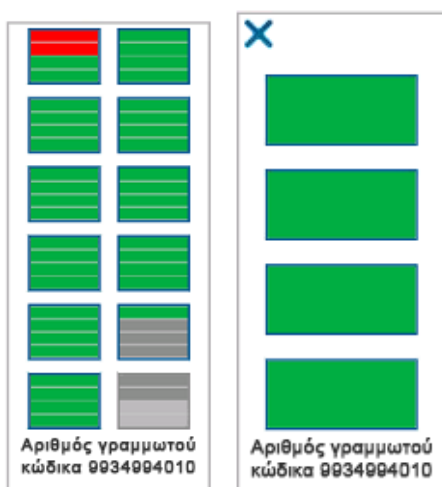
Όταν ολοκληρωθεί ο αυτόματος έλεγχος, επιλέξτε **Start** (Έναρξη). Η σάρωση ξεκινά.

Για να διαμορφώσετε το σύστημα έτσι ώστε η σάρωση να ξεκινά αυτόματα μετά από έναν επιτυχημένο έλεγχο, δείτε την ενότητα *Ρύθμιση επιλογών καθορισμού παραμέτρων εκτέλεσης στη σελίδα 13*.

Παρακολούθηση της εξέλιξης της σάρωσης

- 1 Παρακολουθήστε την εξέλιξη της σάρωσης χρησιμοποιώντας την εικόνα του BeadChip. Κάθε χρώμα στην εικόνα υποδεικνύει την κατάσταση σάρωσης.
 - ▶ **Ανοιχτό γκρι** — Δεν σαρώθηκε
 - ▶ **Σκούρο γκρι** — Σαρώθηκε αλλά δεν καταχωρίστηκε.
 - ▶ **Πράσινο** — Σαρώθηκε και καταχωρίστηκε επιτυχώς.
 - ▶ **Κόκκινο** — Η σάρωση και η καταχώριση απέτυχαν.Εάν η καταχώριση αποτύχει, μπορείτε να σαρώσετε εκ νέου τα δείγματα που περιέχουν τμήματα που απέτυχαν. Δείτε την ενότητα *Αποτυχία σάρωσης BeadChip* στη [σελίδα 54](#).
- 2 Επιλέξτε την εικόνα του BeadChip για εναλλαγή μεταξύ πλήρους προβολής και λεπτομερούς προβολής ενός επιλεγμένου δείγματος.
 - ▶ Η πλήρης προβολή δείχνει τα δείγματα στο BeadChip και τα τμήματα εντός κάθε δείγματος.
 - ▶ Η λεπτομερής προβολή δείχνει κάθε τμήμα εντός του επιλεγμένου δείγματος.

Εικόνα 23 Εικόνα του BeadChip: Πλήρης προβολή και λεπτομερής προβολή



ΣΗΜΕΙΩΣΗ Ο τερματισμός μιας σάρωσης είναι οριστικός. Εάν τερματίσετε τη σάρωση πριν από την ολοκλήρωσή της, τα δεδομένα της σάρωσης **δεν** αποθηκεύονται.

Μεταφορά δεδομένων

Τα δεδομένα τοποθετούνται στην ουρά για μεταφορά στον φάκελο εξόδου σάρωσης όταν η σάρωση ολοκληρωθεί. Τα δεδομένα εγγράφονται προσωρινά στον υπολογιστή του οργάνου. Ο προσωρινός φάκελος διαγράφεται από τον υπολογιστή του οργάνου αυτόματα όταν ξεκινήσει η επόμενη σάρωση.

Ο χρόνος που απαιτείται για τη μεταφορά δεδομένων εξαρτάται από τη σύνδεση δικτύου σας. Πριν από την έναρξη της επόμενης σάρωσης, βεβαιωθείτε ότι τα δεδομένα εγγράφηκαν στον φάκελο εξόδου. Για να το ελέγξετε, βεβαιωθείτε ότι τα αρχεία GTC βρίσκονται στον φάκελο γραμμωτού κώδικα. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα *Δομή φακέλου εξόδου σάρωσης* στη [σελίδα 69](#).

Εάν η σύνδεση διακοπεί, η μεταφορά δεδομένων συνεχίζεται αυτόματα όταν η σύνδεση αποκατασταθεί. Κάθε αρχείο έχει έναν χρονοδιακόπη 1 ώρας μετά την τοποθέτησή του σε ουρά για μεταφορά στον φάκελο εξόδου. Όταν το χρονόμετρο λήξει ή εάν γίνει επανεκκίνηση του οργάνου πριν από την ολοκλήρωση της μεταφοράς, τα δεδομένα δεν εγγράφονται στον φάκελο εξόδου.

Κεφάλαιο 5 Συντήρηση

Εισαγωγή	37
Εκτέλεση μη αυτόματης έκπλυσης	37
Αντικατάσταση φίλτρου αέρα	41
Ενημερώσεις λογισμικού	42
Επιλογές επανεκκίνησης και τερματισμού λειτουργίας	44

Εισαγωγή

Οι διαδικασίες συντήρησης περιλαμβάνουν μη αυτόματες εκπλύσεις του οργάνου, καθώς και την αντικατάσταση του φίλτρου αέρα. Περιγράφονται επίσης ο τερματισμός της λειτουργίας του οργάνου και οι επιλογές επανεκκίνησης.

- ▶ **Εκπλύσεις του οργάνου** — Μια αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση, η οποία εκτελείται μετά από κάθε εκτέλεση αλληλούχισης, διατηρεί την απόδοση του οργάνου. Ωστόσο, υπό ορισμένες συνθήκες, απαιτείται η περιοδική εκτέλεση μιας μη αυτόματης έκπλυσης. Δείτε την ενότητα *Εκτέλεση μη αυτόματης έκπλυσης στη σελίδα 37*.
- ▶ **Αντικατάσταση φίλτρου αέρα** — Η τακτική αντικατάσταση του φίλτρου αέρα διασφαλίζει τη σωστή ροή αέρα μέσα στο όργανο.

Προληπτική συντήρηση

Η Illumina συνιστά να προγραμματίζετε την πραγματοποίηση προληπτικής συντήρησης κάθε έτος. Εάν δεν σας παρέχεται αυτή η υπηρεσία στο πλαίσιο σύμβασης, επικοινωνήστε με τον υπεύθυνο διαχείρισης λογαριασμών της περιοχής σας ή με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina για να κανονίσετε την πραγματοποίηση προληπτικής συντήρησης καταβάλλοντας το αντίστοιχο κόστος.

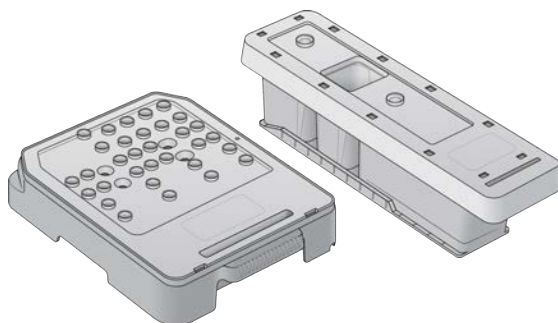
Εκτέλεση μη αυτόματης έκπλυσης

Οι μη αυτόματες εκπλύσεις εκκινούνται από την αρχική οθόνη. Στις επιλογές των εκπλύσεων περιλαμβάνεται η γρήγορη έκπλυση και η μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση.

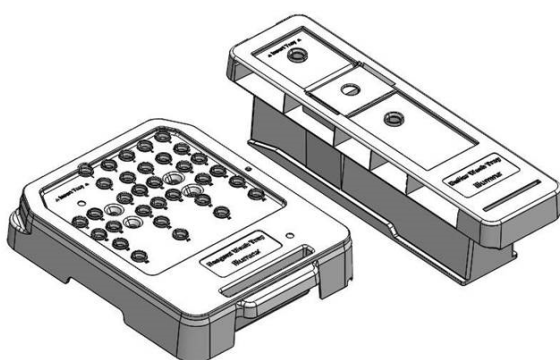
Τύποι έκπλυσης	Περιγραφή
Γρήγορη έκπλυση Διάρκεια: 20 λεπτά	Έκπλυση του συστήματος με διάλυμα έκπλυσης με νερό εργαστηριακής ποιότητας που παρέχεται από τον χρήστη και με Tween 20 (κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων). <ul style="list-style-type: none">• Απαιτείται κάθε 14 ημέρες αδράνειας του οργάνου όταν η κασέτα αντιδραστηρίων και η κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων βρίσκονται στις θέσεις τους.• Απαιτείται κάθε 7 ημέρες όταν το όργανο βρίσκεται σε ξηρή κατάσταση (η κασέτα αντιδραστηρίων και η κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων έχουν αφαιρεθεί).
Μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση Διάρκεια: 90 λεπτά	Έκπλυση του συστήματος με διάλυμα έκπλυσης με νερό εργαστηριακής ποιότητας που παρέχεται από τον χρήστη και με Tween 20 (κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων) και υποχλωριώδες νάτριο 0,12% (κασέτα αντιδραστηρίου έκπλυσης αντιδραστηρίων). Απαιτείται αν δεν έχει πραγματοποιηθεί η αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση.

Για τη μη αυτόματη έκπλυση, απαιτείται η κασέτα έκπλυσης αντιδραστηρίων και η κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων και μια χρησιμοποιημένη κυψελίδα ροής. Μια χρησιμοποιημένη κυψελίδα ροής μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως και 20 φορές για την πραγματοποίηση εκπλύσεων στο όργανο.

Εικόνα 24 Κασέτα έκπλυσης αντιδραστηρίων και κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων αρχικής μορφής.



Εικόνα 25 Κασέτα έκπλυσης αντιδραστηρίων και κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων νέας μορφής.



Προετοιμασία για μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση

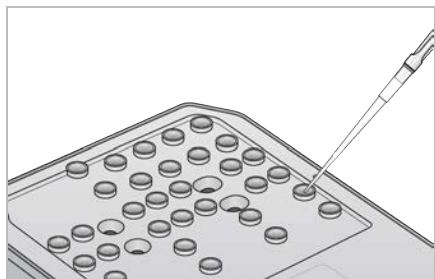
Επιλέξτε αν θα προβείτε στην προετοιμασία για μια μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση, όπως περιγράφεται παρακάτω, ή αν θα εκτελέσετε την προετοιμασία για μια γρήγορη έκπλυση (επόμενη ενότητα). Εάν σκοπεύετε να πραγματοποιήσετε μια μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση, παραβλέψτε την ενότητα γρήγορης έκπλυσης και συνεχίστε στην ενότητα **Φόρτωση χρησιμοποιημένης κυψελίδας ροής και κασετών έκπλυσης στη σελίδα 40**.

Αναλώσιμα που παρέχονται από τον χρήστη	Όγκος και περιγραφή
NaOCl	1 ml, αραιώση σε 0,12% Φόρτωση στην κασέτα έκπλυσης αντιδραστηρίων (θέση αρ. 28)
Tween 20 100% Νερό εργαστηριακής ποιότητας	Χρησιμοποιείται για την παρασκευή 125 ml διαλύματος έκπλυσης Tween 20 0,05% Φόρτωση στην κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων (κεντρική δεξαμενή)

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Χρησιμοποιείτε πάντα φρέσκο αραιωμένο NaOCl το οποίο έχετε παρασκευάσει εντός των τελευταίων **24 ωρών**. Εάν παρασκευάσετε όγκο μεγαλύτερο από 1 ml, αποθηκεύστε το διάλυμα που απομένει στους 2 °C με 8 °C για χρήση εντός των επόμενων 24 ωρών. Εναλλακτικά, απορρίψτε το διάλυμα NaOCl που απομένει.

- 1 Συνδυάστε τους παρακάτω όγκους σε ένα σωληνάριο μικροφυγοκέντρισης για να παρασκευάσετε 1 ml NaOCl 0,12%:
 - ▶ NaOCl 5% (24 µl)
 - ▶ Νερό εργαστηριακής ποιότητας (976 µl)
- 2 Αναστρέψτε το σωληνάριο για ανάμειξη.
- 3 Προσθέστε 1 ml NaOCl 0,12% στην κασέτα έκπλυσης αντιδραστηρίων. Η σωστή δεξαμενή ισοδυναμεί με τη θέση αρ. **28** στην προπληρωμένη κασέτα.

Εικόνα 26 Φόρτωση NaOCl



- 4 Συνδυάστε τους παρακάτω όγκους για να παρασκευάσετε διάλυμα έκπλυσης Tween 20 0,05%: Κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων αρχικής μορφής
 - ▶ Tween 20 100% (62 µl)
 - ▶ Νερό εργαστηριακής ποιότητας (125 ml)
 - ▶ Προσθέστε διάλυμα έκπλυσης 125 ml στην κεντρική δεξαμενή της κασέτας έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων.Κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων νέας μορφής
 - ▶ Tween 20 100% (75 µl)
 - ▶ Νερό εργαστηριακής ποιότητας (150 ml)
 - ▶ Προσθέστε διάλυμα έκπλυσης 150 ml στην κεντρική δεξαμενή της κασέτας έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων.
- 5 Επιλέξτε **Perform Wash** (Εκτέλεση έκπλυσης) και, στη συνέχεια, επιλέξτε **Manual Post-Run Wash** (Μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση).

Προετοιμασία για γρήγορη έκπλυση

Μπορείτε να πραγματοποιήσετε την προετοιμασία για μια γρήγορη έκπλυση, όπως περιγράφεται παρακάτω, ως εναλλακτική λύση στην *Προετοιμασία για μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση* στη σελίδα 38.

Αναλώσιμα που παρέχονται από τον χρήστη	Όγκος και περιγραφή
Tween 20 100% Νερό εργαστηριακής ποιότητας	Χρησιμοποιείται για την παρασκευή 40 ml διαλύματος έκπλυσης Tween 20 0,05% Φορτώνεται στην κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων (κεντρική δεξαμενή)

- 1 Συνδυάστε τους παρακάτω όγκους για να παρασκευάσετε διάλυμα έκπλυσης Tween 20 0,05%:
 - ▶ Tween 20 100% (20 ml)
 - ▶ Νερό εργαστηριακής ποιότητας (40 ml)
- 2 Προσθέστε διάλυμα έκπλυσης 40 ml στην κεντρική δεξαμενή της κασέτας έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων.
- 3 Επιλέξτε **Perform Wash** (Εκτέλεση έκπλυσης) και, στη συνέχεια, επιλέξτε **Quick Wash** (Γρήγορη έκπλυση).

Φόρτωση χρησιμοποιημένης κυψελίδας ροής και κασετών έκπλυσης

- 1 Εάν δεν υπάρχει χρησιμοποιημένη κυψελίδα ροής, φορτώστε μια χρησιμοποιημένη κυψελίδα ροής. Επιλέξτε **Load** (Φόρτωση) και, στη συνέχεια, επιλέξτε **Next** (Επόμενο).
- 2 Αφαιρέστε το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων και απορρίψτε τα περιεχόμενα σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα.



ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Το συγκεκριμένο σετ αντιδραστηρίων περιέχει δυνητικά επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η εισπνοή, η κατάποση και η επαφή με το δέρμα ή τα μάτια μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό. Φοράτε προστατευτικό εξοπλισμό, συμπεριλαμβανομένου εξοπλισμού προστασίας για τα μάτια, γάντια και εργαστηριακή ποδιά, κατάλληλο για τον κίνδυνο έκθεσης. Τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως χημικά απόβλητα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες περιφερειακούς, εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το περιβάλλον, την υγεία και την ασφάλεια, ανατρέξτε στο SDS, στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

- 3 Σύρετε το άδειο δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων μέσα στο διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων μέχρι να ακινητοποιηθεί.
- 4 Αφαιρέστε τη χρησιμοποιημένη κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων από την προηγούμενη εκτέλεση, αν υπάρχει.
- 5 Φορτώστε την κασέτα έκπλυσης ρυθμιστικών διαλυμάτων που περιέχει το διάλυμα έκπλυσης.
- 6 Αφαιρέστε τη χρησιμοποιημένη κασέτα αντιδραστηρίων από την προηγούμενη εκτέλεση, αν υπάρχει.
- 7 Φορτώστε την κασέτα έκπλυσης αντιδραστηρίων.
- 8 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο). Ο έλεγχος πριν από την έκπλυση ξεκινά αυτόματα.

Έναρξη της έκπλυσης

- 1 Επιλέξτε **Start** (Έναρξη).
- 2 Όταν η έκπλυση ολοκληρωθεί, επιλέξτε **Home** (Αρχική).

Μετά την έκπλυση

Μετά την έκπλυση, οι διατάξεις αναρρόφησης παραμένουν στην κάτω θέση ώστε να αποτρέπεται η είσοδος αέρα στο σύστημα. Αφήνετε τις κασέτες στη θέση τους μέχρι την επόμενη εκτέλεση.

Αντικατάσταση φίλτρου αέρα

Τα νέα συστήματα παρέχονται με τρία ανταλλακτικά φίλτρα αέρα. Τα φίλτρα αυτά πρέπει να αποθηκεύονται και να χρησιμοποιούνται όταν το όργανο εμφανίσει ένα μήνυμα για την αλλαγή του φίλτρου.

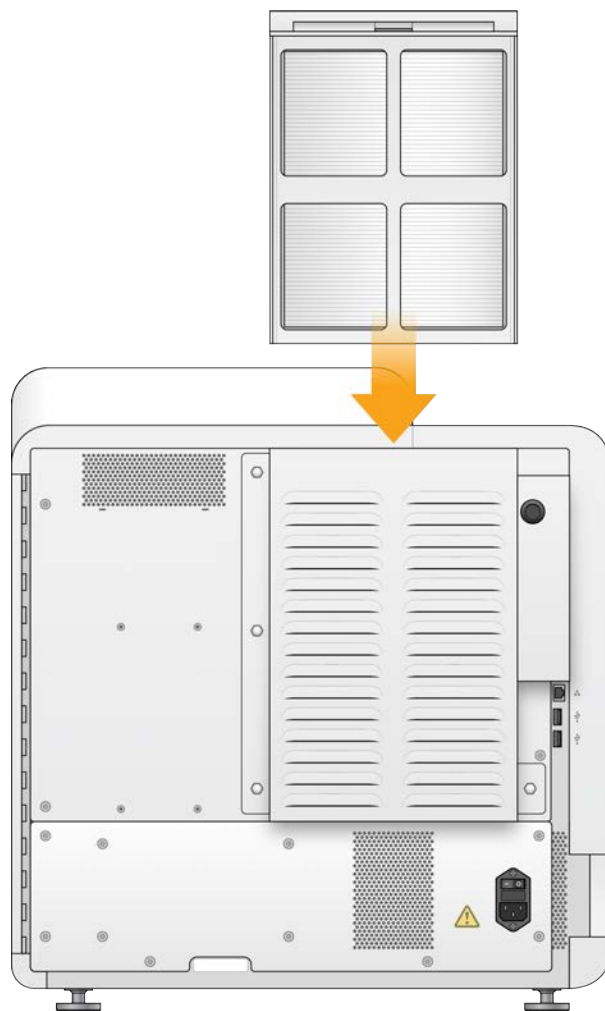
Το φίλτρο αέρα διασφαλίζει τη ροή αέρα διαμέσου του οργάνου. Το λογισμικό εμφανίζει μια ειδοποίηση για την αλλαγή του φίλτρου αέρα κάθε 90 ημέρες. Όταν σας ζητηθεί, επλέξτε **Remind in 1 day** (Υπενθύμιση σε 1 ημέρα) ή ακολουθήστε την παρακάτω διαδικασία και επλέξτε **Filter Changed** (Το φίλτρο άλλαξε). Η αντίστροφη μέτρηση 90 ημερών μηδενίζεται μετά από την επιλογή του στοιχείου **Filter Changed** (Το φίλτρο άλλαξε).

- 1 Αφαιρέστε το νέο φίλτρο αέρα από τη συσκευασία και σημειώστε την ημερομηνία της τοποθέτησής του στο πλαίσιο του φίλτρου.
- 2 Στο πίσω μέρος του οργάνου, πιέστε προς τα κάτω το επάνω μέρος του δίσκου του φίλτρου για να τον απελευθερώσετε.
- 3 Πιάστε το επάνω μέρος του δίσκου του φίλτρου και ανασηκώστε το για να αφαιρέσετε πλήρως τον δίσκο από το όργανο.
- 4 Αφαιρέστε και απορρίψτε το παλιό φίλτρο αέρα.
- 5 Τοποθετήστε το νέο φίλτρο αέρα στον δίσκο.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Το φίλτρο αέρα δεν λειτουργεί σωστά αν τοποθετηθεί ανάποδα. Βεβαιωθείτε ότι έχετε εισαγάγει το φίλτρο αέρα στον δίσκο έτσι ώστε να μπορείτε να δείτε το πράσινο βέλος που δείχνει προς τα επάνω και να μην μπορείτε να δείτε την προειδοποιητική ετικέτα. Το βέλος πρέπει να δείχνει προς τη λαβή του δίσκου του φίλτρου.

- 6 Σύρετε τον δίσκο του φίλτρου μέσα στο όργανο. Πιέστε προς τα κάτω το επάνω μέρος του δίσκου του φίλτρου μέχρι να ασφαλίσει στη θέση του.

Εικόνα 27 Εισαγωγή φίλτρου αέρα




Ενημερώσεις λογισμικού

Οι ενημερώσεις λογισμικού περιλαμβάνονται σε ένα πακέτο προγραμμάτων λογισμικού που ονομάζεται οικογένεια προγραμμάτων του συστήματος, το οποίο περιλαμβάνει τα παρακάτω προγράμματα λογισμικού:

- ▶ Λογισμικό ελέγχου NextSeq (NCS)
- ▶ Συνταγές NextSeq
- ▶ RTA2
- ▶ NextSeq Service Software (NSS)
- ▶ Πρόγραμμα προβολής ανάλυσης αλληλούχισης (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

Μπορείτε να εγκαθιστάτε τις ενημερώσεις λογισμικού αυτόματα χρησιμοποιώντας μια σύνδεση στο διαδίκτυο ή μη αυτόματα από μια θέση δικτύου ή σε μονάδα USB.

- ▶ **Automatic updates** (Αυτόματες ενημερώσεις) — Για τα όργανα που είναι συνδεδεμένα σε δίκτυο με πρόσβαση στο διαδίκτυο, εμφανίζεται ένα εικονίδιο  ειδοποίησης στο κουμπί «Manage Instrument» (Διαχείριση οργάνου) στην αρχική οθόνη όταν καταστεί διαθέσιμη μια ενημέρωση.
- ▶ **Manual updates** (Μη αυτόματες ενημερώσεις) — Πραγματοποιήστε λήψη του προγράμματος εγκατάστασης της οικογένειας προγραμμάτων λογισμικού του συστήματος από τη [σελίδα υποστήριξης του οργάνου NextSeq 550Dx](#) στον ιστότοπο της Illumina.

Αυτόματη ενημέρωση λογισμικού

- 1 Επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
- 2 Επιλέξτε **Software Update** (Ενημέρωση λογισμικού).
- 3 Επιλέξτε **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Εγκατάσταση της ενημέρωσης που έχει ήδη ληφθεί από το BaseSpace).
- 4 Επιλέξτε **Update** (Ενημέρωση) για να ξεκινήσει η ενημέρωση. Ανοίγει ένα πλαίσιο διαλόγου για την επιβεβαίωση της εντολής.
- 5 Ακολουθήστε τις οδηγίες στον οδηγό εγκατάστασης:
 - a Αποδεχτείτε τους όρους της συμφωνίας παραχώρησης άδειας χρήσης.
 - b Διαβάστε τις σημειώσεις έκδοσης.
 - c Διαβάστε τη λίστα των προγραμμάτων λογισμικού που περιλαμβάνονται στην ενημέρωση.Όταν η ενημέρωση ολοκληρωθεί, γίνεται αυτόματη επανεκκίνηση του λογισμικού ελέγχου.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Εάν περιλαμβάνεται ενημέρωση υλικολογισμικού, απαιτείται αυτόματη επανεκκίνηση του συστήματος μετά την ενημέρωση του υλικολογισμικού.

Μη αυτόματη ενημέρωση λογισμικού

- 1 Πραγματοποιήστε λήψη του προγράμματος εγκατάστασης System Suite από τον ιστότοπο της Illumina και αποθηκεύστε το σε μια θέση δικτύου.
Εναλλακτικά, αντιγράψτε το αρχείο εγκατάστασης λογισμικού σε μια φορητή μονάδα USB.
- 2 Επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
- 3 Επιλέξτε **Software Update** (Ενημέρωση λογισμικού).
- 4 Επιλέξτε **Manually install the update from the following location**(Μη αυτόματη εγκατάσταση της ενημέρωσης από την παρακάτω θέση).
- 5 Επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) για να μεταβείτε στη θέση του αρχείου εγκατάστασης λογισμικού και, στη συνέχεια, επιλέξτε **Update** (Ενημέρωση).
- 6 Ακολουθήστε τις οδηγίες στον οδηγό εγκατάστασης:
 - a Αποδεχτείτε τους όρους της συμφωνίας παραχώρησης άδειας χρήσης.
 - b Διαβάστε τις σημειώσεις έκδοσης.
 - c Διαβάστε τη λίστα των προγραμμάτων λογισμικού που περιλαμβάνονται στην ενημέρωση.Όταν η ενημέρωση ολοκληρωθεί, γίνεται αυτόματη επανεκκίνηση του λογισμικού ελέγχου.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Εάν περιλαμβάνεται ενημέρωση υλικολογισμικού, απαιτείται αυτόματη επανεκκίνηση του συστήματος μετά την ενημέρωση του υλικολογισμικού.

Επιλογές επανεκκίνησης και τερματισμού λειτουργίας

Αποκτήστε πρόσβαση στις παρακάτω δυνατότητες επιλέγοντας το κουμπί Reboot / Shutdown (Επανεκκίνηση / Τερματισμός λειτουργίας):

- ▶ Reboot to RUO (Επανεκκίνηση σε λειτουργία RUO) — Το όργανο ανοίγει σε ερευνητική λειτουργία.
- ▶ Restart (Επανεκκίνηση) — Το όργανο ανοίγει σε διαγνωστική λειτουργία.
- ▶ Restart to Dx from RUO (Επανεκκίνηση σε Dx από RUO) — Το όργανο ανοίγει σε διαγνωστική λειτουργία.
- ▶ Shutdown (Τερματισμός λειτουργίας) — Όταν επανενεργοποιηθεί, το όργανο ανοίγει σε διαγνωστική λειτουργία.
- ▶ Exit to Windows (Έξοδος σε Windows) — Ανάλογα με τις άδειες, μπορείτε να κλείσετε το NCS και να δείτε το περιβάλλον των Windows.

Επανεκκίνηση σε διαγνωστική λειτουργία

Χρησιμοποιήστε την εντολή επανεκκίνησης για να τερματίσετε με ασφάλεια τη λειτουργία του οργάνου και για να πραγματοποιήσετε επανεκκίνηση στη διαγνωστική λειτουργία. Η διαγνωστική λειτουργία είναι η προεπιλεγμένη λειτουργία εκκίνησης.

- 1 Επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
- 2 Επιλέξτε **Reboot / Shutdown** (Επανεκκίνηση / Τερματισμός λειτουργίας).
- 3 Επιλέξτε **Restart** (Επανεκκίνηση).

Τερματισμός λειτουργίας του οργάνου

- 1 Επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
- 2 Επιλέξτε **Reboot / Shutdown** (Επανεκκίνηση / Τερματισμός λειτουργίας).
- 3 Επιλέξτε **Shutdown** (Τερματισμός λειτουργίας).
Η εντολή Shutdown (Τερματισμός λειτουργίας) τερματίζει με ασφάλεια τη λειτουργία του λογισμικού και απενεργοποιεί την τροφοδοσία του οργάνου. Περιμένετε τουλάχιστον 60 δευτερόλεπτα προτού επανενεργοποιήσετε το όργανο.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Από προεπιλογή, το όργανο εκκινείται στη διαγνωστική λειτουργία κατά την ενεργοποίησή του.



ΠΡΟΣΟΧΗ

Μην αλλάζετε τη θέση του οργάνου. Η ακατάλληλη μετακίνηση του οργάνου μπορεί να επηρεάσει την οπτική ευθυγράμμιση και να υποβαθμίσει την ακεραιότητα των δεδομένων. Εάν είναι απαραίτητη η αλλαγή της θέσης του οργάνου, επικοινωνήστε με τον εκπρόσωπο της Illumina.

Έξοδος στα Windows

Η εντολή εξόδου στα Windows παρέχει πρόσβαση στο λειτουργικό σύστημα του οργάνου και σε οποιονδήποτε φάκελο στον υπολογιστή του οργάνου. Η εντολή τερματίζει τη λειτουργία του λογισμικού με ασφάλεια και πραγματοποιεί έξοδο στα Windows. Μόνο χρήστες με ρόλο διαχειριστή μπορούν να πραγματοποιήσουν έξοδο στα Windows.

- 1 Επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
- 2 Επιλέξτε **Reboot / Shutdown** (Επανεκκίνηση / Τερματισμός λειτουργίας).
- 3 Επιλέξτε **Exit to Windows** (Έξοδος στα Windows).

Παράρτημα Α Αντιμετώπιση προβλημάτων

Εισαγωγή	47
Αρχεία αντιμετώπισης προβλημάτων	47
Επίλυση σφαλμάτων αυτόματου ελέγχου	48
Πλήρες δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων	51
Ροή εργασιών εκ νέου υβριδισμού	51
Σφάλματα BeadChip και σάρωσης	53
Προσαρμοσμένες συνταγές και φάκελοι συνταγών	55
Μήνυμα σφάλματος RAID	55
Διαμόρφωση ρυθμίσεων συστήματος	56

Εισαγωγή

Για προβλήματα ποιότητας ή απόδοσης, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina. Δείτε την ενότητα [Τεχνική βοήθεια στη σελίδα 75](#).

