

本文档及其内容归 Illumina, Inc. 及其附属公司 (“Illumina”) 所有, 并且仅供其客户用于与本文档内所描述的产品用途相关的合同用途, 不得用于其他任何目的。在未获得 Illumina 的事先书面同意的情况下, 不得出于任何目的使用或分发本文档及其内容, 和/或以其他任何方式对其进行传播、披露或复制。Illumina 不通过本文档根据其专利、商标、版权或普通法权利或任何第三方的类似权利授予任何许可。

本文档中的说明必须由具备资格且受过相关培训的人员严格且明确执行, 以确保本文档中描述的产品能够获得适当且安全的使用。在使用此类产品之前, 相关人员必须通读并理解本文档中的所有内容。

未能完整阅读并明确遵守本文档中包含的所有说明可能会导致产品损坏、对用户或其他人员造成人身伤害以及对其他财产造成损害。

对于由不当使用本文档中描述的产品 (包括其部件或软件) 引起的任何后果, ILLUMINA 概不承担任何责任。

© 2016 Illumina, Inc. 保留所有权利。

Illumina, 24sure, BaseSpace, BeadArray, BlueFish, BlueFuse, BlueGnome, cBot, CPro, CytoChip, DesignStudio, Epicentre, ForenSeq, Genetic Energy, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, HiSeqX, Infinium, iScan, iSelect, MiniSeq, MiSeq, MiSeqDx, MiSeqFGx, NeoPrep, NextBio, Nextera, NextSeq, PoweredbyIllumina, SureMDA, TruGenome, TruSeq, TruSight, UnderstandYourGenome, UYG, VeraCode, verifi, VeriSeq, 南瓜橘色和流动底部设计均为 Illumina, Inc. 及/或其附属公司在美国和/或其他国家/地区的商标。所有其他名称、徽标和其他商标均为其各自所有者的财产。

修订历史记录

文档	日期	更改描述
材料号 20006831 文档号 15069765 v02	2016 年 3 月	添加了“标签注意事项”小节。 删除了检查流动槽的步骤。 在“将文库装入试剂夹盒”步骤中指定了装入剂量和浓度。
材料号 20001843 文档号 15069765 v01	2015 年 10 月	指定了与建议的 NaOCl 供应商等同的供应商须为等同的实验室级供应商。 添加了有关年度预防性维护服务的建议。 重组了“概述”和“入门”两章中的信息。添加了有关自定义系统设置的说明。 从“故障诊断”一章中删除了“在线帮助”说明。控制软件中已删除此功能。
15069765B	2015 年 5 月	更正了对试剂夹盒上预留槽的描述。
15069765 A	2015 年 5 月	最初版本。

目录

修订历史记录	iii
目录	v
第 1 章 概述	1
简介	2
更多资源	3
仪器组件	4
测序耗材概述	7
第 2 章 入门	11
启动仪器	12
自定义系统设置	13
自定义运行设置	14
用户自备的耗材和设备	15
第 3 章 测序	17
简介	18
测序工作流程	19
准备试剂夹盒	20
准备流动槽	21
制备供测序的文库	22
设置测序运行	23
监控运行进度	29
运行后自动清洗	31
第 4 章 扫描	33
简介	34
扫描工作流程	35
下载 DMAP 文件夹	36
将 BeadChip 装入转接器	37
设置扫描	38
监控扫描进度	40
第 5 章 维护	41
简介	42
执行手动清洗	43
软件更新	46
关闭仪器	48
附录 A 故障诊断	49
简介	50
故障诊断文件	51
解决自动检查错误	53
废试剂容器已满	55
再次杂化工作流程	56
BeadChip 和扫描错误	58
自定义配方和配方文件夹	60
系统检查	61
RAID 错误消息	63
配置系统设置	64

附录 B 实时分析	67
实时分析概述	68
实时分析工作流程	70
附录 C 输出文件和文件夹	73
测序输出文件	74
测序输出文件夹结构	78
扫描输出文件	79
扫描输出文件夹结构	80
索引	81
技术协助	85

概述

简介	2
更多资源	3
仪器组件	4
测序耗材概述	7



简介

借助 Illumina® NextSeq® 550 系统单款解决方案，即可实现高通量测序与阵列扫描之间的无缝过渡。

测序功能

- ▶ **高通量测序** — NextSeq 550 可实现外显子组测序、全基因组测序及转录组测序，并支持 TruSeq® 和 Nextera® 文库。
- ▶ **流动槽类型** — 流动槽分为高输出和中等输出配置。每种类型的流动槽都会配备一个预先注入试剂的兼容试剂夹盒。
- ▶ **实时分析 (RTA)** — 集成式分析软件执行仪器内数据分析，包括图像分析和碱基检出。NextSeq 使用名为 RTA v2 的 RTA 实施，该版本包含体系结构和功能方面的重要差异。有关详细信息，请参见 [实时分析](#) (第 67 页)。
- ▶ **BaseSpace® 集成** — 测序工作流程与 BaseSpace 相集成，后者是 Illumina 用于数据分析、存储和协作的基因组计算环境。对于配置为使用 BaseSpace 的仪器，文库信息和运行参数在“BaseSpace Prep (BaseSpace 准备)”选项卡上指定。运行设置期间，之前曾在 BaseSpace 中设置的运行会显示在仪器界面中。当运行执行时，输出文件会实时传送到 BaseSpace 或 BaseSpace Onsite。

阵列扫描功能

- ▶ **控制软件中的集成阵列扫描** — NextSeq 550 允许您使用同一个控制软件于同一个仪器上在阵列扫描与高通量测序之间进行转换。
- ▶ **扩展成像能力** — NextSeq 550 中的成像系统进行了一些软件和槽台修改，能够对较大表面区域成像以适应 BeadChip 扫描。
- ▶ **BeadChip 类型** — 兼容的 BeadChip 类型包括 CytoSNP-12、CytoSNP-850K 和 Karyomap-12。
- ▶ **BeadChip 转接器** — 可重复使用的 BeadChip 转接器能够将 BeadChip 轻松装入仪器。
- ▶ **数据分析** — 使用 BlueFuse® Multi 软件可分析阵列数据。

更多资源

以下文档可从 Illumina 网站下载。

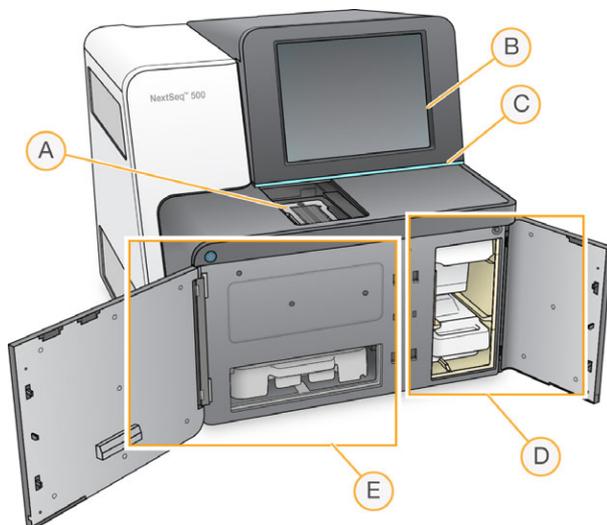
资源	描述
《NextSeq 系统场地准备指南》 (文档号 15045113)	提供实验室空间规范、电气要求和环境注意事项。
《NextSeq 系统安全和合规性指南》 (文档号 15046564)	提供有关操作安全注意事项、合规性声明和仪器标签的信息。
《RFID 扫描仪 – 型号 TR-001-44 用户指南》 (文档号 15041950)	提供有关仪器中的 RFID 扫描仪、合规认证和安全注意事项的信息。
《变性并稀释 NextSeq 系统的文库》 (文档号 15048776)	提供有关为测序运行稀释及变性制备的文库，以及制备可选 PhiX 对照品的说明。此步骤适用于大多数文库类型。
《NextSeq 自定义引物指南》 (文档号 15057456)	提供有关使用自定义测序引物代替 Illumina 测序引物的信息。
BaseSpace 帮助 (help.basespace.illumina.com)	提供有关使用 BaseSpace® 及可用分析选项的信息。

访问 Illumina 网站上的 NextSeq 550 支持页面，查看相应文档、软件下载、在线培训和常见问题解答。

仪器组件

NextSeq 550 系统包括一个触摸屏显示器、一个状态栏和 3 个仓。

图 1 仪器组件



- A **成像仓**—固定供测序用的流动槽或供扫描用的 BeadChip 转接器。
- B **触摸屏显示器**—可供用户使用控制软件界面进行仪器内配置和设置。
- C **状态栏**—指出仪器状态，包括：处理中（蓝色）、需要监护（橙色）、可供测序（绿色）或接下来的 24 小时内需要进行清洗（黄色）。
- D **缓冲液仓**—固定缓冲液夹盒和废试剂容器。
- E **试剂仓**—固定试剂夹盒。

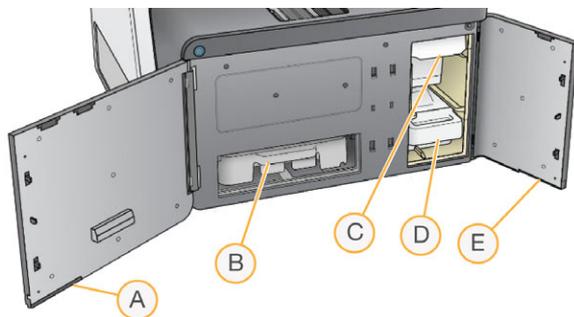
成像仓

成像仓容纳流动槽台，包含 3 个在测序和扫描中分别用于定位流动槽和 BeadChip 转接器的对准针。装入流动槽或 BeadChip 转接器后，成像仓门会自动关闭并将组件移动到定位。