Αρχεία αντιμετώπισης προβλημάτων

Ένας εκπρόσωπος του τμήματος τεχνικής υποστήριξης της Illumina μπορεί να ζητήσει αντίγραφα αρχείων για συγκεκριμένες εκτελέσεις ή συγκεκριμένες σαρώσεις, στο πλαίσιο των εργασιών αντιμετώπισης προβλημάτων. Συνήθως, για την αντιμετώπιση προβλημάτων χρησιμοποιούνται τα παρακάτω αρχεία.

Αρχεία αντιμετώπισης προβλημάτων για εκτελέσεις αλληλούχισης

Βασικό αρχείο	Φάκελος	Περιγραφή
Αρχείο πληροφοριών εκτέλεσης (RunInfo.xml)	Root folder	Περιέχει τις παρακάτω πληροφορίες: <ul style="list-style-type: none">Όνομα εκτέλεσηςΑριθμό κύκλων στην εκτέλεσηΑριθμό κύκλων σε κάθε ανάγνωσηΑν η ανάγνωση έχει ευρετηριαστείΑριθμό ζωνών και πλακιδίων στην κυψελίδα ροής
Αρχείο παραμέτρων εκτέλεσης (RunParameters.xml)	Root folder	Περιέχει πληροφορίες σχετικά με τις παραμέτρους εκτέλεσης και τα εξαρτήματα της εκτέλεσης. Οι πληροφορίες περιλαμβάνουν το RFID, τον σειριακό αριθμό, τον αριθμό εξαρτήματος και την ημερομηνία λήξης.
Αρχείο διαμόρφωσης RTA (RTAConfiguration.xml)	Root folder	Περιέχει τις ρυθμίσεις διαμόρφωσης του RTA για την εκτέλεση. Το αρχείο RTAConfiguration.xml δημιουργείται κατά την έναρξη της εκτέλεσης.
Αρχεία InterOp (*.bin)	InterOp	Διαδικά αρχεία αναφοράς. Τα αρχεία InterOp ενημερώνονται καθ' όλη τη διάρκεια της εκτέλεσης.
Αρχεία καταγραφής	Logs	Στα αρχεία καταγραφής περιγράφεται κάθε βήμα που εκτελείται από το όργανο για κάθε κύκλο και περιλαμβάνονται οι εκδόσεις λογισμικού και υλικολογισμικού που χρησιμοποιούνται στην εκτέλεση. Στο αρχείο με όνομα [InstrumentName]_CurrentHardware.csv περιλαμβάνονται οι σειριακοί αριθμοί των εξαρτημάτων του οργάνου.
Αρχεία καταγραφής σφαλμάτων (*ErrorLog*.txt)	RTA logs	Αρχείο καταγραφής των σφαλμάτων του RTA. Τα αρχεία καταγραφής σφαλμάτων ενημερώνονται κάθε φορά που παρουσιάζεται ένα σφάλμα.

Βασικό αρχείο	Φάκελος	Περιγραφή
Καθολικά αρχεία καταγραφής (*GlobalLog*.tsv)	RTA logs	Αρχείο καταγραφής όλων των συμβάντων του RTA. Τα καθολικά αρχεία καταγραφής ενημερώνονται καθ' όλη τη διάρκεια της εκτέλεσης.
Αρχεία καταγραφής λωρίδων (*LaneLog*.txt)	RTA logs	Καταγραφή των συμβάντων επεξεργασίας στο RTA. Τα αρχεία καταγραφής λωρίδων ενημερώνονται καθ' όλη τη διάρκεια της εκτέλεσης.

Σφάλματα RTA

Για την επίλυση σφαλμάτων RTA, δείτε πρώτα το αρχείο καταγραφής σφαλμάτων RTA, το οποίο βρίσκεται στον φάκελο RTALogs. Αυτό το αρχείο δεν υφίσταται για εκτελέσεις που έχουν διενεργηθεί με επιτυχία. Συμπεριλάβετε το αρχείο καταγραφής σφαλμάτων κατά την αναφορά προβλημάτων στο τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.

Αρχεία αντιμετώπισης προβλημάτων για σαρώσεις συστοιχιών

Βασικό αρχείο	Φάκελος	Περιγραφή
Αρχείο παραμέτρων σάρωσης (ScanParameters.xml)	Root folder	Περιέχει πληροφορίες σχετικά με τις παραμέτρους σάρωσης. Οι πληροφορίες περιλαμβάνουν την ημερομηνία σάρωσης, τον γραμμωτό κώδικα του BeadChip, τη θέση του αρχείου συστάδων και τη θέση του αρχείου δελτίου δείγματος.
Αρχεία καταγραφής	Logs	Τα αρχεία καταγραφής περιγράφουν κάθε βήμα που εκτελείται στο όργανο κατά τη διάρκεια της σάρωσης.
Αρχεία μετρήσεων	[Barcode]	Οι μετρήσεις παρέχονται ως μετρήσεις δειγμάτων και ως μετρήσεις τμημάτων. [barcode]_sample_metrics.csv — Για κάθε δείγμα και κανάλι (κόκκινο και πράσινο), περιλαμβάνει το ποσοστό εκτός εικόνας, τις ποσοστιαίες ακραίες τιμές, P05, P50, P95, το μέσο FWHM, την τυπική απόκλιση FWHM και την ελάχιστη βαθμολογία καταχώρισης. [barcode]_section_metrics.csv — Για κάθε τμήμα και πλακίδιο, περιλαμβάνει τη θέση του λείζερ στον άξονα Z, τη θέση της διά μέσου εστίασης στον άξονα Z, το FWHM στο κόκκινο κανάλι, το FWHM στο πράσινο κανάλι, τη μέση ένταση εικονοστοιχείων στο κόκκινο κανάλι, τη μέση ένταση εικονοστοιχείων στο πράσινο κανάλι, τη βαθμολογία καταχώρισης στο κόκκινο κανάλι και τη βαθμολογία καταχώρισης στο πράσινο κανάλι.
Αρχείο εκ νέου σάρωσης	[Barcode]	[barcode]_rescan.flowcell — Περιλαμβάνει τις θέσεις πλακιδίων προσαρμοσμένες για εκ νέου σάρωση, οι οποίες περιλαμβάνουν μια αυξημένη επικάλυψη μεταξύ των πλακιδίων.

Επίλυση σφαλμάτων αυτόματου ελέγχου

Εάν παρουσιαστούν σφάλματα κατά τη διάρκεια του αυτόματου ελέγχου, εκτελέστε τις παρακάτω συνιστώμενες ενέργειες για την επίλυση του σφάλματος.

Έλεγχοι για εκτελέσεις αλληλούχισης

Σε περίπτωση αποτυχίας του ελέγχου πριν από την εκτέλεση, το RFID της κασέτας αντιδραστηρίων δεν κλειδώνεται και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε επόμενη εκτέλεση. Ωστόσο, τα RFID της κυψελίδας ροής, της κασέτας αντιδραστηρίων και της κασέτας ρυθμιστικών διαλυμάτων κλειδώνονται κατά την αρχικοποίηση του λογισμικού ελέγχου που μπορεί να απαιτείται για την επίλυση κάποιου σφάλματος. Ο χρήστης πρέπει να αφαιρεί την κυψελίδα ροής, την κασέτα αντιδραστηρίων και την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων από το όργανο πριν από επανεκκίνηση του συστήματος. Επιπλέον, τα RFID των αναλωσίμων κλειδώνονται μετά τη διάτρηση των στεγανοποιήσεων αλουμινίου. Όταν το RFID

μιας κυψελίδας ροής διαβαστεί από το λογισμικό, ξεκινά ένα χρονόμετρο 7 ωρών που μετρά αντίστροφα μέχρι η κυψελίδα ροής να κλειδωθεί και να θεωρείται πλέον μη χρησιμοποιήσιμη.

Έλεγχος συστήματος	Συνιστώμενη ενέργεια
Doors Closed (Θύρες κλειστές)	Βεβαιωθείτε ότι οι θύρες του διαμερίσματος είναι κλειστές.
Consumables Loaded (Αναλώσιμα φορτωμένα)	Οι αισθητήρες των αναλωσίμων δεν καταγράφουν. Βεβαιωθείτε ότι κάθε αναλώσιμο έχει φορτωθεί σωστά. Στις οθόνες καθορισμού παραμέτρων εκτέλεσης, επιλέξτε Back (Επιστροφή) για να επιστρέψετε στο βήμα φόρτωσης και επαναλάβετε τη διαδικασία καθορισμού παραμέτρων της εκτέλεσης.
Required Software (Απαιτούμενο λογισμικό)	Λείπουν εξαρτήματα ζωτικής σημασίας του λογισμικού. Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Instrument Disk Space (Χώρος στη μονάδα δίσκου του οργάνου)	Ο χώρος στη μονάδα σκληρού δίσκου του οργάνου δεν επαρκεί για τη διενέργεια μιας εκτέλεσης. Υπάρχει το ενδεχόμενο να μην έχουν μεταφερθεί τα δεδομένα από κάποια προηγούμενη εκτέλεση. Διαγράψτε τα δεδομένα εκτέλεσης από τη μονάδα σκληρού δίσκου του οργάνου.
Network Connection (Σύνδεση δικτύου)	Η σύνδεση δικτύου έχει διακοπεί. Ελέγξτε την κατάσταση του δικτύου και τη φυσική σύνδεση με το δίκτυο.
Network Disk Space (Χώρος στη μονάδα δίσκου του δικτύου)	Ο διακομιστής δικτύου είναι πλήρης.
Θερμοκρασία	Συνιστώμενη ενέργεια
Temperature (Θερμοκρασία)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Temperature Sensors (Αισθητήρες θερμοκρασίας)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Fans (Ανεμιστήρες)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Σύστημα απεικόνισης	Συνιστώμενη ενέργεια
Imaging Limits (Όρια απεικόνισης)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Z Steps-and-Settle (Βήματα και ακινητοποίηση Z)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Bit Error Rate (Ποσοστό σφάλματος bit)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Flow Cell Registration (Καταχώριση κυψελίδας ροής)	Υπάρχει το ενδεχόμενο η κυψελίδα ροής να μην έχει τοποθετηθεί σωστά. <ul style="list-style-type: none"> Στις οθόνες καθορισμού παραμέτρων της εκτέλεσης, επιλέξτε Back (Επιστροφή) για να επιστρέψετε στο βήμα της κυψελίδας ροής. Η θύρα του διαμερίσματος απεικόνισης ανοίγει. Εκφορτώστε και επαναφορτώστε την κυψελίδα ροής για να βεβαιωθείτε ότι έχει τοποθετηθεί σωστά στη θέση της.

Reagent Delivery (Διανομή αντιδραστηρίων)	Συνιστώμενη ενέργεια
Valve Response (Απόκριση βαλβίδας)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Pump (Αντλία)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Buffer Mechanism (Μηχανισμός ρυθμιστικών διαλυμάτων)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Spent Reagents Empty (Εκκένωση χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων)	Αδειάστε το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων και επαναφορτώστε το κενό δοχείο.

Έλεγχοι για σαρώσεις συστοιχιών

Έλεγχοι συστήματος	Συνιστώμενη ενέργεια
Doors Closed (Θύρες κλειστές)	Βεβαιωθείτε ότι οι θύρες του διαμερίσματος είναι κλειστές.
Consumables Loaded (Αναλώσιμα φορτωμένα)	Οι αισθητήρες των αναλωσίμων δεν καταγράφουν. Βεβαιωθείτε ότι κάθε αναλώσιμο έχει φορτωθεί σωστά. Στις οθόνες καθορισμού παραμέτρων εκτέλεσης, επιλέξτε Back (Επιστροφή) για να επιστρέψετε στο βήμα φόρτωσης και επαναλάβετε τη διαδικασία καθορισμού παραμέτρων της εκτέλεσης.
Required Software (Απαιτούμενο λογισμικό)	Λείπουν εξαρτήματα ζωτικής σημασίας του λογισμικού. Εκτελέστε μη αυτόματη ενημέρωση του λογισμικού για επαναφορά όλων των εξαρτημάτων του λογισμικού.
Verify Input Files (Επαλήθευση αρχείων εισόδου)	Βεβαιωθείτε ότι η διαδρομή προς το αρχείο συστάδων και το αρχείο δελτίου δείγματος είναι σωστή και ότι τα αρχεία υπάρχουν.
Instrument Disk Space (Χώρος στη μονάδα δίσκου του οργάνου)	Ο χώρος στη μονάδα σκληρού δίσκου του οργάνου δεν επαρκεί για τη διενέργεια μιας εκτέλεσης. Υπάρχει το ενδεχόμενο να μην έχουν μεταφερθεί τα δεδομένα από κάποια προηγούμενη εκτέλεση. Διαγράψτε τα δεδομένα εκτέλεσης από τη μονάδα σκληρού δίσκου του οργάνου.
Network Connection (Σύνδεση δικτύου)	Η σύνδεση δικτύου έχει διακοπεί. Ελέγξτε την κατάσταση του δικτύου και τη φυσική σύνδεση με το δίκτυο.
Network Disk Space (Χώρος στη μονάδα δίσκου του δικτύου)	Είτε ο λογαριασμός BaseSpace είναι πλήρης είτε ο διακομιστής δικτύου είναι πλήρης.

Σύστημα απεικόνισης	Συνιστώμενη ενέργεια
Imaging Limits (Όρια απεικόνισης)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Z Steps-and-Settle (Βήματα και ακινητοποίηση Z)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Bit Error Rate (Ποσοστό σφάλματος bit)	Επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.
Auto-Center (Αυτόματη στοίχιση στο κέντρο)	Εκφορτώστε τον προσαρμογέα BeadChip. Βεβαιωθείτε ότι το BeadChip έχει τοποθετηθεί στον προσαρμογέα και, στη συνέχεια, φορτώστε εκ νέου τον προσαρμογέα.

Πλήρες δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων

Ξεκινάτε πάντα μια εκτέλεση με άδειο δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων.

Εάν ξεκινήσετε μια εκτέλεση χωρίς να έχετε αδειάσει το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων, οι αισθητήρες του συστήματος δίνουν σήμα στο λογισμικό να διακόψει την εκτέλεση όταν το δοχείο θα είναι πλήρες. Οι αισθητήρες του συστήματος δεν μπορούν να διακόψουν μια εκτέλεση κατά τη διαδικασία δημιουργίας συστάδων, κατά την ανασύνθεση συζευγμένων άκρων ή κατά την αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση.

Όταν η εκτέλεση διακόπεται, ανοίγει ένα πλαίσιο διαλόγου με την επιλογή ανύψωσης των διατάξεων αναρρόφησης και εκκένωσης του γεμάτου δοχείου.

Άδειασμα του δοχείου χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων

- 1 Επιλέξτε **Raise Sippers** (Ανύψωση διατάξεων αναρρόφησης).
- 2 Αφαιρέστε το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων και απορρίψτε το περιεχόμενό του ακολουθώντας τις κατάλληλες διαδικασίες.
- 3 Επιστρέψτε το άδειο δοχείο στο διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων.
- 4 Επιλέξτε **Continue** (Συνέχεια). Η εκτέλεση συνεχίζεται αυτόματα.