试剂仓和缓冲液仓

要在 NextSeq 550 上设置测序运行，需要能够使用试剂仓和缓冲液仓，以便装入运行耗材并清空废试剂容器。

图2 试剂仓和缓冲液仓



- A **试剂仓门**—通过仓门右下角的槽锁封闭试剂仓。试剂仓会卡住试剂夹盒。通过吸管和射流系统抽出试剂，然后输送到流动槽。
- B **试剂夹盒**—试剂夹盒是预先注入溶液的一次性耗材。
- C **缓冲液夹盒**—缓冲液夹盒是预先注入溶液的一次性耗材。
- D **废试剂容器**—每次运行后对废试剂予以回收，以便处理。
- E **缓冲液仓门**—通过仓门左下角的槽锁封闭缓冲液仓。

NextSeq 软件

仪器软件包括执行测序运行或阵列扫描的数个集成式应用程序。

- ▶ **NextSeq 控制软件 (NCS)** — 控制软件引导您完成设置测序运行或阵列扫描的步骤。
- ▶ **实时分析 (RTA) 软件** — 对于测序运行，RTA 会在运行期间执行图像分析和碱基检出。NextSeq 550 使用的是 RTA v2，该版本包含在体系结构和功能方面与较早版本之间的重要差异。有关详细信息，请参见[实时分析](#)(第 67 页)。

状态图标

控制软件界面屏幕右上角的状态图标可指出运行设置或运行期间的任何状况变化。

状态图标	状态名称	描述
	状态正常	系统正常。
	正在处理	系统正在处理。
	警告	出现警告。 警告不会使运行停止，但是需要执行操作才能继续运行。
	错误	发生错误。 如果有错误，需要执行操作后才能继续运行。

当状况发生变化时，图标会闪烁，以向您示警。选择该图标可查看对该状况的说明。选择 **Acknowledge (确认)** 接受消息，然后选择 **Close (关闭)** 关闭对话框。

电源按钮

NextSeq 正面的电源按钮可以为仪器和仪器计算机接通电源。该电源按钮根据仪器电源的状态执行以下操作。

电源状态	操作
仪器电源已关闭	轻按按钮可开启电源。
仪器电源已开启	轻按按钮可关闭电源。屏幕上会显示对话框，以确认正常的仪器关机。
仪器电源已开启	长按电源按钮 10 秒钟不放，会强制仪器和仪器计算机硬性关机。除非仪器失去响应，否则请勿使用此方法关闭仪器。



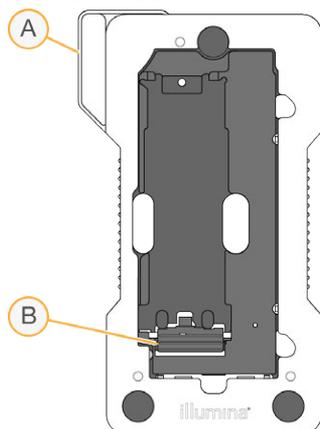
注意

如果在测序运行期间关闭仪器，会导致运行立即结束。结束运行操作不可逆。运行用的耗材不能重复使用，并且运行的测序数据将不会保存。

可重复使用的 BeadChip 转接器概述

可重复使用的 BeadChip 转接器用于在扫描期间固定 BeadChip。在转接器的凹槽中，用固定夹卡住 BeadChip。然后将 BeadChip 转接器装入成像仓的台座中。

图 3 可重复使用的 BeadChip 转接器



- A BeadChip 转接器
- B 固定夹

测序耗材概述

在NextSeq 550上执行测序运行需要使用一次性NextSeq 500/550试剂盒。每个试剂盒包含一个流动槽和一次测序运行所需的试剂。

流动槽、试剂夹盒和缓冲液夹盒均使用射频识别（radio-frequency identification，简称RFID）进行精确的耗材跟踪并确保兼容性。

试剂盒兼容性标签

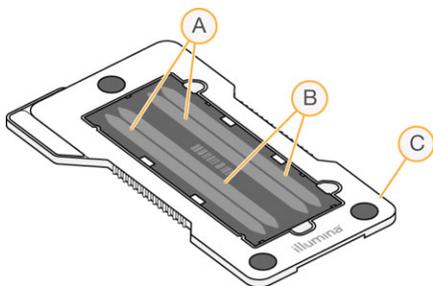
试剂盒组件标有颜色编码指示器，可显示流动槽与试剂夹盒之间的兼容性。请始终使用兼容的试剂夹盒和流动槽。缓冲液夹盒是通用的。

每个流动槽和试剂夹盒都标有High（高）或Mid（中）。在准备用于运行的耗材时，请始终检查标签。

试剂盒类型	标签上的标记
高输出试剂盒组件	
中输出试剂盒组件	

流动槽概述

图4 流动槽夹盒



- A 通道对A—通道1和3
- B 通道对B—通道2和4
- C 流动槽夹盒框

流动槽是玻璃制底物，用于生成簇并执行测序反应。它封装在流动槽夹盒中。

流动槽包含4个按对成像的通道。

- ▶ 通道1和3（通道对A）同时成像。
- ▶ 通道2和4（通道对B）在通道A完成成像后成像。

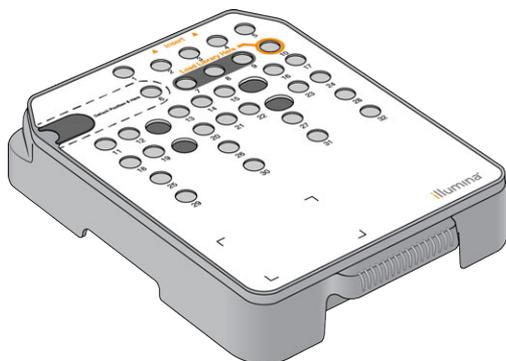
虽然流动槽有4个通道，但只有单独一个文库或一组混合文库在流动槽上测序。文库通过单个槽装入试剂夹盒，并自动传送到流动槽4个通道中。

每个通道在小的成像区域（称为小区）中成像。有关详细信息，请参见[流动槽小区](#)（第74页）。

试剂夹盒概述

试剂夹盒属于一次性耗材，配有 RFID 跟踪及预先装有簇生成和测序试剂的封箔槽。

图 5 试剂夹盒



试剂夹盒包含指定的槽，用于装入所制备的文库。运行开始后，系统会自动将槽中的文库传送到流动槽。

还有些槽预留用于自动运行后清洗。清洗液会从缓冲液夹盒抽吸到预留的槽，并流经整个系统，然后传送到废试剂容器中。

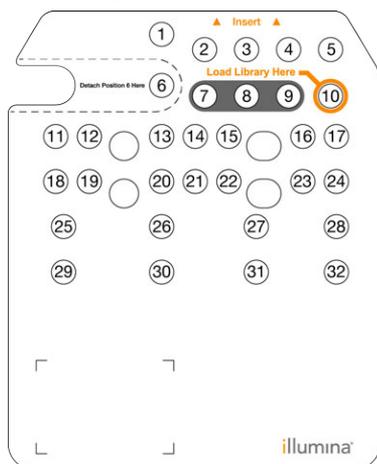


警告

这组试剂中包含甲酰胺，甲酰胺是一种可能为生殖毒素的脂族酰胺。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括护目用具、手套和实验室工作服。将已使用的试剂作为化学废物处理，并且遵循当地政府安全标准丢弃已使用的试剂。有关环境、健康和安全的消息，请参见此试剂盒的 SDS，其载于 support.illumina.com/sds.html。

预留的槽

图 6 带编号的槽



位置	描述
7、8 和 9	为可选的自定义引物预留
10	装入文库

有关自定义引物的信息，请参见《NextSeq 自定义引物指南》（文档号 15057456）。

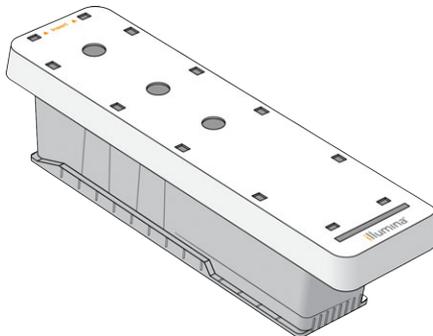
位置 6 处的可卸槽

位置 6 处预先注入试剂的试剂夹盒中含有甲酰胺的变性试剂。为便于在测序运行后对任何未使用的试剂进行安全处理，位置 6 处的槽可卸下。有关详细信息，请参见从位置 6 处取下使用过的槽(第 25 页)。

缓冲液夹盒概述

缓冲液夹盒是一次性耗材，它包含 3 个预先注入缓冲液和清洗液的槽。缓冲液夹盒中的溶液足够用于对 1 个流动槽测序。

图 7 缓冲液夹盒



入门

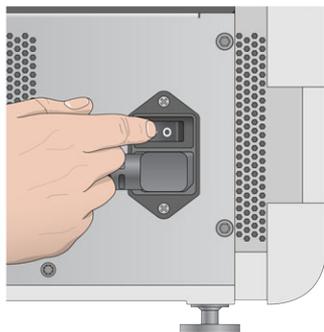
启动仪器	12
自定义系统设置	13
自定义运行设置	14
用户自备的耗材和设备	15



启动仪器

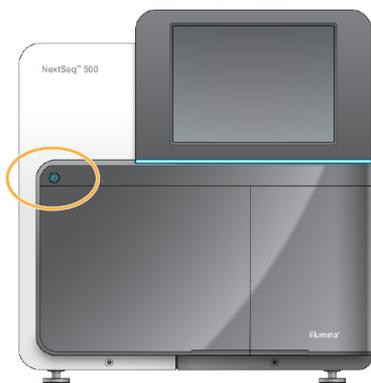
将电源切换开关切换到 I（开）位置。

图 8 位于仪器后面的电源开关



- 1 按试剂仓上方的电源按钮。电源按钮将会开启仪器电源并启动集成仪器计算机和软件。

图 9 位于仪器前面的电源按钮



- 2 等待操作系统完成加载过程。
NextSeq 控制软件 (NCS) 会自动启动并初始化系统。初始化步骤结束后，“Home（主页）”屏幕将会打开。
- 3 如果系统已配置为需要输入登录凭据，请使用默认的用户名和密码登录：
 - ▶ 用户名：**sbsuser**
 - ▶ 密码：**sbs123**否则，请使用为网站指定的凭据登录。

自定义系统设置

控制软件包括可自定义的系统设置，用于启动选项、输入首选项、音频设置和仪器名称。

选择启动选项

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选择下列启动选项之一：
 - ▶ 选择 **Kiosk Mode（全屏模式）** 以在全屏模式下使用控制软件界面。
 - ▶ 选择 **Windows Mode（Windows 模式）** 以允许在仪器计算机上访问 Windows。在这种模式下，软件界面上的交互方式（例如按钮的位置）很可能会有所改变。
- 3 选择 **Save（保存）** 保存设置，进入后续屏幕。

设置输入选项和音频指示器

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选中 **Use on-screen keyboard（使用屏幕键盘）** 复选框以激活屏幕键盘，用于向仪器输入数据。
- 3 选中 **Play audio（播放音频）** 复选框以打开针对下列事件的音频指示器。
 - ▶ 仪器初始化时
 - ▶ 启动运行时
 - ▶ 发生某些错误时
 - ▶ 需要用户交互时
 - ▶ 运行完成时
- 4 选择 **Save（保存）** 保存设置，进入后续屏幕。

自定义仪器标识

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 要为仪器指定首选的图像，请选择 **Browse（浏览）** 并导航至目标图像。
- 3 在“Nick Name（别名）”字段中，输入仪器的首选名称。
- 4 选择 **Save（保存）** 保存设置，进入后续屏幕。
该图像和名称会显示在每一屏幕的左上角。

自定义运行设置

控制软件包括若干自定义设置，用于运行设置首选项和清除未使用的试剂。

设置运行设置选项

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选择 **Save（保存）** 进入“Run Customization（运行自定义）”。
- 3 选中 **Use Advanced Load Consumables（使用高级装入耗材）** 复选框，以启用从一个屏幕装入所有运行耗材的选项。
- 4 选中 **Skip Pre-Run Check Confirmation（跳过运行前检查确认）** 复选框，以在成功完成自动检查后自动开始测序或扫描。
- 5 选择 **Save（保存）** 保存设置并退出该屏幕。

设置自动清除选项

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选择 **Save（保存）** 进入“Run Customization（运行自定义）”。
- 3 选择 **Purge Consumables at End of Run（运行结束时清除耗材）** 复选框，以便在每次运行后自动将未使用的试剂从试剂夹盒清除到废试剂容器中。



注意
自动清除耗材会导致工作流程延长一定时间。

- 4 选择 **Save（保存）** 保存设置并退出该屏幕。

用户自备的耗材和设备

NextSeq 550 上使用以下耗材和设备。

用于测序运行的用户自备耗材

耗材	供应商	用途
1N NaOH (氢氧化钠)	一般实验室供应商	文库变性, 稀释到 0.2N
200 mM Tris-HCl, pH7	一般实验室供应商	文库变性
酒精棉片, 70% 甘油 或 70% 乙醇	VWR, 商品目录号 95041-714 (或等效物) 一般实验室供应商	流动槽清洁和一般用途
一次性无粉手套	一般实验室供应商	一般用途
低尘实验室棉巾纸	VWR, 商品目录号 21905-026 (或等效物)	流动槽清洁

用于仪器维护的用户自备耗材

耗材	供应商	用途
NaOCl, 5% (次氯酸钠)	Sigma-Aldrich, 商品目录号 239305 (或实验室级等效物)	使用运行后手动清洗来清洗仪器; 稀释到 0.12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, 商品目录号 P7949	使用手动清洗选项来清洗仪器; 稀释到 0.05%
实验室级用水	一般实验室供应商	清洗仪器 (手动清洗)

实验室级用水准则

始终使用实验室级用水或去离子水来执行仪器操作。切勿使用自来水。请仅使用以下等级的水或等效物:

- ▶ 去离子水
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 兆欧 (MΩ) 水
- ▶ 高纯水
- ▶ 超纯水
- ▶ 分子生物学级纯水

用户自备的设备

物品	来源
冰柜, -25°C 到 -15°C, 无霜	一般实验室供应商
冰桶	一般实验室供应商
冰箱, 2°C 到 8°C	一般实验室供应商

测序

简介	18
测序工作流程	19
准备试剂夹盒	20
准备流动槽	21
制备供测序的文库	22
设置测序运行	23
监控运行进度	29
运行后自动清洗	31



简介

要在 NextSeq 550 上执行测序运行，请准备一个试剂夹盒和流动槽，然后按照软件提示设置和启动运行。簇生成和测序是在仪器内执行的。运行之后，系统会使用已装入仪器的组件自动开始清洗仪器。

簇生成

在簇生成期间，单个 DNA 分子会粘附到流动槽的表面，然后进行扩增以形成簇。

测序

使用特定于每个荧光标记的链终止剂的 2 通道测序化学反应和滤镜组合对簇进行成像。当对流动槽上的一个小区完成成像后，随即会对下一个小区进行成像。此过程会针对测序的每个循环重复进行。图像分析之后，软件会执行碱基检出、过滤和质量评分。

通过控制软件界面、BaseSpace 上的“Run（运行）”选项卡或使用 Sequencing Analysis Viewer (SAV) 软件的联网计算机监控运行进度和统计信息。请参见 *Sequencing Analysis Viewer* (第 30 页)。

分析

在运行进行时，控制软件会自动将碱基检出 (BCL) 文件传送到 BaseSpace 或指定的输出位置，以进行二级分析。

有多种分析方法可用，具体取决于您的应用。有关详细信息，请参见 *BaseSpace 帮助* (help.basespace.illumina.com)。

测序运行持续时间

测序运行持续时间取决于执行的循环次数。最大运行长度为每个片段 150 次循环的双末端运行 (2×150)，再加上 2 个标签片段各最多 8 次循环。

有关预期的持续时间和其他系统规格，请访问 Illumina 网站上的 NextSeq 550 规格页面。

一个片段中的循环次数

在一个测序运行中，一个片段中执行的循环次数比分析的循环次数多 1 次。例如，双末端测序 150 次循环运行执行两个 151 次循环片段 (2×151)，总共 302 次循环。运行结束时，分析 2×150 个循环。额外多出的这个循环用于定相和预定相计算。

测序工作流程



准备试剂夹盒

- 1 取出在 -25°C 到 -15°C 的环境中存储的试剂盒。
- 2 放入装有室温清水的水槽中，直至解冻成功（大约 60 分钟）。请勿浸泡整个夹盒。
- 3 在工作台上轻敲夹盒，去除其底部的水分，然后擦干夹盒底部。



注意

[备用方案] 可以将试剂整晚放置在 2°C 至 8°C 的温度下解冻。试剂最少需要 18 个小时才能解冻。在此温度下，试剂最长可以稳定存放一周。

- 4 将夹盒翻转 5 次以混匀试剂。
- 5 检查位置 29、30、31 和 32 处，确保试剂均已解冻。
- 6 在工作台上轻敲夹盒以减少气泡。



警告

这组试剂中包含甲酰胺，甲酰胺是一种可能为生殖毒素的脂族酰胺。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括护目用具、手套和实验室工作服。将已使用的试剂作为化学废物处理，并且遵循当地政府安全标准丢弃已使用的试剂。有关环境、健康和安全的消息，请参见此试剂盒的 SDS，其载于 support.illumina.com/sds.html。