Ροή εργασιών εκ νέου υβριδισμού

Μπορεί να χρειάζεται εκτέλεση εκ νέου υβριδισμού εάν οι μετρήσεις που δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια των πρώτων κύκλων εμφανίζουν εντάσεις κάτω από 2.500. Ορισμένες βιβλιοθήκες με μικρή ποικιλομορφία μπορεί να εμφανίσουν εντάσεις κάτω από 1.000, κάτι που είναι αναμενόμενο και δεν μπορεί να επιλυθεί με εκ νέου υβριδισμό.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Η εντολή τερματισμού εκτέλεσης είναι οριστική. Η εκτέλεση δεν μπορεί να συνεχιστεί, τα αναλώσιμα της εκτέλεσης δεν μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν και τα δεδομένα αλληλούχισης από την εκτέλεση δεν αποθηκεύονται.

Όταν τερματίζετε μια εκτέλεση, το λογισμικό εκτελεί τα παρακάτω βήματα πριν από τον τερματισμό της εκτέλεσης:

- ▶ Θέτει την κυψελίδα ροής σε ασφαλή κατάσταση.
- ▶ Ξεκλειδώνει το RFID της κυψελίδας ροής για μεταγενέστερη εκτέλεση.
- ▶ Αντιστοιχεί μια ημερομηνία λήξης εκ νέου υβριδισμού στην κυψελίδα ροής.
- ▶ Εγγράφει τα δεδομένα στα αρχεία καταγραφής εκτέλεσης για τους ολοκληρωμένους κύκλους. Η καθυστέρηση είναι φυσιολογική.
- ▶ Παρακάμπει την αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση.

Όταν ξεκινάτε μια εκτέλεση, το λογισμικό εκτελεί τα παρακάτω βήματα πριν από τη διενέργεια της εκτέλεσης:

- ▶ Δημιουργεί έναν φάκελο εκτέλεσης με βάση ένα μοναδικό όνομα εκτέλεσης.
- ▶ Ελέγχει ότι η ημερομηνία εκ νέου υβριδισμού της κυψελίδας ροής δεν έχει λήξει.
- ▶ Προετοιμάζει τα αντιδραστήρια. Η καθυστέρηση είναι φυσιολογική.
- ▶ Παραλείπει το βήμα δημιουργίας συστάδων.

- ▶ Αφαιρεί τον προηγούμενο εκκινητή ανάγνωσης 1.
- ▶ Εκτελεί υβριδισμό σε φρέσκο εκκινητή Ανάγνωσης 1.
- ▶ Συνεχίζει την Ανάγνωση 1 και το υπόλοιπο της εκτέλεσης με βάση τις καθορισμένες παραμέτρους εκτέλεσης.

Σημεία για τον τερματισμό μιας εκτέλεσης για εκ νέου υβριδισμό

Ο εκ νέου υβριδισμός σε μεταγενέστερο χρόνο είναι δυνατός μόνο εάν τερματίσετε την εκτέλεση στα ακόλουθα σημεία:

- ▶ **Μετά τον κύκλο 5** — Οι εντάσεις εμφανίζονται μετά την καταχώριση προτύπου, η οποία απαιτεί τους πρώτους 5 κύκλους αλληλούχισης. Παρότι είναι ασφαλές να τερματίσετε μια εκτέλεση μετά τον κύκλο 1, συνιστάται ο τερματισμός μετά τον κύκλο 5. Μην τερματίζετε μια εκτέλεση κατά τη διάρκεια δημιουργίας συστάδων.
- ▶ **Ανάγνωση 1 ή ανάγνωση 1 ευρετηρίου** — Τερματίστε την εκτέλεση **πριν** από την έναρξη της ανασύνθεσης συζευγμένων άκρων. Η κυψελίδα ροής δεν μπορεί να αποθηκευτεί για εκ νέου υβριδισμό σε μεταγενέστερο χρόνο μετά την έναρξη της ανασύνθεσης συζευγμένων άκρων.

Απαιτούμενα αναλώσιμα

Για την εκτέλεση εκ νέου υβριδισμού απαιτείται η χρήση νέας κασέτας αντιδραστηρίων και κασέτας ρυθμιστικών διαλυμάτων NextSeq 550Dx ανεξάρτητα από το χρονικό σημείο διακοπής της εκτέλεσης.

Τερματισμός τρέχουσας εκτέλεσης

- 1 Επιλέξτε **End Run** (Τερματισμός εκτέλεσης). Όταν σας ζητηθεί να επιβεβαιώσετε την εντολή, επιλέξτε **Yes** (Ναι).
- 2 Όταν σας ζητηθεί να αποθηκεύσετε την κυψελίδα ροής, επιλέξτε **Yes** (Ναι). Σημειώστε την ημερομηνία λήξης για τον εκ νέου υβριδισμό.
- 3 Πάρτε την αποθηκευμένη κυψελίδα ροής και αφήστε την στην άκρη σε θερμοκρασία 2 °C έως 8 °C μέχρι να είστε έτοιμοι να ρυθμίσετε την εκτέλεση του εκ νέου υβριδισμού.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Μπορείτε να αποθηκεύσετε την κυψελίδα ροής έως 7 ημέρες σε θερμοκρασία 2 °C έως 8 °C στην πλαστική αναδιπλούμενη θήκη **χωρίς** τη συσκευασία με το αφυγραντικό. Για βέλτιστα αποτελέσματα, εκτελέστε εκ νέου υβριδισμό της αποθηκευμένης κυψελίδας ροής εντός 3 ημερών.

Εκτέλεση μη αυτόματης έκπλυσης

- 1 Από την αρχική οθόνη επιλέξτε **Perform Wash** (Εκτέλεση έκπλυσης).
- 2 Από την οθόνη «Wash Selection» (Επιλογή έκπλυσης), επιλέξτε **Manual Post-Run Wash** (Μη αυτόματη έκπλυση μετά την εκτέλεση). Δείτε την ενότητα **Εκτέλεση μη αυτόματης έκπλυσης στη σελίδα 37**.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Εάν δεν αφαιρέσατε την κασέτα αντιδραστηρίων και την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων από την εκτέλεση που διακόπηκε, μπορείτε να τις χρησιμοποιήσετε για τη μη αυτόματη έκπλυση. Διαφορετικά, εκτελέστε τη μη αυτόματη έκπλυση με την κασέτα αντιδραστηρίων έκπλυσης και την κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων έκπλυσης.

Καθορισμός παραμέτρων νέας εκτέλεσης στην καρτέλα «Prep» του BaseSpace

- 1 Εάν το όργανο έχει διαμορφωθεί για το BaseSpace ή το BaseSpace Onsite, ρυθμίστε μια νέα εκτέλεση στην καρτέλα «Prep» (Προετοιμασία) χρησιμοποιώντας τις ίδιες παραμέτρους με εκείνες της αρχικής εκτέλεσης.

ΑΚΡΟ Κάντε κλικ στην καρτέλα «Pools» (Ομάδες), επιλέξτε το κατάλληλο αναγνωριστικό δεξαμενής για τη διατήρηση των ρυθμίσεων της προηγούμενης εκτέλεσης και, στη συνέχεια, αντιστοιχίστε ένα μοναδικό όνομα για τη νέα εκτέλεση.

Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης στο όργανο

- 1 Προετοιμάστε μια νέα κασέτα αντιδραστηρίων.
- 2 Εάν η αποθηκευμένη κυψελίδα ροής ήταν αποθηκευμένη, αφήστε την να έλθει σε θερμοκρασία δωματίου (15–30 λεπτά).
- 3 Καθαρίστε και φορτώστε την αποθηκευμένη κυψελίδα ροής.
- 4 Αφαιρέστε το δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων και απορρίψτε το περιεχόμενό του ακολουθώντας τις κατάλληλες διαδικασίες και, στη συνέχεια, επαναφορτώστε το άδειο δοχείο.
- 5 Φορτώστε τη νέα κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων και τη νέα κασέτα αντιδραστηρίων.
- 6 Από την οθόνη «Run Setup» (Καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης), επιλέξτε από τις ακόλουθες επιλογές:
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite** (BaseSpace ή BaseSpace Onsite) — Επιλέξτε την εκτέλεση και επιβεβαιώστε τις παραμέτρους εκτέλεσης.
 - ▶ **Standalone** (Αυτόνομη) — Εισαγάγετε το όνομα της εκτέλεσης και καθορίστε τις ίδιες παραμέτρους με εκείνες της αρχικής εκτέλεσης.
- 7 Επιλέξτε **Next** (Επόμενο) για να προχωρήσετε στον έλεγχο πριν από την εκτέλεση και να ξεκινήσετε την εκτέλεση.

Σφάλματα BeadChip και σάρωσης

Αδυναμία ανάγνωσης του γραμμωτού κώδικα του BeadChip από το λογισμικό

Όταν εμφανιστεί το πλαίσιο διαλόγου σφάλματος γραμμωτού κώδικα, επιλέξτε ένα από τα παρακάτω:

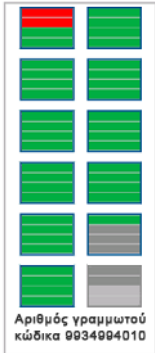
- ▶ Επιλέξτε **Rescan** (Εκ νέου σάρωση). Το λογισμικό προσπαθεί να διαβάσει τον γραμμωτό κώδικα ξανά.
- ▶ Επιλέξτε πεδίο κειμένου και εισαγάγετε τον αριθμητικό γραμμωτό κώδικα όπως εμφανίζεται στην εικόνα. Ανάλογα με το BeadChip, οι αριθμοί γραμμωτού κώδικα έχουν έως 12 ψηφία. Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση). Η εικόνα γραμμωτού κώδικα αποθηκεύεται στον φάκελο εξόδου.
- ▶ Επιλέξτε **Cancel** (Ακύρωση). Η θύρα του διαμερίσματος απεικόνισης ανοίγει για την εκφόρτωση του προσαρμογέα BeadChip.

Αποτυχία σάρωσης BeadChip

Οι εικόνες καταχωρίζονται μετά τη σάρωσή τους. Με την καταχώριση ταυτοποιούνται τα σφαιρίδια μέσω συσχέτισης θέσεων στη σαρωμένη εικόνα με πληροφορίες που παρέχονται στον χάρτη σφαιριδίων ή στον φάκελο DMAP.

Τα τμήματα των οποίων η καταχώριση αποτυγχάνει υποδεικνύονται με κόκκινο χρώμα στην εικόνα του BeadChip.

Εικόνα 28 BeadChip που εμφανίζει τμήματα που απέτυχαν



Μετά την ολοκλήρωση της σάρωσης και την εγγραφή των δεδομένων σάρωσης στον φάκελο εξόδου, το κουμπί εκ νέου σάρωσης γίνεται ενεργό.

Όταν επιλεγεί η εκ νέου σάρωση, το λογισμικό εκτελεί τα ακόλουθα βήματα:

- ▶ Σαρώνει εκ νέου τα δείγματα που περιέχουν τμήματα που απέτυχαν χρησιμοποιώντας μια αυξημένη επικάλυψη μεταξύ των πλακιδίων.
- ▶ Δημιουργεί αρχεία εξόδου στον αρχικό φάκελο εξόδου.
- ▶ Αντικαθιστά τα προηγούμενα αρχεία εξόδου για τα τμήματα που απέτυχαν.
- ▶ Αυξάνει την ένδειξη στον μετρητή σάρωσης κατά 1 μονάδα για κάθε εκ νέου σάρωση, αλλά το κάνει στο παρασκήνιο. Το λογισμικό δεν μετονομάζει τον φάκελο εξόδου.

Εκ νέου σάρωση ή Έναρξη νέας σάρωσης

- 1 Επιλέξτε **Rescan** (Εκ νέου σάρωση) για να σαρώσετε δείγματα που περιέχουν τμήματα που απέτυχαν.
- 2 Εάν η σάρωση συνεχίζει να αποτυγχάνει, τερματίστε την.
- 3 Αφαιρέστε το BeadChip και τον προσαρμογέα και επιθεωρήστε το BeadChip για σκόνη ή ρύπους. Χρησιμοποιήστε προϊόν πεπιεσμένου αέρα ή άλλη μέθοδο αφαίρεσης της σκόνης με συμπιεσμένο αέρα για να απομακρύνετε τους ρύπους.
- 4 Επαναφορτώστε το BeadChip και ξεκινήστε μια νέα σάρωση.
Όταν ξεκινά μια νέα σάρωση, το λογισμικό εκτελεί τα ακόλουθα βήματα:
 - ▶ Σαρώνει ολόκληρο το BeadChip.
 - ▶ Δημιουργεί αρχεία εξόδου σε έναν νέο φάκελο εξόδου.
 - ▶ Αυξάνει την ένδειξη στον μετρητή σάρωσης κατά 1 μονάδα με βάση τη μέτρηση σάρωσης της τελευταίας εκ νέου σάρωσης.

Αντικατάσταση αρχείων δελτίου δείγματος και αρχείων συστάδων

- 1 Μεταβείτε στη σελίδα υποστήριξης της Illumina (support.illumina.com) για το BeadChip που χρησιμοποιείτε και κάντε κλικ στην καρτέλα **Downloads** (Λήψεις).
- 2 Πραγματοποιήστε λήψη των αρχείων προς αντικατάσταση ή ενημέρωση και αντιγράψτε τα αρχεία στη θέση δικτύου που προτιμάτε.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Βεβαιωθείτε ότι επιλέξατε αρχεία δελτίου δείγματος και αρχεία συστάδων που είναι συμβατά με το σύστημα του οργάνου NextSeq 550Dx. Τα συμβατά αρχεία περιλαμβάνουν την ένδειξη **NS550** στο όνομα αρχείου.


- 3 Εάν έχει αλλάξει μόνο η θέση, ενημερώστε τη θέση στην οθόνη «BeadChip Scan Configuration» (Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip) ως εξής:
 - a Από την αρχική οθόνη του NCS, επιλέξτε **Manage Instrument** (Διαχείριση οργάνου).
 - b Επιλέξτε **System Configuration** (Διαμόρφωση συστήματος).
 - c Επιλέξτε **BeadChip Scan Configuration** (Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip).
- 4 Επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε στη θέση των αντικατεστημένων ή ενημερωμένων αρχείων.


Προσαρμοσμένες συνταγές και φάκελοι συνταγών

Μην τροποποιείτε τις αρχικές συνταγές. Δημιουργείτε πάντα ένα αντίγραφο της αρχικής συνταγής με νέο όνομα. Σε περίπτωση τροποποίησης μιας αρχικής συνταγής, το πρόγραμμα ενημέρωσης λογισμικού δεν μπορεί πλέον να αναγνωρίσει τη συνταγή για μεταγενέστερες ενημερώσεις και οι νεότερες εκδόσεις δεν εγκαθίστανται.

Αποθηκεύετε τις προσαρμοσμένες συνταγές στον κατάλληλο φάκελο συνταγών. Οι φάκελοι συνταγών οργανώνονται ως εξής.


Custom

 **High** — Προσαρμοσμένες συνταγές που χρησιμοποιούνται με kit υψηλής απόδοσης.

 **Mid** — Προσαρμοσμένες συνταγές που χρησιμοποιούνται με kit μεσαίας απόδοσης.

 **High** — Αρχικές συνταγές που χρησιμοποιούνται με kit υψηλής απόδοσης.

 **Mid** — Αρχικές συνταγές που χρησιμοποιούνται με kit μεσαίας απόδοσης.

 **Wash** — Περιέχει τη συνταγή μη αυτόματης έκπλυσης.

Μήνυμα σφάλματος RAID

Ο υπολογιστής του NextSeq 550Dx διαθέτει τέσσερις μονάδες σκληρού δίσκου, δύο για τη διαγνωστική λειτουργία και δύο για την ερευνητική λειτουργία. Εάν μια μονάδα σκληρού δίσκου αρχίσει να μην λειτουργεί κανονικά, το σύστημα δημιουργεί ένα μήνυμα σφάλματος RAID και σας προτείνει να επικοινωνήσετε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina. Συνήθως, απαιτείται αντικατάσταση της μονάδας σκληρού δίσκου.

Μπορείτε να συνεχίσετε με τα βήματα του καθορισμού παραμέτρων της εκτέλεσης και την κανονική λειτουργία. Ο σκοπός του μηνύματος είναι ο έγκαιρος προγραμματισμός των εργασιών συντήρησης για την αποφυγή διακοπών στην κανονική λειτουργία του οργάνου. Η προειδοποίηση RAID μπορεί να επβεβαιωθεί μόνο από χειριστή. Η χρήση του οργάνου μόνο με μία μονάδα σκληρού δίσκου μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια δεδομένων.

Διαμόρφωση ρυθμίσεων συστήματος

Το σύστημα διαμορφώνεται κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης. Ωστόσο, εάν απαιτείται αλλαγή ή εάν το σύστημα πρέπει να διαμορφωθεί εκ νέου, χρησιμοποιήστε τις επιλογές διαμόρφωσης συστήματος. Μόνο λογαριασμός διαχειριστή Windows έχει δικαίωμα πρόσβασης στις επιλογές διαμόρφωσης συστήματος.

- ▶ **Network Configuration** (Διαμόρφωση δικτύου) — Παρέχει επιλογές για τις ρυθμίσεις της διεύθυνσης IP, τη διεύθυνση του διακομιστή ονομάτων τομέα (DNS), το όνομα του υπολογιστή και το όνομα τομέα.

Ρύθμιση διαμόρφωσης δικτύου

- 1 Από την οθόνη «Manage Instrument» (Διαχείριση οργάνου), επιλέξτε **System Configuration** (Διαμόρφωση συστήματος).
- 2 Επιλέξτε **Obtain an IP address automatically** (Αυτόματη λήψη διεύθυνσης IP) για να λάβετε τη διεύθυνση IP μέσω διακομιστή DHCP.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Το πρωτόκολλο Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) είναι ένα τυπικό πρωτόκολλο δικτύου που χρησιμοποιείται σε δίκτυα IP για τη δυναμική διανομή παραμέτρων διαμόρφωσης δικτύου.

Εναλλακτικά, επιλέξτε **Use the following IP address** (Χρήση της παρακάτω διεύθυνσης IP) για να συνδέσετε με μη αυτόματο τρόπο το όργανο σε έναν άλλο διακομιστή ως εξής. Επικοινωνήστε με τον διαχειριστή του δικτύου για τις διευθύνσεις που αφορούν συγκεκριμένα τη μονάδα σας.

- ▶ Εισαγάγετε τη διεύθυνση IP. Η διεύθυνση IP είναι μια σειρά από 4 αριθμούς που χωρίζονται με μια τελεία, όπως το «168.62.20.37», για παράδειγμα.
- ▶ Εισαγάγετε τη μάσκα υποδικτύου, η οποία είναι μια υποδιαίρεση του δικτύου IP.
- ▶ Εισαγάγετε την προεπιλεγμένη πύλη, η οποία είναι ο δρομολογητής στο δίκτυο που συνδέεται με το διαδίκτυο.

- 3 Επιλέξτε **Obtain a DNS server address automatically** (Αυτόματη λήψη διεύθυνσης διακομιστή DNS) για τη σύνδεση του οργάνου στον διακομιστή του ονόματος τομέα που σχετίζεται με τη διεύθυνση IP.

Εναλλακτικά, επιλέξτε **Use the following DNS server addresses** (Χρήση των παρακάτω διευθύνσεων διακομιστή DNS) για μη αυτόματη σύνδεση του οργάνου στον διακομιστή του ονόματος τομέα ως εξής.

- ▶ Εισαγάγετε τη διεύθυνση DNS που θέλετε. Η διεύθυνση DNS είναι το όνομα διακομιστή που χρησιμοποιείται για τη μετάφραση των ονομάτων τομέα σε διευθύνσεις IP.
- ▶ Εισαγάγετε την εναλλακτική διεύθυνση DNS. Η εναλλακτική διεύθυνση χρησιμοποιείται αν η επιθυμητή διεύθυνση DNS δεν μπορεί να μεταφράσει ένα συγκεκριμένο όνομα τομέα σε μια διεύθυνση IP.

- 4 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση) για να προχωρήσετε στην οθόνη «Computer» (Υπολογιστής).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Το όνομα του υπολογιστή του οργάνου αντιστοιχίζεται στον υπολογιστή του οργάνου κατά την κατασκευή του. Τυχόν αλλαγές στο όνομα του υπολογιστή ενδέχεται να επηρεάσουν τη συνδεσιμότητα και πρέπει να γίνονται από έναν διαχειριστή του συστήματος.

- 5 Συνδέστε τον υπολογιστή του οργάνου σε έναν τομέα ή σε μια ομάδα εργασίας ως εξής.
 - ▶ **Για όργανα με σύνδεση στο διαδίκτυο** — Επιλέξτε **Member of Domain** (Μέλος τομέα) και, στη συνέχεια, εισαγάγετε το όνομα του τομέα που σχετίζεται με τη σύνδεση στο διαδίκτυο της μονάδας σας. Για τυχόν αλλαγές τομέα απαιτείται όνομα χρήστη και κωδικός πρόσβασης διαχειριστή.
 - ▶ **Για όργανα χωρίς σύνδεση στο διαδίκτυο** — Επιλέξτε **Member of Work Group** (Μέλος ομάδας εργασίας) και, στη συνέχεια, εισαγάγετε το όνομα μιας ομάδας εργασίας. Το όνομα της ομάδας εργασίας είναι μοναδικό για τη μονάδα σας.
- 6 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Ρύθμιση διαμόρφωσης ανάλυσης

- 1 Από την οθόνη «Manage Instrument» (Διαχείριση οργάνου), επιλέξτε **System Configuration** (Διαμόρφωση συστήματος).
- 2 Επιλέξτε **Analysis Configuration** (Διαμόρφωση ανάλυσης).
- 3 Επιλέξτε μεταξύ των παρακάτω επιλογών για να καθορίσετε μια θέση στην οποία θα μεταφέρονται τα δεδομένα για επόμενη ανάλυση.
 - ▶ Επιλέξτε **BaseSpace** για την αποστολή των δεδομένων αλληλούχισης στο BaseSpace της Illumina. **[Προαιρετικό]** Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Output Folder** (Φάκελος εξόδου), επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε σε μια δευτερεύουσα θέση δικτύου για να αποθηκεύετε τα αρχεία BCL επιπλέον του BaseSpace.
 - ▶ Επιλέξτε **BaseSpace Onsite**. Στο πεδίο «Server Name» (Όνομα διακομιστή), εισαγάγετε την πλήρη διαδρομή προς τον διακομιστή του BaseSpace Onsite. **[Προαιρετικό]** Επιλέξτε το πλαίσιο ελέγχου **Output Folder** (Φάκελος εξόδου), επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε σε μια δευτερεύουσα θέση δικτύου για να αποθηκεύετε τα αρχεία BCL επιπλέον του διακομιστή BaseSpace Onsite.
 - ▶ Επιλέξτε **Standalone instrument** (Αυτόνομο όργανο) για να αποθηκεύετε τα δεδομένα μόνο σε μια θέση δικτύου. Επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε στην προτιμώμενη θέση δικτύου. Το λογισμικό ελέγχου δημιουργεί αυτόματα το όνομα του φακέλου εξόδου.
 - ▶ **[Προαιρετικό]** Επιλέξτε **Use Run Monitoring** (Χρήση παρακολούθησης εκτέλεσης) για να παρακολουθείτε την εκτέλεση με χρήση εργαλείων απεικόνισης στο BaseSpace. Απαιτείται σύνδεση στο BaseSpace και σύνδεση στο διαδίκτυο.
- 4 Εάν επιλέξατε το BaseSpace ή το BaseSpace Onsite, ορίστε τις παραμέτρους του BaseSpace ως εξής.
 - ▶ Εισαγάγετε ένα **User Name** (Όνομα χρήστη) και ένα **Password** (Κωδικός πρόσβασης) στο BaseSpace για να καταχωρίσετε το όργανο με BaseSpace.
 - ▶ Επιλέξτε **Use default login and bypass the BaseSpace login screen** (Χρήση σύνδεσης προεπιλογής και παράκαμψη της οθόνης σύνδεσης του BaseSpace) για να ορίσετε το καταχωρισμένο όνομα χρήστη και κωδικό πρόσβασης ως τη σύνδεση προεπιλογής. Με αυτήν τη ρύθμιση, η οθόνη του BaseSpace παρακάμπτεται κατά τη διάρκεια του καθορισμού παραμέτρων εκτέλεσης.
- 5 Επιλέξτε **Send Instrument Performance Data to Illumina** για να ενεργοποιήσετε την υπηρεσία προληπτικής παρακολούθησης της Illumina. Το όνομα της ρύθμισης στη διεπαφή του λογισμικού ενδέχεται να διαφέρει από το όνομα που αναφέρεται στον παρόντα οδηγό, ανάλογα με την έκδοση του NCS που χρησιμοποιείτε.

Όταν αυτή η ρύθμιση είναι ενεργοποιημένη, γίνεται αποστολή των δεδομένων απόδοσης του οργάνου στην Illumina. Τα δεδομένα αυτά βοηθούν την Illumina να αντιμετωπίσει τα προβλήματα ευκολότερα και να εντοπίσει πιθανές αποτυχίες, καθιστώντας δυνατή την προληπτική συντήρηση και μεγιστοποιώντας τον χρόνο λειτουργικότητας του οργάνου. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα πλεονεκτήματα αυτής της υπηρεσίας, ανατρέξτε στο *Τεχνικό σημείωμα για την προληπτική συντήρηση της Illumina (αρ. εγγράφου 1000000052503)*.

Η συγκεκριμένη υπηρεσία:

- ▶ Δεν αποστέλλει δεδομένα αλληλούχισης
- ▶ Για να τη χρησιμοποιήσετε απαιτείται το όργανο να είναι συνδεδεμένο σε δίκτυο με πρόσβαση στο διαδίκτυο
- ▶ Είναι απενεργοποιημένη από προεπιλογή. Για να χρησιμοποιήσετε αυτήν την υπηρεσία, ενεργοποιήστε τη ρύθμιση **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Αποστολή δεδομένων απόδοσης οργάνου στην Illumina).

6 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip

- 1 Από την οθόνη «Manage Instrument» (Διαχείριση οργάνου), επιλέξτε **System Configuration** (Διαμόρφωση συστήματος).
- 2 Επιλέξτε **BeadChip Scan Configuration** (Διαμόρφωση σάρωσης BeadChip).
- 3 Για να καθορίσετε μια θέση φακέλου DMAP προεπιλογής, επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε στην προτεινόμενη θέση φακέλου στο δίκτυο της μονάδας σας.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Μετά από κάθε σάρωση, πραγματοποιείτε λήψη και αντιγράφετε το περιεχόμενο DMAP σε αυτήν τη θέση. Το περιεχόμενο DMAP απαιτείται για κάθε BeadChip και είναι μοναδικό για κάθε γραμμωτό κώδικα BeadChip.

- 4 Για να καθορίσετε μια θέση εξόδου προεπιλογής, επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) και μεταβείτε στην προτεινόμενη θέση στο δίκτυο της μονάδας σας.
- 5 Επιλέξτε μια μορφή αρχείου εικόνας για τις αποθηκευμένες εικόνες. Ο προεπιλεγμένος τύπος εικόνας είναι **JPG**.
- 6 Επιλέξτε μια μορφή αρχείου εξόδου για τα δεδομένα σάρωσης. Ο προεπιλεγμένος τύπος αρχείου εξόδου είναι **GTC μόνο**.
- 7 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).
- 8 Από την οθόνη «Scan Map» (Αντιστοίχιση σάρωσης), καθορίστε την πλήρη διαδρομή προς το αρχείο δελτίου δείγματος και το αρχείο συστάδων για κάθε τύπο BeadChip. Επιλέξτε **Browse** (Αναζήτηση) για κάθε τύπο αρχείου και μεταβείτε στη θέση φακέλου που περιέχει αυτά τα αρχεία.
- 9 **[Προαιρετικό]** Επιλέξτε **Hide Obsolete BeadChips** (Απόκρυψη παρωχημένων Beadchip) ώστε να μην εμφανίζονται τα παρωχημένα BeadChip.
- 10 Επιλέξτε **Save** (Αποθήκευση).

Παράρτημα Β Real-Time Analysis

Επισκόπηση Real-Time Analysis	59
Ροή εργασιών Real-Time Analysis	60

Επισκόπηση Real-Time Analysis

Το όργανο NextSeq 550Dx χρησιμοποιεί μια εφαρμογή του λογισμικού Real-Time Analysis (RTA) που ονομάζεται RTA2. Το RTA2 εκτελείται στον υπολογιστή του οργάνου και εξάγει τις εντάσεις από τις εικόνες, πραγματοποιεί την αντιστοίχιση βάσης και βαθμολογεί την ποιότητα της αντιστοίχισης βάσης. Το RTA2 και το λογισμικό λειτουργίας επικοινωνούν μέσω διαδικτυακής διεπαφής HTTP και κοινόχρηστων αρχείων μνήμης. Εάν τερματιστεί το RTA2, η επεξεργασία δεν συνεχίζεται και δεν αποθηκεύονται τα δεδομένα εκτέλεσης.

Δεδομένα εισόδου του RTA2

Το RTA2 απαιτεί τα ακόλουθα δεδομένα εισόδου για επεξεργασία:

- ▶ Εικόνες πλακιδίων που περιέχονται στην τοπική μνήμη του συστήματος.
- ▶ Το αρχείο **RunInfo.xml**, το οποίο δημιουργείται αυτόματα κατά την έναρξη της εκτέλεσης και παρέχει το όνομα της εκτέλεσης, τον αριθμό των κύκλων, εάν μια ανάγνωση έχει ευρετηριαστεί και τον αριθμό των πλακιδίων στην κυψελίδα ροής.
- ▶ Το αρχείο **RTA.exe.config**, το οποίο είναι ένα αρχείο διαμόρφωσης λογισμικού σε μορφή XML.

Το RTA2 λαμβάνει εντολές από το λογισμικό λειτουργίας σχετικά με τη θέση του αρχείου **RunInfo.xml** και με το εάν έχει καθοριστεί προαιρετικός φάκελος εξόδου.