准备流动槽

- 1 从 2°C 到 8°C 的存储位置取出新的流动槽包装。
- 2 将拆封的流动槽包装置于室温下 30 分钟。

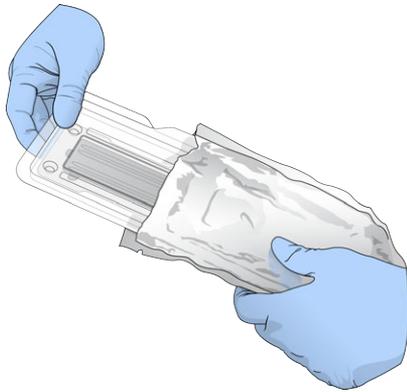


注意

如果箔纸包装完整无损，流动槽可在室温下保留 12 个小时之久。请避免重复冷却和预热流动槽。

- 3 从箔纸包装中取出流动槽。

图 10 从箔纸包装中取出



- 4 打开透明的塑料翻盖盒，取出流动槽。

图 11 从翻盖盒中取出



- 5 使用无绒酒精棉清洁流动槽的玻璃表面。使用无尘实验室棉巾纸擦干玻璃。

制备供测序的文库

文库剂量和装入浓度因您运行的 NCS 版本而异。

控制软件版本	文库剂量	文库浓度
NCS v1.3 或更高版本	1.3 ml	1.8 pM
NCS v1.2 或更高版本	3 ml	3 pM

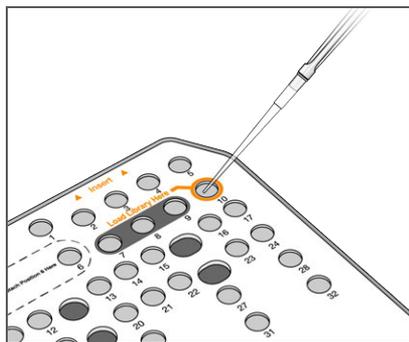
变性和稀释文库

稀释文库并使其变性，达到 1.3 毫升的装入量和 1.8 皮摩尔的装入浓度。在具体操作时，装入浓度会因文库制备和定量方法而异。有关说明，请参见《NextSeq 系统变性和稀释文库指南》(文档号 15048776)。

将文库装入试剂夹盒

- 1 使用无尘棉巾纸将标有 **Load Library Here**（在此处装入文库）的槽 10 封箔口擦拭干净。
- 2 使用干净的 1 毫升移液器吸头刺穿封箔口。
- 3 将制备的 1.3 毫升 1.8 皮摩尔文库装入标有 **Load Library Here**（在此处装入文库）的槽 10 中。装入文库时，避免碰到封箔口。

图 12 装入文库



设置测序运行

- 1 从“Home（主页）”屏幕中，依次选择 **Experiment（实验）** 和 **Sequence（测序）**。
测序命令会打开成像仓门，排空上次运行剩余的耗材，然后打开一系列运行设置屏幕。短暂延迟属于正常现象。
如果仪器配置为使用 BaseSpace，系统会提示您登录 BaseSpace。如果仪器配置为使用独立模式，下一步就是装入流动槽。

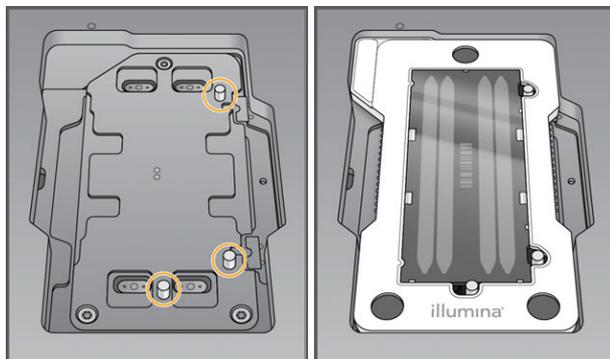
登录到 BaseSpace

- 1 输入您的 BaseSpace 用户名和密码。
- 2 选择 **Next（下一步）**。

装入流动槽

- 1 取出上次运行用过的流动槽。
- 2 按照对准针对准流动槽，并将流动槽放在槽台上。

图 13 装入流动槽



- 3 选择 **Load（装入）**。
仓门会自动关闭，屏幕上会显示流动槽 ID，并且系统已检查传感器。
- 4 选择 **Next（下一步）**。

清空废试剂容器

- 1 取出废试剂容器并根据适用标准处置溶液。

图 14 取出废试剂容器

**注意**

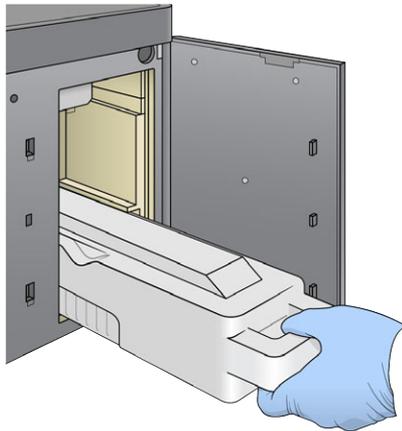
取出容器时，请用另一只手托住容器，以便持稳。

**警告**

这组试剂中包含甲酰胺，甲酰胺是一种可能为生殖毒素的脂族酰胺。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括护目用具、手套和实验室工作服。将已使用的试剂作为化学废物处理，并且遵循当地政府安全标准丢弃已使用的试剂。有关环境、健康和安全的消息，请参见此试剂盒的 SDS，其载于 support.illumina.com/sds.html。

- 2 将清空的废试剂容器滑入缓冲液仓，直至停下。容器放置到位时，您会听到咔哒声。

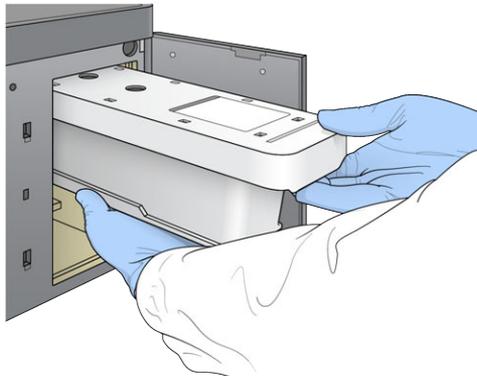
图 15 装入清空的废试剂容器



装入缓冲液夹盒

- 1 从上方仓门取出使用过的缓冲液盒。
- 2 将新的缓冲液夹盒滑入缓冲液仓，直至其停止不动。
夹盒移到位时，您会听到咔哒声。屏幕上会显示缓冲液夹盒 ID，并且系统已检查传感器。

图 16 装入缓冲液夹盒



- 3 关闭缓冲液仓门，并选择 **Next**（下一步）。

装入试剂夹盒

- 1 从试剂仓中取出废试剂夹盒。按照适用的标准处置未使用的溶液。



警告

这组试剂中包含甲酰胺，甲酰胺是一种可能为生殖毒素的脂族酰胺。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括护目用具、手套和实验室工作服。将已使用的试剂作为化学废物处理，并且遵循当地政府安全标准丢弃已使用的试剂。有关环境、健康和安全的消息，请参见此试剂盒的 SDS，其载于 support.illumina.com/sds.html。

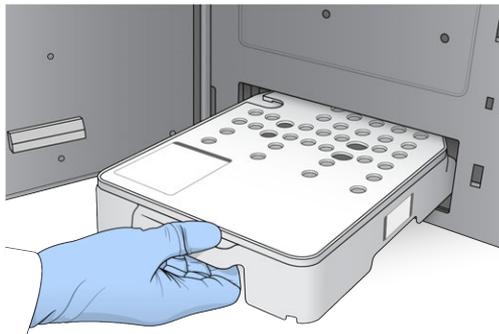


注意

为了便于安全处理废试剂，可取下位置 6 处的槽。有关详细信息，请参见从位置 6 处取下使用过的槽(第 25 页)。

- 2 将试剂夹盒滑入试剂仓，直至其停止不动，然后关闭试剂仓门。

图 17 装入试剂夹盒

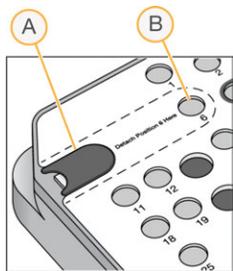


- 3 选择 **Load**（装入）。
软件会自动将夹盒移动到位（约 30 秒钟），屏幕上会显示试剂夹盒 ID，并且系统已检查传感器。
- 4 选择 **Next**（下一步）。

从位置 6 处取下使用过的槽

- 1 将用过的试剂夹盒从仪器中取出之后，取下位置 6 处旁边的插槽上方的橡胶防护盖。

图 18 可取下的位置 6 处



- A 橡胶防护盖
- B 位置 6 处

- 2 将透明塑料垂片往下按并向左推，从而弹出槽。
- 3 按照适用的标准处置槽。

指定运行参数

“Run Setup (运行设置)” 屏幕上的步骤因系统配置而异：

- ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite (BaseSpace 或 BaseSpace Onsite)** — “Run Setup (运行设置)” 屏幕会列出使用 BaseSpace 的“Prep (准备)” 选项卡设置的运行。如果“Run Setup (运行设置)” 屏幕上未显示拟定运行，请确保已将该运行标记为在 BaseSpace 中测序。
- ▶ **Standalone (独立)** — “Run Setup (运行设置)” 屏幕中包含用于定义运行参数的字段。

选择可用的运行 (BaseSpace 配置)

- 1 从可用的运行列表中选择一个运行名称。
使用向上箭头和向下箭头滚动浏览列表，或在“Search (搜索)” 字段中输入运行名称。
- 2 选择 **Next (下一步)**。
- 3 确认运行参数。
 - ▶ **Run Name (运行名称)** — BaseSpace 中分配的运行名称。
 - ▶ **Library ID (文库 ID)** — BaseSpace 中分配的混合文库名称。
 - ▶ **Recipe (配方)** — 配方名称，NextSeq High (NextSeq 高) 或 NextSeq Mid (NextSeq 中)，取决于用于运行的试剂夹盒。
 - ▶ **Read Type (片段类型)** — 单片段或双末端。
 - ▶ **Read Length (片段长度)** — 每个片段的循环次数。
 - ▶ [可选] 自定义引物 (如适用)。
- 4 [可选] 选择 **Edit (编辑)** 图标  可更改运行参数。完成后，选择 **Save (保存)**。
 - ▶ **Run parameters (运行参数)** — 更改片段数量或每个片段的循环次数。
 - ▶ **Custom primers (自定义引物)** — 更改自定义引物设置。有关详细信息，请参见《NextSeq 自定义引物指南》(文档号 15057456)。
 - ▶ **Purge consumables for this run (清除此运行的耗材)** — 将设置更改为在当前运行完毕后自动清除耗材。
- 5 选择 **Next (下一步)**。