Αρχεία εξόδου RTA2

Οι εικόνες για κάθε κανάλι **περνιούνται** στη μνήμη ως πλακίδια. Τα πλακίδια είναι μικρές περιοχές απεικόνισης στην κυψελίδα ροής που ορίζονται ως το οπτικό πεδίο της κάμερας. Από αυτές τις εικόνες, το λογισμικό δημιουργεί αρχεία εξόδου ως ένα σύνολο αρχείων αντιστοίχισης βάσης, βαθμολογημένων ως προς την ποιότητα, και αρχείων φίλτρου. Όλα τα υπόλοιπα αρχεία υποστηρίζουν τα αρχεία εξόδου.

Τύπος αρχείου	Περιγραφή
Αρχεία αντιστοίχισης βάσης	Κάθε πλακίδιο που αναλύεται συμπεριλαμβάνεται σε ένα συγκεντρωτικό αρχείο αντιστοίχισης βάσης (*.bcl.bgzf) για κάθε λωρίδα και κάθε κύκλο. Το συγκεντρωτικό αρχείο αντιστοίχισης βάσης περιέχει την αντιστοίχιση βάσης και την αντίστοιχη βαθμολογία ποιότητας για κάθε συστάδα στη συγκεκριμένη λωρίδα.
Αρχεία φίλτρου	Κάθε πλακίδιο δημιουργεί πληροφορίες φίλτρου που συγκεντρώνονται σε 1 αρχείο φίλτρου (*.filter) για κάθε λωρίδα. Το αρχείο φίλτρου καθορίζει εάν μια συστάδα διέρχεται από τα φίλτρα.
Αρχεία θέσεων συστάδων	Τα αρχεία θέσης συστάδας (*.locs) περιέχουν τις συντεταγμένες X,Y για κάθε συστάδα σε ένα πλακίδιο. Αρχείο θέσης συστάδας δημιουργείται για κάθε λωρίδα κατά τη διάρκεια της δημιουργίας προτύπου.
Αρχεία ευρετηρίου αντιστοίχισης βάσης	Ένα αρχείο ευρετηρίου αντιστοίχισης βάσης (*.bci) παράγεται για κάθε λωρίδα για τη διατήρηση των αρχικών πληροφοριών των πλακιδίων. Το αρχείο ευρετηρίου περιέχει ένα ζεύγος τιμών για κάθε πλακίδιο, οι οποίες είναι ο αριθμός του πλακιδίου και ο αριθμός των συστάδων για το συγκεκριμένο πλακίδιο.

Το RTA2 παρέχει μετρήσεις σε πραγματικό χρόνο σχετικά με την ποιότητα της εκτέλεσης, οι οποίες αποθηκεύονται ως αρχεία InterOp. Τα αρχεία InterOp είναι δυαδικά δεδομένα εξόδου που περιέχουν μετρήσεις για το πλακίδιο, τον κύκλο και το επίπεδο της ανάγνωσης.

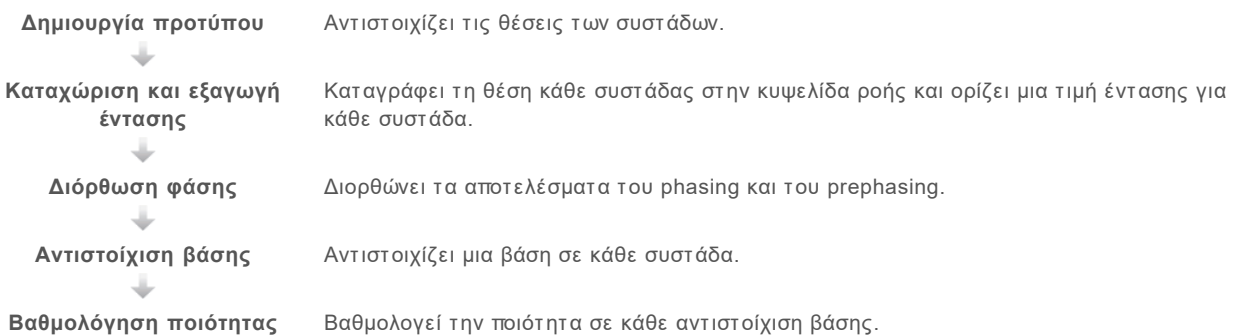
Χειρισμός σφαλμάτων

Το RTA2 δημιουργεί αρχεία καταγραφής και τα εγγράφει στον φάκελο RTALogs. Τα σφάλματα καταγράφονται σε ένα αρχείο σφαλμάτων μορφής *.tsv.

Τα ακόλουθα αρχεία καταγραφής και σφαλμάτων μεταφέρονται στον τελικό προορισμό εξόδου στο τέλος της επεξεργασίας:

- ▶ Το *GlobalLog*.tsv συνοψίζει σημαντικά συμβάντα εκτέλεσης.
- ▶ Το *LaneNLog*.tsv περιλαμβάνει τα συμβάντα επεξεργασίας για κάθε λωρίδα.
- ▶ Το *Error*.tsv περιλαμβάνει τα σφάλματα που εμφανίστηκαν κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.
- ▶ Το *WarningLog*.tsv περιλαμβάνει τις προειδοποιήσεις που εμφανίστηκαν κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης.

Ροή εργασιών Real-Time Analysis



Δημιουργία προτύπου

Το πρώτο βήμα στη ροή εργασιών του RTA είναι η δημιουργία προτύπου, η οποία ορίζει τη θέση κάθε συστάδας σε ένα πλακίδιο, χρησιμοποιώντας συντεταγμένες X και Y.

Για τη δημιουργία προτύπου απαιτούνται δεδομένα εικόνων από τους 5 πρώτους κύκλους της εκτέλεσης. Μετά την απεικόνιση του τελευταίου κύκλου του προτύπου ενός πλακιδίου, η δημιουργία του προτύπου ολοκληρώνεται.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Για την ανίχνευση μιας συστάδας κατά τη διαδικασία δημιουργίας του προτύπου, πρέπει να υπάρχει τουλάχιστον 1 βάση πέραν της G στους πρώτους 5 κύκλους. Για τυχόν αλληλουχίες ευρετηρίου, το RTA2 απαιτεί τουλάχιστον 1 βάση πέραν της G στους πρώτους 2 κύκλους.

Το πρότυπο χρησιμοποιείται ως αναφορά για το επόμενο βήμα της καταχώρισης και της εξαγωγής εντάσεων. Οι θέσεις των συστάδων για ολόκληρη την κυψελίδα ροής εγγράφονται στα αρχεία θέσης συστάδων (*.locs), όπου 1 αρχείο αντιστοιχεί σε κάθε λωρίδα.

Καταχώριση και εξαγωγή έντασης

Η καταχώριση και η εξαγωγή έντασης ξεκινούν μετά τη δημιουργία ενός προτύπου.

- ▶ Η καταχώριση ευθυγραμμίζει τις εικόνες που δημιουργήθηκαν σε κάθε επακόλουθο κύκλο απεικόνισης σε σχέση με το πρότυπο.
- ▶ Η εξαγωγή έντασης καθορίζει την τιμή της έντασης για κάθε συστάδα στο πρότυπο σε μια δεδομένη εικόνα.

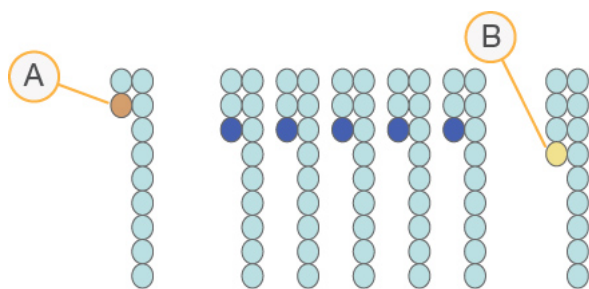
Εάν αποτύχει η καταχώριση για οποιεσδήποτε εικόνες σε έναν κύκλο, δεν δημιουργούνται αντιστοιχίσεις βάσης για το συγκεκριμένο πλακίδιο στον συγκεκριμένο κύκλο.

Διόρθωση φάσης

Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης αλληλούχισης, κάθε αλυσίδα DNA σε μια συστάδα επιμηκύνεται κατά 1 βάση ανά κύκλο. Το phasing (καθυστέρηση βάσης) και το prephasing (προχώρηση βάσης) συμβαίνουν όταν μια αλυσίδα βρίσκεται εκτός φάσης στον τρέχοντα κύκλο ενσωμάτωσης.

- ▶ Το phasing (καθυστέρηση βάσης) συμβαίνει όταν η επιμήκυνση καθυστερεί κατά μία βάση.
- ▶ Το prephasing (προχώρηση βάσης) συμβαίνει όταν η επιμήκυνση προηγείται κατά μία βάση.

Εικόνα 29 Phasing και Prephasing



- A Ανάγνωση με μια βάση που καθυστερεί
- B Ανάγνωση με μια βάση που προηγείται.

Το RTA2 διορθώνει τα αποτελέσματα του phasing (καθυστέρηση βάσης) και του prephasing (προχώρηση βάσης) και μεγιστοποιεί την ποιότητα των δεδομένων σε κάθε κύκλο καθ' όλη τη διάρκεια της εκτέλεσης.

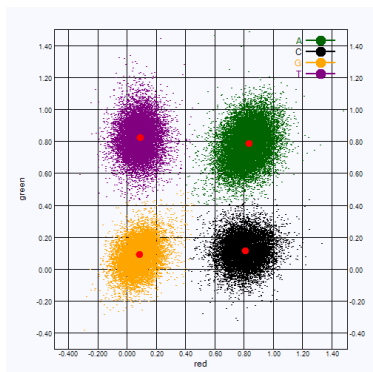
Αντιστοίχιση βάσης

Η αντιστοίχιση βάσης αντιστοιχίζει μια βάση (A, C, G ή T) σε κάθε συστάδα ενός δεδομένου πλακιδίου σε έναν συγκεκριμένο κύκλο. Το όργανο NextSeq 550Dx χρησιμοποιεί αλληλούχιση 2 καναλιών,

η οποία απαιτεί μόνο 2 εικόνες για την κωδικοποίηση των δεδομένων για 4 βάσεις DNA, 1 από το κόκκινο κανάλι και 1 από το πράσινο κανάλι.

Οι εντάσεις που εξάγονται από μια εικόνα και συγκρίνονται με μια άλλη εικόνα έχουν ως αποτέλεσμα τέσσερις διακριτούς πληθυσμούς, καθένας από τους οποίους αντιστοιχεί σε ένα νουκλεοτίδιο. Η διαδικασία αντιστοίχισης βάσης προσδιορίζει σε ποιον πληθυσμό ανήκει κάθε συστάδα.

Εικόνα 30 Απεικόνιση των εντάσεων των συστάδων



Πίνακας 1 Αντιστοιχίσεις βάσης σε αλληλούχιση δύο καναλιών

Βάση	Κόκκινο κανάλι	Πράσινο κανάλι	Αποτέλεσμα
A	1 (ενεργ.)	1 (ενεργ.)	Συστάδες που εμφανίζουν ένταση τόσο στο κόκκινο όσο και στο πράσινο κανάλι.
C	1 (ενεργ.)	0 (απενερ.)	Συστάδες που εμφανίζουν ένταση μόνο στο κόκκινο κανάλι.
G	0 (απενερ.)	0 (απενερ.)	Συστάδες που δεν εμφανίζουν ένταση σε μια γνωστή θέση συστάδας.
T	0 (απενερ.)	1 (ενεργ.)	Συστάδες που εμφανίζουν ένταση μόνο στο πράσινο κανάλι.

Φίλτρο διέλευσης συστάδων

Κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης, το RTA2 φιλτράρει τα μη επεξεργασμένα δεδομένα για να αφαιρεθούν οι αναγνώσεις που δεν ικανοποιούν το κατώφλι ποιότητας των δεδομένων. Οι αλληλοεπικαλυπτόμενες και οι χαμηλής ποιότητας συστάδες απομακρύνονται.

Για την ανάλυση δύο καναλιών, το RTA2 χρησιμοποιεί ένα σύστημα βασισμένο στον πληθυσμό για να προσδιορίσει την αγνότητα μιας αντιστοίχισης βάσης. Οι συστάδες διέρχονται από το φίλτρο (pass filter, PF) όταν μόνο μία αντιστοίχιση βάσης στους πρώτους 25 κύκλους έχει αγνότητα < 0,63. Οι συστάδες που δεν διέρχονται από το φίλτρο δεν αντιστοιχίζονται σε βάση.

Ζητήματα ευρετηρίασης

Η διαδικασία για αναγνώσεις ευρετηρίου αντιστοίχισης βάσης διαφέρει από την αντιστοίχιση βάσης κατά τη διάρκεια άλλων αναγνώσεων.

Οι αναγνώσεις ευρετηρίου πρέπει να ξεκινούν τουλάχιστον με 1 βάση εκτός της G σε έναν από τους πρώτους 2 κύκλους. Εάν μια ανάγνωση ευρετηρίου ξεκινά με 2 αντιστοιχίσεις βάσεις της G, δεν δημιουργείται ένταση σήματος. Για τη διασφάλιση της απόδοσης της αποπολύπλεξης, πρέπει να υπάρχει σήμα σε οποιονδήποτε από τους πρώτους 2 κύκλους.

Για την αύξηση της ισχύος της αποπολύπλεξης, επλέξτε αλληλουχίες ευρετηρίου που παρέχουν σήμα σε τουλάχιστον 1 κανάλι, κατά προτίμηση και στα δύο κανάλια, για κάθε κύκλο. Με την τήρηση αυτής της κατευθυντήριας γραμμής αποφεύγονται οι συνδυασμοί ευρετηρίων που οδηγούν μόνο σε βάσεις G σε οποιονδήποτε κύκλο.

- ▶ Κόκκινο κανάλι — A ή C
- ▶ Πράσινο κανάλι — A ή T

Αυτή η διαδικασία αντιστοίχισης βάσης εξασφαλίζει ακρίβεια κατά την ανάλυση μικρότερου αριθμού δειγμάτων.

Βαθμολόγηση ποιότητας

Η βαθμολογία ποιότητας, ή Q-score, αποτελεί μια πρόβλεψη της πιθανότητας εσφαλμένης αντιστοίχισης βάσης. Ένα υψηλότερο Q-score υποδηλώνει ότι η αντιστοίχιση βάσης είναι υψηλότερης ποιότητας και πιο πιθανό να είναι σωστή.

Το Q-score είναι ένας εύχρηστος τρόπος έκφρασης μικρών πιθανοτήτων σφάλματος. Οι βαθμολογίες ποιότητας παριστάνονται με $Q(X)$, όπου X είναι η βαθμολογία. Ο ακόλουθος πίνακας δείχνει τη σχέση μεταξύ της βαθμολογίας ποιότητας και της πιθανότητας σφάλματος.

Q-Score $Q(X)$	Πιθανότητα σφάλματος
Q40	0,0001 (1 σε 10.000)
Q30	0,001 (1 σε 1.000)
Q20	0,01 (1 σε 100)
Q10	0,1 (1 σε 10)

ΣΗΜΕΙΩΣΗ Η βαθμολόγηση της ποιότητας βασίζεται σε μια τροποποιημένη έκδοση του αλγορίθμου Phred.