输入运行参数（独立配置）

- 1 输入您偏好的运行名称。
- 2 [可选] 输入您偏好的文库 ID。
- 3 从“Recipe（配方）”下拉列表中选择配方。列表中只会列出兼容的配方。
- 4 选择片段类型：**Single Read（单片段）** 或 **Paired End（双末端）**。
- 5 输入测序运行中每个片段的循环次数。
 - ▶ **片段 1** — 输入一个不超过 151 次循环的值。
 - ▶ **片段 2** — 输入一个不超过 151 次循环的值。此值通常等于片段 1 的循环次数。
 - ▶ **标签 1** — 输入标签 1 (i7) 引物所需的循环次数。
 - ▶ **标签 2** — 输入标签 2 (i5) 引物所需的循环次数。
 控制软件会按照以下标准确认您的输入：
 - ▶ 总循环次数不超过允许的最大循环次数
 - ▶ 片段 1 的循环次数大于用于模板生成的 5 次循环
 - ▶ 标签片段循环不超过片段 1 和片段 2 的循环次数
- 6 [可选] 如果您使用的是自定义引物，请选中所使用的引物对应的复选框。有关详细信息，请参见《NextSeq 自定义引物指南》（文档号 15057456）。
 - ▶ **片段 1** — 片段 1 的自定义引物。
 - ▶ **片段 2** — 片段 2 的自定义引物。
 - ▶ **标签 1** — 标签 1 的自定义引物。
 - ▶ **标签 2** — 标签 2 的自定义引物。
- 7 [可选] 选择 **Edit（编辑）** 图标  可更改运行参数。完成后，选择 **Save（保存）**。
 - ▶ **Output folder location（输出文件夹位置）** — 更改当前运行的输出文件夹位置。选择 **Browse（浏览）** 导航到网络位置。
 - ▶ **Purge consumables for this run（清除此运行的耗材）** — 将设置更改为在当前运行完毕后自动清除耗材。
 - ▶ **Use run monitoring for this run（对此运行使用运行监控）** — 将设置更改为在 BaseSpace 中使用运行监控。
- 8 选择 **Next（下一步）**。

复查自动检查

软件会对系统执行自动检查。在检查期间，屏幕上会显示以下指示器：

- ▶ **灰色选中标记** — 尚未执行检查。
- ▶ **进度图标**  — 正在进行检查。
- ▶ **绿色选中标记** — 已通过检查。
- ▶ **红色 X** — 未通过检查。如有任何项目未通过，则需要先执行一项操作后才能继续。请参见 [解决自动检查错误](#)（第 53 页）。

要停止正在进行的自动检查，请选择右下角的  图标。要重新启动检查，请选择  图标。检查会从第一处未完成检查或检查失败的地方继续。

要查看某个类别内各项具体检查的结果，请选择  图标展开该类别。

启动运行

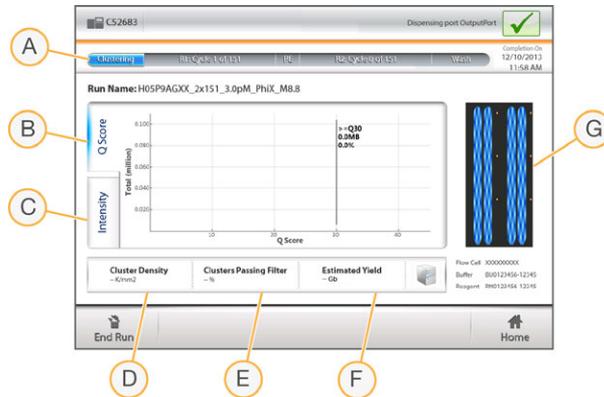
自动检查完成后，请选择 **Start（开始）**。测序运行随即开始。

要将系统配置为在成功完成检查后自动启动运行，请参见 [设置运行设置选项](#)（第 14 页）。

监控运行进度

- 1 当屏幕上显示指标时，您可以监控运行进度、强度和和质量分值。

图 19 测序运行进度和指标



- A **Run progress (运行进度)** — 显示为每个片段已完成的当前步骤和循环次数。进度条与每个步骤的运行进度不成比例。请根据右上角的剩余时间确定实际持续时间。
- B **Q-Score** — 显示质量分值 (Q-score) 的分布。请参见 [质量评分](#) (第 72 页)。
- C **Intensity (强度)** — 显示每个小区的第 90 个百分点的簇强度值。图的颜色表示每个碱基：红色表示 A，绿色表示 C，蓝色表示 G，黑色表示 T。这些颜色与 Sequencing Analysis Software (SAV) 中所用的碱基指示器一致。
- D **Cluster Density (簇密度) (K/mm²)** — 显示为运行检测到的簇数。
- E **Clusters Passing Filter (簇通过过滤) (%)** — 显示簇通过过滤的百分比。请参见 [簇通过过滤](#) (第 71 页)。
- F **Estimated Yield (估计的产量) (Gb)** — 显示预计运行会生成的碱基数。
- G **Flow cell image (流动槽图像)** — 显示每个通道对上的当前进程。当一个通道对在化学反应步骤时，另一个通道对在成像阶段。



注意

选择“Home (主页)”之后，无法再返回查看运行指标。不过，您可以使用 Sequencing Analysis Viewer (SAV)，在 BaseSpace 中访问或在独立计算机上查看运行指标。

出现运行指标的循环

运行指标会在运行的不同时间点显示。

- ▶ 簇生成步骤期间不显示指标。
- ▶ 前 5 次循环会保留，用于生成模板。
- ▶ 第 25 次循环后显示运行指标，包括簇密度、簇通过过滤、产量和质量分值。

数据传输

根据所选的分析配置，在运行期间，屏幕上会显示相应的图标来指示数据传输状态。

状态	Illumina BaseSpace	BaseSpace Onsite	独立仪器
已连接			
已连接并且正在传输数据			
连接断开			

如果数据传输在运行期间中断，数据会临时存储在仪器计算机上。等恢复连接后，系统会自动继续传输数据。如果运行结束之前连接未恢复，请在开始后续运行之前，从仪器计算机手动删除数据。

Run Copy Service

NextSeq 系统软件套装包括 Run Copy Service。RTA v2 要求该服务将文件从源位置复制到目标位置，并按接收顺序处理复制请求。如果发生例外情况，系统会根据复制队列里的文件数来请求复制文件。

Sequencing Analysis Viewer

Sequencing Analysis Viewer 软件显示运行期间生成的测序指标。根据 RTA 生成以及写入 InterOp 文件的数据，这些指标可以图表、图形和表格的形式显示。随着运行进展，指标得以更新。运行期间您可以随时选择 **Refresh（刷新）** 来查看更新的指标。有关详细信息，请参见《*Sequencing Analysis Viewer 用户指南*》（部件号 15020619）。

Sequencing Analysis Viewer 随附于仪器计算机上所安装的软件。您也可以在另一台连接到该仪器所在网络的计算机上安装 Sequencing Analysis Viewer，以便远程监控运行指标。

运行后自动清洗

测序运行完成后，软件会启动运行后自动清洗，使用缓冲液夹盒中提供的清洗液和试剂夹盒中提供的 NaOCl 进行清洗。

运行后自动清洗大约需要 90 分钟。清洗完成后，“Home（主屏幕）”按钮将变为可用。在清洗期间，测序结果仍会显示在屏幕上。

清洗后

清洗后，吸管仍保持在向下位置，避免空气进入系统。在下次运行之前，请保持夹盒的位置不变。

扫描

简介	34
扫描工作流程	35
下载 DMAP 文件夹	36
将 BeadChip 装入转接器	37
设置扫描	38
监控扫描进度	40



在 NextSeq 550 上执行扫描之前，您需要准备以下运行组件：

- ▶ 经过杂交和染色的 BeadChip
- ▶ 可重复使用的 BeadChip 转接器
- ▶ 正在使用的 BeadChip 的 Decode Map (DMAP) 文件
- ▶ 正在使用的 BeadChip 的清单文件
- ▶ 正在使用的 BeadChip 的簇文件

扫描期间会生成输出文件，然后对其进行排队，以便将其传输到指定的输出文件夹。

请使用 BlueFuse Multi 软件执行分析，该软件要求以基因型检出 (GTC) 文件格式提供该扫描数据。默认情况下，NextSeq 550 会生成标准化数据以及 GTC 文件格式的关联基因型检出。此外，您也可以将仪器配置为生成额外的强度数据 (IDAT) 文件。有关详细信息，请参见 *BeadChip 扫描配置* (第 65 页)。

Decode File Client

DMAP 文件夹中的信息可用于识别 BeadChip 上的微珠位置，并量化与每个微珠相关联的信号。DMAP 文件夹对每个 BeadChip 条形码都是唯一的。

Decode File Client 实用程序可供您使用标准 HTTP 协议直接从 Illumina 服务器下载 DMAP 文件夹。

要获取 Decode File Client，请转至 Illumina 网站上的 Decode File Client 支持页面 (support.illumina.com/array/array_software/decode_file_client/downloads.html)。将 Decode File Client 安装到可以访问 DMAP 文件夹网络位置的计算机上。