Η βαθμολόγηση της ποιότητας υπολογίζει ένα σύνολο ανεξάρτητων μεταβλητών για κάθε αντιστοίχιση βάσης και κατόπιν χρησιμοποιεί τις τιμές των μεταβλητών για την εύρεση του Q-score σε έναν πίνακα ποιότητας. Οι πίνακες ποιότητας δημιουργούνται για να παρέχουν προβλέψεις ως προς την ποιότητα με τη βέλτιστη ακρίβεια για εκτελέσεις που δημιουργούνται από μια συγκεκριμένη διαμόρφωση πλατφόρμας αλληλούχισης και έκδοσης χημικής ανάλυσης.

Μετά τον προσδιορισμό του Q-score, τα αποτελέσματα καταγράφονται σε αρχεία αντιστοίχισης βάσης (*.bcl.bgzf).

Παράρτημα C Αρχεία και φάκελοι εξόδου

Αρχεία εξόδου αλληλούχισης	65
Δομή φακέλου εξόδου	68
Αρχεία εξόδου σάρωσης	69
Δομή φακέλου εξόδου σάρωσης	69

Αρχεία εξόδου αλληλούχισης

Τύπος αρχείου	Περιγραφή, θέση και όνομα αρχείου
Αρχεία αντιστοίχισης βάσης	Κάθε πλακίδιο που αναλύεται περιλαμβάνεται σε ένα αρχείο αντιστοίχισης βάσης και όλα τα πλακίδια συγκεντρώνονται σε 1 αρχείο για κάθε λωρίδα, για κάθε κύκλο. Το συγκεντρωτικό αρχείο περιέχει την αντιστοίχιση βάσης και την κωδικοποιημένη βαθμολογία ποιότητας για κάθε συστάδα. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — Τα αρχεία αποθηκεύονται σε 1 φάκελο για κάθε λωρίδα. [Cycle].bcl.bgzf , όπου το [Cycle] αντιπροσωπεύει τον αριθμό του κύκλου με 4 ψηφία. Τα αρχεία αντιστοίχισης βάσης συμπέζονται με χρήση συμπίεσης block gzip.
Αρχείο ευρετηρίου αντιστοίχισης βάσης	Για κάθε λωρίδα, ένα δυαδικό αρχείο ευρετηρίου περιέχει τις αρχικές πληροφορίες των πλακιδίων σε ένα ζεύγος τιμών για κάθε πλακίδιο, οι οποίες είναι ο αριθμός του πλακιδίου και ο αριθμός των συστάδων για το πλακίδιο. Τα αρχεία ευρετηρίου αντιστοίχισης βάσης δημιουργούνται την πρώτη φορά που δημιουργείται ένα αρχείο αντιστοίχισης βάσης για τη συγκεκριμένη λωρίδα. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — Τα αρχεία αποθηκεύονται σε 1 φάκελο για κάθε λωρίδα. s_[Lane].bci
Αρχεία θέσεων συστάδων	Για κάθε πλακίδιο, οι συντεταγμένες XY για κάθε συστάδα συγκεντρώνονται σε 1 αρχείο θέσης συστάδων για κάθε λωρίδα. Τα αρχεία θέσης συστάδων είναι αποτέλεσμα της δημιουργίας προτύπων. Data\Intensities\L00[X] — Τα αρχεία αποθηκεύονται σε 1 φάκελο για κάθε λωρίδα. s_[lane].locs
Αρχεία φίλτρου	Το αρχείο φίλτρου καθορίζει εάν μια συστάδα διήλθε από τα φίλτρα. Οι πληροφορίες των φίλτρων συγκεντρώνονται σε 1 αρχείο φίλτρου για κάθε λωρίδα και ανάγνωση. Τα αρχεία φίλτρου δημιουργούνται στον κύκλο 26 χρησιμοποιώντας 25 κύκλους δεδομένων. Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — Τα αρχεία αποθηκεύονται σε 1 φάκελο για κάθε λωρίδα. s_[lane].filter
Αρχεία InterOp	Δυαδικά αρχεία αναφοράς. Τα αρχεία InterOp ενημερώνονται καθ' όλη τη διάρκεια της εκτέλεσης. Φάκελος InterOp
Αρχείο διαμόρφωσης RTA	Το αρχείο διαμόρφωσης RTA δημιουργείται στην αρχή της εκτέλεσης και περιλαμβάνει τις ρυθμίσεις της εκτέλεσης. [Root folder], RTAConfiguration.xml
Αρχείο πληροφοριών εκτέλεσης	Περιλαμβάνει το όνομα της εκτέλεσης, τον αριθμό των κύκλων σε κάθε ανάγνωση, το εάν η ανάγνωση έχει ευρετηριαστεί και τον αριθμό των ζωνών και των πλακιδίων στην κυψελίδα ροής. Το αρχείο πληροφοριών εκτέλεσης δημιουργείται κατά την έναρξη της εκτέλεσης. [Root folder], RunInfo.xml

Πλακίδια κυψελίδας ροής

Τα πλακίδια είναι μικρές περιοχές απεικόνισης στην κυψελίδα ροής που ορίζονται ως το οπτικό πεδίο της κάμερας. Ο συνολικός αριθμός των πλακιδίων εξαρτάται από τον αριθμό των λωρίδων, των ζωνών και των επιφανειών που απεικονίζονται στην κυψελίδα ροής, αλλά και από το πώς οι κάμερες λειτουργούν συνδυαστικά για τη συλλογή των εικόνων. Οι κυψελίδες ροής υψηλής απόδοσης έχουν συνολικά 864 πλακίδια.

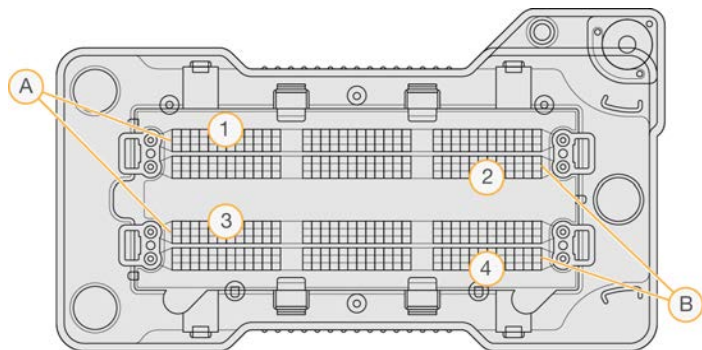
Πίνακας 2 Πλακίδια κυψελίδας ροής

Στοιχείο κυψελίδας ροής	Υψηλή απόδοση	Περιγραφή
Λωρίδες	4	Μια λωρίδα είναι ένα φυσικό κανάλι με αποκλειστικές θύρες εισόδου και εξόδου.
Επιφάνειες	2	Η κυψελίδα ροής απεικονίζεται σε 2 επιφάνειες, την επάνω και την κάτω. Απεικονίζεται η επάνω επιφάνεια 1 πλακιδίου και, στη συνέχεια, απεικονίζεται η κάτω πλευρά του ίδιου πλακιδίου, προτού ξεκινήσει η απεικόνιση του επόμενου πλακιδίου.
Ζώνες ανά λωρίδα	3	Η ζώνη είναι μια στήλη πλακιδίων σε μια λωρίδα.
Τμήματα κάμερας	3	Το όργανο χρησιμοποιεί 6 κάμερες για την απεικόνιση της κυψελίδας ροής σε 3 τμήματα για κάθε λωρίδα.
Πλακίδια ανά ζώνη ανά τμήμα κάμερας	12	Ένα πλακίδιο είναι η περιοχή της κυψελίδας ροής που η κάμερα βλέπει ως 1 εικόνα.
Σύνολο απεικονιζόμενων πλακιδίων	864	Ο συνολικός αριθμός πλακιδίων ισοδυναμεί με: λωρίδες × επιφάνειες × ζώνες × τμήματα κάμερας × πλακίδια ανά ζώνη ανά τμήμα.

Αρίθμηση λωρίδων

Οι λωρίδες 1 και 3 ονομάζονται «ζεύγος λωρίδων Α» και απεικονίζονται ταυτόχρονα. Οι λωρίδες 2 και 4 ονομάζονται «ζεύγος λωρίδων Β» και απεικονίζονται όταν ολοκληρωθεί η απεικόνιση του ζεύγους Α.

Εικόνα 31 Αρίθμηση λωρίδων

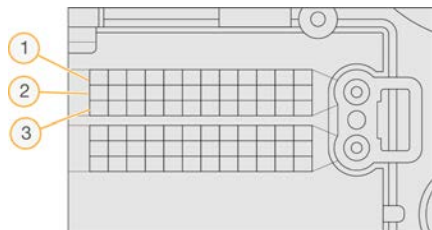


- A Ζεύγος λωρίδων Α — Λωρίδες 1 και 3
- B Ζεύγος λωρίδων Β — Λωρίδες 2 και 4

Αρίθμηση ζωνών

Κάθε λωρίδα απεικονίζεται σε 3 ζώνες. Οι ζώνες φέρουν τους αριθμούς 1–3 για κυψελίδες ροής υψηλής απόδοσης.

Εικόνα 32 Αρίθμηση ζωνών

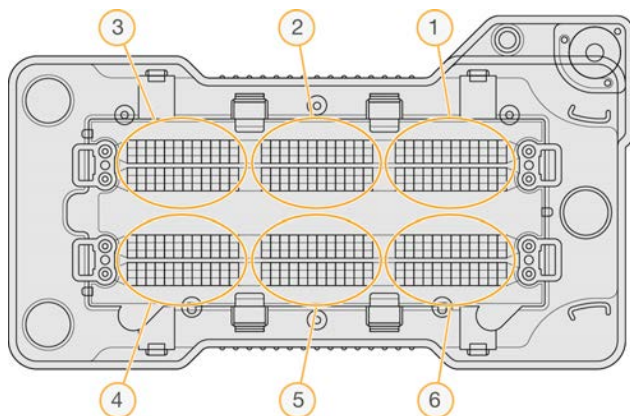


Αρίθμηση καμερών

Το όργανο NextSeq 550Dx χρησιμοποιεί 6 κάμερες για την απεικόνιση της κυψελίδας ροής.

Οι κάμερες έχουν αριθμούς 1–6. Οι κάμερες 1–3 χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση της λωρίδας 1. Οι κάμερες 4–6 χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση της λωρίδας 3. Μετά την απεικόνιση των λωρίδων 1 και 3, η μονάδα απεικόνισης περνά στον άξονα X για την απεικόνιση των λωρίδων 2 και 4.

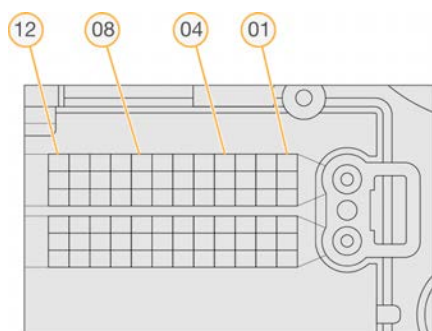
Εικόνα 33 Αρίθμηση καμερών και τμημάτων (Απεικονίζεται κυψελίδα ροής υψηλής απόδοσης)



Αρίθμηση πλακιδίων

Σε κάθε ζώνη κάθε τμήματος κάμερας υπάρχουν 12 πλακίδια. Τα πλακίδια φέρουν τους αριθμούς 01–12, ανεξάρτητα από τον αριθμό της ζώνης ή του τμήματος της κάμερας και αναπαριστώνται με 2 ψηφία.

Εικόνα 34 Αρίθμηση πλακιδίων



Στην πλήρη μορφή της αρίθμησης των πλακιδίων περιλαμβάνονται 5 ψηφία για την αποτύπωση της θέσης των πλακιδίων, ως εξής:

- ▶ **Επιφάνεια** — Το 1 δηλώνει την επάνω επιφάνεια, το 2 δηλώνει την κάτω επιφάνεια
- ▶ **Ζώνη** — 1, 2 ή 3
- ▶ **Κάμερα** — 1, 2, 3, 4, 5 ή 6
- ▶ **Πλακίδιο** — 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 ή 12

Παράδειγμα: Ο αριθμός πλακιδίου «12508» υποδεικνύει την εξής θέση: επάνω επιφάνεια, ζώνη 2, κάμερα 5 και πλακίδιο 8.

Ο πλήρης αριθμός πλακιδίου 5 ψηφίων χρησιμοποιείται στο όνομα του αρχείου στις εικόνες μικρογραφιών και σε αρχεία εμπειρικού phasing (καθυστέρηση βάσης). Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε την ενότητα [Αρχεία εξόδου αλληλούχισης στη σελίδα 65](#).

Δομή φακέλου εξόδου

Το λογισμικό λειτουργίας δημιουργεί αυτόματα το όνομα του φακέλου εξόδου.

📁 Data

📁 Intensities

📁 BaseCalls

📁 **L001** — Αρχεία αντιστοίχισης βάσης για τη λωρίδα 1, συγκεντρωμένα σε 1 αρχείο ανά κύκλο.

📁 **L002** — Αρχεία αντιστοίχισης βάσης για τη λωρίδα 2, συγκεντρωμένα σε 1 αρχείο ανά κύκλο.

📁 **L003** — Αρχεία αντιστοίχισης βάσης για τη λωρίδα 3, συγκεντρωμένα σε 1 αρχείο ανά κύκλο.

📁 **L004** — Αρχεία αντιστοίχισης βάσης για τη λωρίδα 4, συγκεντρωμένα σε 1 αρχείο ανά κύκλο.

📁 **L001** — Ένα συγκεντρωτικό αρχείο *.locs για τη λωρίδα 1.

📁 **L002** — Ένα συγκεντρωτικό αρχείο *.locs για τη λωρίδα 2.

📁 **L003** — Ένα συγκεντρωτικό αρχείο *.locs για τη λωρίδα 3.

📁 **L004** — Ένα συγκεντρωτικό αρχείο *.locs για τη λωρίδα 4.

📁 Images

📁 Focus

📁 **L001** — Εικόνες εστίασης για τη λωρίδα 1.

📁 **L002** — Εικόνες εστίασης για τη λωρίδα 2.

📁 **L003** — Εικόνες εστίασης για τη λωρίδα 3.

📁 **L004** — Εικόνες εστίασης για τη λωρίδα 4.

📁 **InterOp** — Δυαδικά αρχεία.

📁 **Logs** — Αρχεία καταγραφής που περιγράφουν τα λειτουργικά βήματα.

📁 **Recipe** — Αρχείο συνταγής για συγκεκριμένη εκτέλεση που φέρει ως όνομα το αναγνωριστικό της κασέτας αντιδραστηρίων.

RTALogs — Αρχεία καταγραφής που περιγράφουν βήματα ανάλυσης.

- RTAComplete.txt
- RTAConfiguration.xml
- RunInfo.xml
- RunParameters.xml

Αρχεία εξόδου σάρωσης

Τύπος αρχείου	Περιγραφή, θέση και όνομα αρχείου
Αρχεία GTC	Αρχείο αντιστοίχισης γονοτύπου. Ένα αρχείο GTC δημιουργείται για κάθε δείγμα που σαρώνεται στο BeadChip. Το όνομα του αρχείου περιλαμβάνει το γραμμωτό κώδικα και το δείγμα που σαρώθηκε. [barcode]_[sample].gtc
Αρχεία εικόνας	Τα αρχεία εικόνας ονομάζονται σύμφωνα με την περιοχή που σαρώθηκε στο BeadChip. Το όνομα περιλαμβάνει τον γραμμωτό κώδικα, το δείγμα και το τμήμα στο BeadChip, τη ζώνη και το κανάλι απεικόνισης (κόκκινο ή πράσινο). [barcode]_[sample]_[section]_[swath]_[camera]_[tile]_[channel].jpg <ul style="list-style-type: none"> • Γραμμωτός κώδικας — Το όνομα του αρχείου αρχίζει με τον γραμμωτό κώδικα του BeadChip. • Δείγμα — Περιοχή του BeadChip, η οποία αριθμείται ως σειρά (R0X), από πάνω προς τα κάτω, και ως στήλη (C0X), από αριστερά προς τα δεξιά. • Τμήμα — Αριθμημένη σειρά εντός ενός δείγματος. • Ζώνη — Τα BeadChip απεικονίζονται ως συλλογή αλληλοεπικαλυπτόμενων πλακιδίων. Συνεπώς, χρησιμοποιείται μόνο 1 ζώνη για την απεικόνιση του τμήματος. • Κάμερα — Η κάμερα που χρησιμοποιείται για τη συλλογή της εικόνας. • Πλακίδιο — Περιοχή απεικόνισης που ορίζεται ως το οπτικό πεδίο από την κάμερα. • Κανάλι — Ένα κανάλι είναι είτε κόκκινο είτε πράσινο.

Δομή φακέλου εξόδου σάρωσης

[Date]_[Instrument Name]_[Scan#]_[Barcode]

[Barcode]

Config

Effective.cfg — Καταγράφει τις ρυθμίσεις παραμέτρων που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της σάρωσης.

Focus — Περιέχει τα αρχεία εικόνας που χρησιμοποιούνται για την εστίαση της σάρωσης.

Logs — Περιέχει αρχεία καταγραφής στα οποία αναφέρεται κάθε βήμα που εκτελέστηκε κατά τη διάρκεια της σάρωσης.

PreScanDiagnosticFiles

[Date_Time] Barcode Scan

ProcessedBarcode.jpg — Εικόνα του γραμμωτού κώδικα του BeadChip.

Διαγνωστικά σάρωσης (αρχεία καταγραφής)

PreScanChecks.csv — Καταγράφει τα αποτελέσματα του αυτόματου ελέγχου.

Αρχεία GTC — Αρχεία αντιστοίχισης γονοτύπου (1 αρχείο ανά δείγμα).

- ☐ Αρχεία IDAT — [Προαιρετικό] Αρχεία δεδομένων έντασης (2 αρχεία ανά δείγμα, 1 ανά κανάλι).
- ☐ Αρχεία εικόνας — Εικόνες σάρωσης για κάθε δείγμα, τμήμα, ζώνη, κάμερα, πλακίδιο και κανάλι.
- ☐ [Barcode]_sample_metrics.csv
- ☐ [Barcode]_section_metrics.csv
- ☐ ScanParameters.xml

Ευρετήριο

B

BaseSpace 57
 σύνδεση 18
BeadChip
 αδυναμία ανάγνωσης γραμμωτού κώδικα 53
 ανάλυση 1
 αποτυχία καταχώρισης 54
 προσανατολισμός γραμμωτού κώδικα 31
 προσαρμογέας 6, 31
 τύποι 1
 φόρτιση 33

D

Decode File Client 29
 πρόσβαση από BeadChip 31
 πρόσβαση από λογαριασμό 31

P

phasing (καθυστέρηση βάσης), prephasing (προχώρηση βάσης) 61
purge consumables 13

R

RunInfo.xml 47, 65

S

sequencing workflow 16
system settings 12

U

Universal Copy Service 27

W

Windows
 έξοδος 45

A

αλγόριθμος Phred 63

αλληλούχιση
 αναλώσιμα παρεχόμενα από τον χρήστη 13
 εισαγωγή 15
ανάλυση
 αρχεία εξόδου 65
ανάλυση, κύρια
 καθαρότητα σήματος 62
αναλώσιμα 7
 αναλώσιμα έκπλυσης 37, 39
 εκτελέσεις αλληλούχισης 13
 κασέτα αντιδραστηρίων 8
 κυψελίδα ροής 8
 νερό εργαστηριακής ποιότητας 14
 συντήρηση οργάνου 14
 άναλώσιμα
 κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων 10
αναλώσιμα παρεχόμενα από τον χρήστη 13-14
αντιδραστήρια
 κατάλληλη απόρριψη 21
 σε κιτ 7
αντιμετώπιση προβλημάτων
 αδυναμία ανάγνωσης γραμμωτού κώδικα του BeadChip 53
 αντικατάσταση αρχείων δελτίου δείγματος και αρχείων συστάδων 55
 αποτυχία καταχώρισης σάρωσης 54
 αρχεία ειδικά για ανάλυση 47
 αρχεία ειδικά για εκτέλεση 47
 αρχεία ειδικά για σάρωση 48
 δοχείο χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων 51
 έλεγχος πριν από την εκτέλεση 48
 μετρήσεις χαμηλής ποιότητας 51
αντιστοίχιση βάσης 61
 ζητήματα ευρετηρίασης 62
απεικόνιση, αλληλούχιση 2 καναλιών 61
αρίθμηση ζωνών 66
αρίθμηση καμερών 67
αρίθμηση λωρίδων 66
αρίθμηση πλακιδίων 67
αρχεία GTC 69
αρχεία InterOp 47, 65
αρχεία locs 65
αρχεία αντιστοίχισης βάσης 65
αρχεία εισόδου, σάρωση
 αρχεία δελτίου δείγματος 29, 55
 αρχεία συστάδων 29, 55
 φάκελος DMAP 29

φάκελος DMAP, λήψη 30
αρχεία εξόδου 65
αρχεία εξόδου σάρωσης
GTC, IDAT 69
αρχεία εξόδου, αλληλούχιση 65
αρχεία εξόδου, σάρωση
GTC, IDAT 69
αρχεία φίλτρου 65
αυτόνομη διαμόρφωση 24

B

βαθμολογία ποιότητας 63
βοήθεια
έγγραφα 2
βοήθεια, τεχνική 75

Γ

γραμμή κατάστασης 3

Δ

δημιουργία προτύπου 60-61
δημιουργία συστάδων 15, 26
διακόπτης τροφοδοσίας 11
διαμέρισμα αντιδραστηρίων 3
διαμέρισμα απεικόνισης 3
διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων 3
Διαμόρφωση 57
διαμόρφωση BaseSpace 23
διάρκεια ανάγνωσης 15-16
διάρκεια εκτέλεσης 15-16
διαχείριση οργάνου
τερματισμός λειτουργίας 44-45

E

έγγραφα 2
ειδοποιήσεις κατάστασης 5
εικονίδια
κατάσταση 5
σφάλματα και προειδοποιήσεις 5
εκ νέου υβριδισμός σε εκκινήτη 51
εκ νέου υβριδισμός, Ανάγνωση 1 51
έκπλυση
αναλώσιμα παρεχόμενα από τον
χρήστη 37
αυτόματη 27
εξαρτήματα έκπλυσης 37

μη αυτόματη έκπλυση 37
έκπλυση μετά την εκτέλεση 27
έκπλυση οργάνου 37
εκτέλεση μετρήσεων 26
έλεγχος πριν την εκτέλεση 25, 34
εμπειρικό phasing (καθυστέρηση βάσης) 61
εντάσεις 61
εξαρτήματα
γραμμή κατάστασης 3
διαμέρισμα αντιδραστηρίων 3
διαμέρισμα απεικόνισης 3
διαμέρισμα ρυθμιστικών διαλυμάτων 3
επανεκκίνηση 44
όργανο 44
επανεκκίνηση σε ερευνητική λειτουργία 12
επιλογή φόρτωσης για προχωρημένους 13

Z

ζεύγη λωρίδων 66
ζητήματα ευρετηρίασης 62

H

ηλεκτρονική εκπαίδευση 2
ήχος 12

Θ

θέση συστάδων
αρχεία 65
δημιουργία προτύπου 60
θέση φακέλου 24

K

καθορισμός παραμέτρων εκτέλεσης, επιλογή
για προχωρημένους 13
κασέτα αντιδραστηρίου
δεξαμενή #28 39
κασέτα αντιδραστηρίων
δεξαμενή #6 23
επισκόπηση 8
κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων 10, 21
κουμπί τροφοδοσίας 5, 11
κύκλοι σε μια ανάγνωση 15
κυψελίδα ροής
απεικόνιση 67
αρίθμηση ζωνών 66
αρίθμηση λωρίδων 66

- αρίθμηση πλακιδίων 67
- εκ νέου υβριδισμός 51
- επισκόπηση 8
- ζεύγη λωρίδων 8
- καθαρισμός 17
- πίροι ευθυγράμμισης 18
- πλακίδια 65
- συσκευασία 17

Λ

- λειτουργία RUO 12
- λογισμικό
 - ανάλυση εικόνας, αντιστοίχιση βάσης 4
 - αρχικοποίηση 11
 - αυτόματη ενημέρωση 43
 - διάρκεια εκτέλεσης 15-16
 - επί του οργάνου 4
 - μη αυτόματη ενημέρωση 43
 - ρυθμίσεις διαμόρφωσης 56
- λογισμικό BlueFuse Multi 1
- λογισμικό Real-Time Analysis 4
 - phasing (καθυστερήση βάσης) 61
 - αποτελέσματα 65
 - ροή εργασιών 60
- λογισμικό ελέγχου 4
- λογισμικό ενημέρωσης 42

Μ

- μεταφορά δεδομένων
 - universal copy service 27
 - δεδομένα σάρωσης 35
- μετρήσεις
 - αντιστοίχιση βάσης 61
 - κύκλοι έντασης 26
 - κύκλοι πυκνότητας συστάδων 26
- Μήνυμα σφάλματος RAID 55

Ο

- οδηγίες για νερό εργαστηριακής ποιότητας 14
- όνομα χρήστη και κωδικός πρόσβασης 11
- όνομα χρήστη και κωδικός πρόσβασης συστήματος 11
- όργανο
 - άβαταρ 12
 - εκκίνηση 11
 - ενδείξεις λειτουργίας 12

- επανεκκίνηση 44
- κουμπί τροφοδοσίας 5
- ρυθμίσεις διαμόρφωσης 56
- τερματισμός λειτουργίας 44
- ψευδώνυμο 12

Π

- παρακολούθηση RFID 7
- παραμέτροι εκτέλεσης
 - αυτόνομη λειτουργία 24
 - επεξεργασία παραμέτρων 23
 - λειτουργία BaseSpace 23
- πιθανότητα σφάλματος 63
- πληκτρολόγιο 12
- προληπτική συντήρηση 37
- προσαρμογέας
 - επισκόπηση 6
 - προσανατολισμός BeadChip 31
 - φόρτωση BeadChip 33

Ρ

- ροή εργασιών
 - BeadChip 33
 - αλληλούχιση 60
 - αυτόνομη λειτουργία 24
 - διάρκεια εκτέλεσης 15-16
 - εκτέλεση μετρήσεων 26
 - έλεγχος πριν την εκτέλεση 25, 34
 - επιλογή φόρτωσης για προχωρημένους 13
 - επισκόπηση 16, 30
 - ζητήματα ευρετηρίασης 62
 - κασέτα αντιδραστηρίων 21
 - κασέτα ρυθμιστικών διαλυμάτων 21
 - κυψελίδα ροής 18
 - λειτουργία BaseSpace 23
 - προετοιμασία κυψελίδας ροής 17
 - σύνδεση στο BaseSpace 18
 - υποχλωριώδες νάτριο 39
 - χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια 20
- ροή εργασιών αλληλούχισης 60
- ρυθμίσεις διαμόρφωσης 56

Σ

- συμβατότητα
 - κυψελίδα ροής, κασέτα αντιδραστηρίων 7
 - παρακολούθηση RFID 7-8

συντήρηση οργάνου
αναλώσιμα 14
συντήρηση, προληπτική 37
σφάλματα ελέγχου πριν από την εκτέλεση 48
σφάλματα και προειδοποιήσεις 5, 60

T

τεκμηρίωση 75
τερματισμός λειτουργίας του οργάνου 44
τεχνική βοήθεια 75
τμήμα υποστήριξης πελατών 75

Υ

υπηρεσία προληπτικής παρακολούθησης της
Illumina 57
υποχλωριώδες νάτριο, έκπλυση 39

Φ

φάκελος DMAP
Decode File Client 29
λήψη 30
φίλτρο αγνότητας 62
φίλτρο αέρα 4, 41
φίλτρο διέλευσης (PF) 62
φίλτρο διέλευσης συστάδων 62
φορμαμίδιο, θέση 6 23

X

χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια
απόρριψη 20, 40
γεμάτο δοχείο 51

Τεχνική βοήθεια

Για τεχνική βοήθεια, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Illumina.

Ιστότοπος: www.illumina.com
Email: techsupport@illumina.com

Τηλεφωνικοί αριθμοί εξυπηρέτησης πελατών της Illumina

Περιοχή	Χωρίς χρέωση	Τοπικό
Βόρεια Αμερική	+1.800.809.4566	
Αυστραλία	+1.800.775.688	
Αυστρία	+43 800006249	+43 19286540
Βέλγιο	+32 80077160	+32 34002973
Γαλλία	+33 805102193	+33 170770446
Γερμανία	+49 8001014940	+49 8938035677
Δανία	+45 80820183	+45 89871156
Ελβετία	+41 565800000	+41 800200442
Ηνωμένο Βασίλειο	+44 8000126019	+44 2073057197
Ιαπωνία	0800.111.5011	
Ιρλανδία	+353 1800936608	+353 016950506
Ισπανία	+34 911899417	+34 800300143
Ιταλία	+39 800985513	+39 236003759
Κάτω Χώρες	+31 8000222493	+31 207132960
Κίνα	400.066.5835	
Νέα Ζηλανδία	0800.451.650	
Νορβηγία	+47 800 16836	+47 21939693
Νότια Κορέα	+82 80 234 5300	
Σιγκαπούρη	+1.800.579.2745	
Σουηδία	+46 850619671	+46 200883979
Ταϊβάν, Κίνα	00806651752	
Φινλανδία	+358 800918363	+358 974790110
Χονγκ Κονγκ, Κίνα	800960230	
Άλλες χώρες	+44.1799.534000	

Φύλλα δεδομένων ασφάλειας (SDS)—Διαθέσιμα στον ιστότοπο της Illumina στη διεύθυνση support.illumina.com/sds.html.

Τεκμηρίωση προϊόντος—Διαθέσιμη για λήψη σε μορφή PDF από τον ιστότοπο support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 Η.Π.Α.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (εκτός Βορείου Αμερικής)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Χρήση μόνο για έρευνα. Όχι για χρήση σε διαγνωστικές διαδικασίες.

© 2021 Illumina, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

illumina[®]