有关详细信息，请参见 *下载 DMAP 文件夹* (第 36 页)。

清单文件和簇文件

对每个 BeadChip 而言，软件需要能够访问清单文件和簇文件。每个清单文件和簇文件对同一类 BeadChip 都是唯一的。请确保您使用的簇文件的文件名中含有 NS550。这些文件与 NextSeq 系统兼容。

- ▶ **清单文件** — 清单文件描述 BeadChip 上的 SNP 或探针内容。它采用 *.bpm 文件格式。
- ▶ **簇文件** — 簇文件描述 Illumina 基因分型阵列的簇位置，用于分析数据以执行基因型检出。它采用 *.egt 文件格式。

文件位置在 “BeadChip Scan Configuration (BeadChip 扫描配置)” 屏幕上指定。从 NCS 的 “Home (主页)” 屏幕中，依次选择 **Manage Instrument (管理仪器)**、**System Configuration (系统配置)** 和 **BeadChip Scan Configuration (BeadChip 扫描配置)**。

如果已安装 NextSeq 550 仪器，Illumina 代表会下载这些文件，并在控制软件中指定路径。除非是文件丢失或存在新的版本，否则不需要更改这些文件。有关详细信息，请参见 *更换清单文件和簇文件* (第 59 页)。

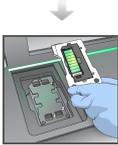
扫描工作流程

DMAP

下载 DMAP 信息并将其保存到指定的 DMAP 文件夹位置。



将 BeadChip 装入 BeadChip 转接器。



将 BeadChip 转接器装入到仪器上。



指定扫描参数：DMAP 文件夹位置和输出位置。



查看自动检查结果。
选择 **Start (开始)**。



通过控制软件界面监控扫描。

下载 DMAP 文件夹

您可以使用 Decode File Client 按帐户或 BeadChip（默认视图）访问 DMAP 文件夹。

按帐户访问 DMAP 文件夹

- 1 从 Decode File Client 的主选项卡上，选择一个下载选项：
 - ▶ AutoPilot
 - ▶ 尚未下载的所有 BeadChip
 - ▶ 所有 BeadChip
 - ▶ BeadChip（按采购订单）
 - ▶ BeadChip（按条形码）
- 2 输入所需的信息。
- 3 找到要下载的 DMAP 文件夹。
- 4 确保下载目的地有足够的可用空间。
- 5 开始下载。在“Download Status and Log（下载状态和日志）”选项卡上查看下载状态。
- 6 将 DMAP 文件夹保存到指定的 DMAP 文件夹位置。

按 BeadChip 访问 DMAP 文件夹

- 1 可以结合使用以下的其中两个选项来识别 BeadChip：
 - ▶ BeadChip 条形码
 - ▶ BeadChip 盒 ID
 - ▶ 采购订单号
 - ▶ 销售订单号
- 2 找到要下载的 DMAP 文件夹。
- 3 确保下载目的地有足够的可用空间。
- 4 开始下载。在“Download Status and Log（下载状态和日志）”选项卡上查看下载状态。
- 5 将 DMAP 文件夹保存到指定的 DMAP 文件夹位置。

将 BeadChip 装入转接器

- 1 按下转接器固定夹。夹子向后稍微倾斜即可打开。
- 2 手持 BeadChip 的边缘，条形码一端靠近固定夹，然后将 BeadChip 放在转接器的凹槽中。

图 20 将 BeadChip 装入转接器



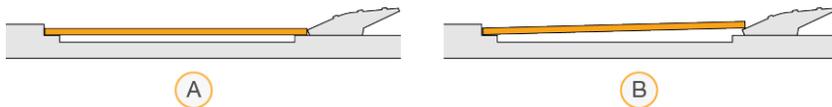
- 3 使用 BeadChip 两侧的开口，确保 BeadChip 固定在转接器的凹槽中。

图 21 牢牢放置 BeadChip



- 4 轻轻松开固定夹，以便固定 BeadChip。
- 5 侧视检查 BeadChip，确保 BeadChip 平贴在转接器表面。必要时调整 BeadChip 的位置。

图 22 检查 BeadChip 的位置



- A 位置正确—松开固定夹时，BeadChip 平贴在转接器表面。
B 位置错误—松开固定夹时，BeadChip 没有平贴在转接器表面。

设置扫描

- 1 从“Home（主页）”屏幕中，依次选择 **Experiment（实验）** 和 **Scan（扫描）**。
扫描命令会打开成像仓门，排空上次运行剩余的耗材（如有），然后打开一系列扫描设置屏幕。短暂延迟属于正常现象。

卸载测序耗材

当您设置扫描时如果存在用过的测序耗材，软件会提示您卸载试剂夹盒和缓冲液夹盒，然后再继续下一步骤。

- 1 如果出现提示，请去除上次测序运行使用过的测序耗材。
 - a 从试剂仓中取出试剂夹盒。按照适用的标准处置未使用的溶液。
 - b 从缓冲液仓中取出使用过的缓冲液夹盒。



警告

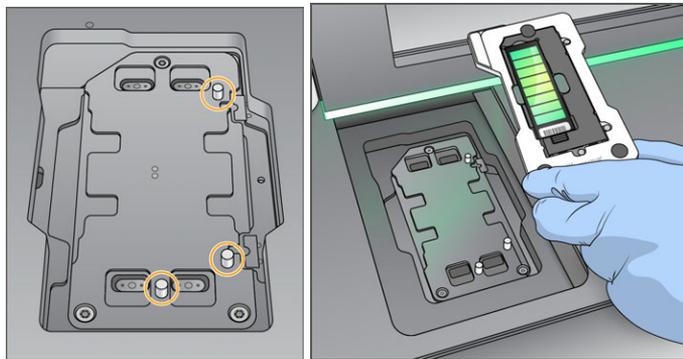
这组试剂中包含甲酰胺，甲酰胺是一种可能有生殖毒素的脂族酰胺。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括护目用具、手套和实验室工作服。将已使用的试剂作为化学废物处理，并且遵循当地政府安全标准丢弃已使用的试剂。有关环境、健康和安全的消息，请参见此试剂盒的 SDS，其载于 support.illumina.com/sds.html。

- 2 关闭试剂仓门和缓冲液仓门。

装入 BeadChip 转接器

- 1 使用对准针确定 BeadChip 转接器在槽台上的位置。

图 23 装入 BeadChip 转接器



- 2 选择 **Load（装入）**。
仓门会自动关闭，屏幕上会显示 BeadChip ID，并且已检查传感器。短暂延迟属于正常现象。如果无法读取 BeadChip 条形码，系统会显示一个对话框，供您手动输入条形码。请参见 [软件无法读取 BeadChip 条形码](#)（第 58 页）。
- 3 选择 **Next（下一步）**。

扫描设置

- 1 在“Scan Setup（扫描设置）”屏幕上，确认下列信息：
 - ▶ **Barcode（条形码）** — 装入 BeadChip 之后，软件会读取 BeadChip 条形码。如果条形码是手动输入的，则会显示“Edit（编辑）”按钮，可让您之后对条形码进行更改。

- ▶ **Type (类型)** — BeadChip 类型字段是系统根据 BeadChip 条形码自动填充的。
- ▶ **DMAP Location (DMAP 位置)** — DMAP 文件夹位置在“BeadChip Scan Configuration (BeadChip 扫描配置)”屏幕上指定。若要仅为当前扫描更改位置，请选择 **Browse (浏览)**，然后导航到正确位置。
- ▶ **Output Location (输出位置)** — 输出位置在“BeadChip Scan Configuration (BeadChip 扫描配置)”屏幕上指定。若要仅为当前扫描更改位置，请选择 **Browse (浏览)**，然后导航到首选位置。

2 选择 **Next (下一步)**。

复查自动检查

软件会对系统执行自动检查。在检查期间，屏幕上会显示以下指示器：

- ▶ **灰色选中标记** — 尚未执行检查。
- ▶ **进度图标**  — 正在进行检查。
- ▶ **绿色选中标记** — 已通过检查。
- ▶ **红色 X** — 未通过检查。如有任何项目未通过，则需要先执行一项操作后才能继续。请参见 [解决自动检查错误](#) (第 53 页)。

要停止正在进行的自动检查，请选择右下角的  图标。要重新启动检查，请选择  图标。检查会从第一处未完成检查或检查失败的地方继续。

要查看某个类别内各项具体检查的结果，请选择  图标展开该类别。

启动扫描

自动检查完成后，请选择 **Start (开始)**。扫描随即开始。

要将系统配置为在成功完成检查后自动启动扫描，请参见 [设置运行设置选项](#) (第 14 页)。

监控扫描进度

1 使用 BeadChip 图像监控扫描进度。图像上的每个颜色表示扫描状态。

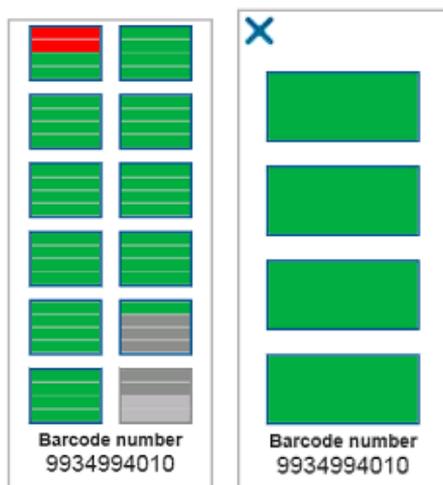
- ▶ 浅灰色 — 未扫描
- ▶ 深灰色 — 已扫描但未配准。
- ▶ 绿色 — 已扫描并配准成功。
- ▶ 红色 — 扫描和配准均失败。

如果配准失败，您可以重新扫描包含失败节段的样品。请参见 *BeadChip 扫描失败* (第 58 页)。

2 选择 BeadChip 图像，可在全局视图和选定样品的详细视图之间切换。

- ▶ 全局视图显示 BeadChip 上的样品以及各个样品内的节段。
- ▶ 详细视图显示选定样品内的各个节段。

图 24 BeadChip 图像：全局视图和详细视图



注意

结束扫描操作不可逆。如果您未完成扫描就结束扫描，则系统不会保存扫描数据。

数据传输

扫描完成后，系统会对数据进行排队，以便传输到扫描输出文件夹。在排队期间，数据会临时写入仪器计算机。当下一次扫描启动时，该临时文件夹会自动从仪器计算机上删除。

数据传输所用的时间取决于网络连接。在启动后续扫描之前，请确保数据均已写入输出文件夹，也就是确认条形码文件夹中存在对应的 GTC 文件。有关详细信息，请参见 *扫描输出文件夹结构* (第 80 页)。

如果连接中断，则连接恢复后系统会自动继续传输数据。每个文件列入传输队列后，可以有 1 个小时的时间等待传输至输出文件夹。如果超出这个时间或是仪器在传输完成之前重新启动，则数据不会写入输出文件夹。

维护

简介	42
执行手动清洗	43
软件更新	46
关闭仪器	48



简介

维护程序包括手动清洗仪器以及在有更新时更新系统软件，

- ▶ **仪器清洗** — 在每次测序运行后自动执行运行后清洗，有助于维护仪器性能。但是在某些情况下，需要定期执行手动清洗。请参见 [执行手动清洗](#) (第 43 页)。
- ▶ **软件更新** — 当系统软件推出更新后的版本时，您可以通过连接到 BaseSpace 自动安装更新，也可以从 Illumina 网站下载安装程序并手动更新。请参见 [软件更新](#) (第 46 页)。

预防性维护

Illumina 建议您每年安排一次预防性维护服务。如果您未签订维修合同，请联系您的区域客户经理或 Illumina 技术支持部门来安排收费的预防性维护服务。

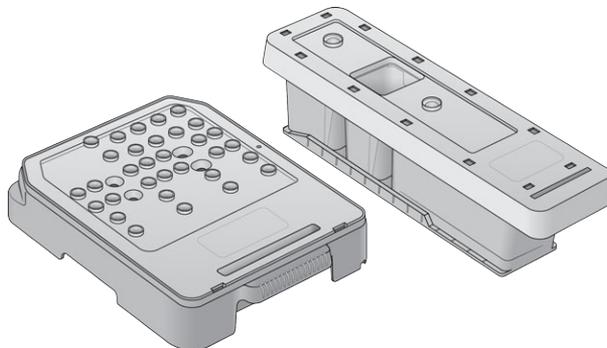
执行手动清洗

手动清洗是从“Home（主页）”屏幕中启动的。清洗选项包括“Quick Wash（快速清洗）”和“Manual Post-Run Wash（运行后手动清洗）”。

清洗类型	描述
快速清洗 持续时间：20 分钟	使用用户以实验室级用水和 Tween 20（缓冲液清洗盒）自备的清洗溶液冲洗系统。 <ul style="list-style-type: none"> • 仪器每闲置 14 天需清洗一次（试剂夹盒和缓冲液夹盒需放置到位）。 • 仪器处于干燥状态时每 7 天需清洗一次（取出试剂夹盒和缓冲液夹盒）。 • 关机后需要执行。
运行后手动清洗 持续时间：90 分钟	使用用户以实验室级用水、Tween 20（缓冲液清洗盒）和 0.12% 的次氯酸钠（试剂清洗盒）自备的清洗溶液冲洗系统。 当之前未执行自动运行后清洗时需要执行。

执行手动清洗，需要使用随仪器提供的试剂清洗盒和缓冲液清洗盒，以及用过的流动槽。用过的流动槽最多可用来清洗仪器 20 次。

图 25 试剂清洗盒和缓冲液清洗盒



运行后手动清洗的准备工作

用户自备的耗材	剂量和描述
• NaOCl	1 毫升，稀释为 0.12% 装入到试剂清洗盒（位置 28）
• 100% Tween 20 • 实验室级用水	用于制备 125 毫升的 0.05% Tween 20 清洗液 装入缓冲液清洗盒（中央槽）



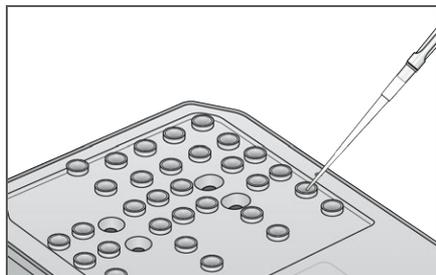
注意

务必使用在刚过去的 24 小时内制备的新鲜 NaOCl 稀释液。如果您制作的量超出了 1 毫升，请将剩余的稀释液存储在 2°C 到 8°C 的温度下，供在接下来的 24 小时内使用。否则，请倒掉剩余的 NaOCl 稀释液。

- 1 在微量离心机试管中装入以下剂量的液体以制成 1 毫升 0.12% 的 NaOCl:
 - ▶ 5% NaOCl (24 微升)
 - ▶ 实验室级用水 (976 微升)

- 2 翻转试管混匀溶液。
- 3 在试剂清洗盒中添加 1 毫升的 0.12% NaOCl。正确的槽位置即预先注入溶液的夹盒上的位置 28。

图 26 装入 NaOCl



- 4 装入以下剂量的液体以制成 0.05% Tween 20 清洗液：
 - ▶ 100% Tween 20 (62 微升)
 - ▶ 实验室级用水 (125 毫升)
- 5 在缓冲液清洗盒的中央槽内加入 125 毫升的清洗液。
- 6 选择 Perform Wash (执行清洗)，然后选择 Manual Post-Run Wash (运行后手动清洗)。

快速清洗的准备工作

用户自备的耗材	剂量和描述
<ul style="list-style-type: none"> • 100% Tween 20 • 实验室级用水 	用于制备 40 毫升的 0.05% Tween 20 清洗液 装入缓冲液清洗盒 (中央槽)

- 1 装入以下剂量的液体以制成 0.05% Tween 20 清洗液：
 - ▶ 100% Tween 20 (20 微升)
 - ▶ 实验室级用水 (40 毫升)
- 2 在缓冲液清洗盒的中央槽内加入 40 毫升的清洗液。
- 3 选择 Perform Wash (执行清洗)，然后选择 Quick Wash (快速清洗)。

装入用过的流动槽和清洗盒

- 1 如果没有用过的流动槽，请装入一个。选择 Load (装入)，然后选择 Next (下一步)。
- 2 取出废试剂容器并根据适用标准处置溶液。



警告

这组试剂中包含甲酰胺，甲酰胺是一种可能为生殖毒素的脂族酰胺。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括护目用具、手套和实验室工作服。将已使用的试剂作为化学废物处理，并且遵循当地政府安全标准丢弃已使用的试剂。有关环境、健康和安全的消息，请参见此试剂盒的 SDS，其载于 support.illumina.com/sds.html。

- 3 将清空的废试剂容器滑入缓冲液仓，直至停下。
- 4 如果里面有上次运行使用过的缓冲液夹盒，请将其取出。

- 5 装入含有清洗液的缓冲液清洗盒。
- 6 如果里面有上次运行使用过的试剂夹盒，请将其取出。
- 7 装入试剂清洗盒。
- 8 选择 **Next**（下一步）。洗前检查随即自动开始。

开始清洗

- 1 选择 **Start**（开始）。
- 2 清洗完成后，请选择 **Home**（主页）。

清洗后

清洗后，吸管仍保持在向下位置，避免空气进入系统。在下次运行之前，请保持夹盒的位置不变。

软件更新

软件更新打包成一个名为“System Suite”的软件包，其中包含下列软件：

- ▶ NextSeq 控制软件 (NCS)
- ▶ NextSeq 配方
- ▶ RTA v2
- ▶ NextSeq 服务软件 (NSS)
- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV)
- ▶ BaseSpace Broker

您可以使用 Internet 连接自动安装软件更新，也可以从网络或 USB 位置手动安装软件更新。

- ▶ **Automatic updates (自动更新)** — 如果仪器已连接到可访问 Internet 的网络，则当有更新可用时，“Home (主页)” 屏幕上的“Manage Instrument (管理仪器)” 按钮上会显示警报图标 。
- ▶ **Manual updates (手动更新)** — 从 Illumina 网站上的 NextSeq 550 支持页面下载 System Suite 安装程序。

自动软件更新

- 1 选择 **Manage Instrument (管理仪器)**。
- 2 选择 **Software Update (软件更新)**。
- 3 选择 **Install the update already downloaded from BaseSpace (安装已从 BaseSpace 下载的更新)**。
- 4 选择 **Update (更新)** 以开始更新。一个对话框即会打开让您确认命令。
- 5 按照安装向导中的提示完成更新：
 - a 接受许可协议。
 - b 查看发行说明。
 - c 查看更新中包含的软件列表。

更新完成后，控制软件会自动重新启动。



注意

如果包含固件更新，则需要在更新固件后自动重新启动系统。

手动软件更新

- 1 从 Illumina 网站下载 System Suite 安装程序，然后将其保存到网络上的位置。或者，将软件安装文件复制到便携式 USB 驱动器。
- 2 选择 **Manage Instrument (管理仪器)**。
- 3 选择 **Software Update (软件更新)**。
- 4 选择 **Manually install the update from the following location (从以下位置手动安装更新)**。
- 5 选择 **Browse (浏览)** 导航到软件安装文件的位置，然后选择 **Update (更新)**。

- 6 按照安装向导中的提示完成更新：
 - a 接受许可协议。
 - b 查看发行说明。
 - c 查看更新中包含的软件列表。

更新完成后，控制软件会自动重新启动。



注意

如果包含固件更新，则需要更新固件后自动重新启动系统。

关闭仪器

- 1 选择 **Manage Instrument**（管理仪器）。
- 2 选择 **System Power Options**（系统电源选项）。
- 3 选择 **Shut Down**（关闭）。
“Shut Down（关闭）”命令会安全地关闭软件和仪器电源。再次打开仪器前，请至少等待 60 秒。



注意

请勿搬迁仪器。不适当地移动仪器可能会影响光学校准并破坏数据完整性。如需搬迁仪器，请与 Illumina 代表联系。

简介

如有技术问题，请访问 Illumina 网站上的 NextSeq 550 支持页面。通过支持页面可以访问文档、下载内容和常见问答。

登录您的 MyIllumina 帐户，查看支持公告。

如有运行质量或性能方面的问题，请与 Illumina 技术支持部门联系。请参见 *技术协助* (第 85 页)。

请将 BaseSpace 中运行摘要的链接共享给 Illumina 技术支持部门，以便他们进行故障诊断。

故障诊断文件

illumina 技术支持代表可能会要求您提供特定于运行或特定于扫描的文件副本，以用于对问题进行故障诊断。通常以下文件可用于故障诊断。

测序运行的故障诊断文件

关键文件	文件夹	描述
运行信息文件 (RunInfo.xml)	根文件夹	包含以下信息： <ul style="list-style-type: none"> • 运行名称 • 运行中的循环次数 • 每个片段中的循环次数 • 片段是否为标签片段 • 流动槽上测绘带和小区的数目
运行参数文件 (RunParameters.xml)	根文件夹	包含有关运行参数和运行组件的信息。这些信息包括 RFID、序列号、部件号和到期日期。
RTA 配置文件 (RTAConfiguration.xml)	Data\Intensities	包含运行的 RTA 配置设置。 RTAConfiguration.xml 文件创建于运行开始时。
InterOp 文件 (*.bin)	InterOp	用于 Sequencing Analysis Viewer 的二进制报告文件。 InterOp 文件会在整个运行期间加以更新。
日志文件	Logs	日志文件描述仪器为每次循环执行的每个步骤，并列出于运行的软件和固件版本。名为 [仪器名称]_CurrentHardware.csv 的文件列出仪器组件的序列号。
错误日志文件 (*ErrorLog*.txt)	RTALogs	RTA 错误日志。 每当发生错误时，都会更新错误日志文件。
全局日志文件 (*GlobalLog*.tsv)	RTALogs	所有 RTA 事件的日志。 全局日志文件会在整个运行期间加以更新。
通道日志文件 (*LaneLog*.txt)	RTALogs	记录 RTA 处理事件。 通道日志文件会在整个运行期间加以更新。

RTA 错误

要对 RTA 错误进行故障诊断，请先检查存储在 RTALogs 文件夹中的 RTA 错误日志。对于成功的运行，此文件不存在。向 illumina 技术支持部门报告问题时，请附上此错误日志。

阵列扫描的故障诊断文件

关键文件	文件夹	描述
扫描参数文件 (ScanParameters.xml)	根文件夹	包含有关扫描参数的信息，该信息包括扫描日期、BeadChip 条形码、簇文件位置和清单文件位置。

关键文件	文件夹	描述
日志文件	Logs	日志文件描述扫描期间仪器上执行的每个步骤。
指标文件	[条形码]	<p>指标作为样品指标和节段指标提供。</p> <p>[条形码]_sample_metrics.csv — 对于每个样品和通道（红色和绿色），会列出偏离百分比图像、异常百分比、P05、P50、P95、平均半高宽、半高宽标准差以及最小配准分值。</p> <p>[条形码]_section_metrics.csv — 对于每个节段和小区，会列出激光 Z 位置、离焦 Z 位置、红色半高宽、绿色半高宽、红色平均像素强度、绿色平均像素强度、红色配准分值和绿色配准分值。</p>
重新扫描文件	[条形码]	[条形码]_rescan_flowcell — 列出针对重新扫描调整的小区位置，包括增强的小区到小区重叠。

解决自动检查错误

如果在自动检查期间发生错误，请使用建议的下列措施予以解决。自动检查的程序因测序和阵列扫描而异。

检查测序运行

如果运行前检查失败，则试剂夹盒 RFID 不会处于锁定状态，因此可以用于后续运行。但是，一旦封口口被刺穿，系统就会锁定 RFID。

系统检查	建议采取的措施
仓门已关闭	确保仓门已关闭。
已装入耗材	耗材传感器未配准。确保每个耗材都已妥当装入。 在运行设置屏幕上选择 Back (返回) 回到装入步骤，然后重复运行设置。
必备软件	软件的关键组件缺失。 执行手动软件更新以恢复所有软件组件。
仪器磁盘空间	仪器硬盘驱动器没有足够的磁盘空间用于执行运行。有可能是上一个运行的数据没有传送走。 清除仪器硬盘上的运行数据。
网络连接	网络连接已中断。检查网络状态和物理网络连接。
网络磁盘空间	BaseSpace 帐户或网络服务器已满。

温度	建议采取的措施
温度	请联系 Illumina 技术支持部门。
温度传感器	请联系 Illumina 技术支持部门。
风扇	请联系 Illumina 技术支持部门。

成像系统	建议采取的措施
成像限制	请联系 Illumina 技术支持部门。
Z 轴步幅和停顿	请联系 Illumina 技术支持部门。
误码率	请联系 Illumina 技术支持部门。
流动槽配准	流动槽有可能未安装妥当。 <ul style="list-style-type: none"> 在运行设置屏幕上选择 Back (返回)，回到流动槽步骤。成像仓门会打开。 卸载流动槽后再重新装回，确保安装妥当。

试剂供应	建议采取的措施
阀响应	请联系 Illumina 技术支持部门。
泵	请联系 Illumina 技术支持部门。
缓冲液装置	请联系 Illumina 技术支持部门。
已清空废试剂	清空废试剂容器，然后重新装入空的容器。

检查阵列扫描

系统检查	建议采取的措施
仓门已关闭	确保仓门已关闭。
已装入耗材	耗材传感器未配准。确保每个耗材都已妥当装入。 在运行设置屏幕上选择 Back (返回) 回到装入步骤，然后重复运行设置。
必备软件	软件的关键组件缺失。 执行手动软件更新以恢复所有软件组件。
验证输入文件	确保簇文件及清单文件均存在，而且其路径正确无误。
仪器磁盘空间	仪器硬盘驱动器没有足够的磁盘空间用于执行运行。有可能是上一个运行的数据没有传送走。 清除仪器硬盘上的运行数据。
网络连接	网络连接已中断。检查网络状态和物理网络连接。
网络磁盘空间	BaseSpace 帐户或网络服务器已满。

成像系统	建议采取的措施
成像限制	请联系 Illumina 技术支持部门。
Z 轴步幅和停顿	请联系 Illumina 技术支持部门。
误码率	请联系 Illumina 技术支持部门。
自动居中	卸载 BeadChip 转接器。确保 BeadChip 已装入转接器中，然后重新装入该转接器。

废试剂容器已满

启动运行时，请始终使用空的废试剂容器。

如果在启动运行前没有排空废试剂容器，则当容器装满时系统传感器会触发软件暂停运行。而在成簇、双末端再合成或运行后自动清洗期间，系统传感器无法暂停运行。

运行暂停时，系统会显示一个对话框，其选项可用于提起吸管和排空已满的容器。

清空废试剂容器

- 1 选择 **Raise Sippers**（提起吸管）。
- 2 取出废试剂容器，然后适当地倒掉其中的溶液。
- 3 将倒空的容器放回缓冲液仓。
- 4 选择 **Continue**（继续）。运行自动恢复。

再次杂化工作流程

如果前几次循环期间生成的指标表明强度低于 2500，则可能需要执行再次杂化运行。一些低多样性文库会显示低于 1000 的强度，这种情况是合理的，而且无法通过再次杂化解决。



注意

“EndRun（结束运行）”命令不可逆。之后将无法恢复运行、重复使用运行的耗材或保存运行的测序数据。

当您结束运行时，软件会在运行结束前执行以下步骤：

- ▶ 将流动槽置于安全状态。
- ▶ 解锁流动槽 RFID，以供之后运行使用。
- ▶ 为流动槽分配再次杂化的到期日期。
- ▶ 为完成的循环写入运行日志。延迟属于正常现象。
- ▶ 跳过运行后自动清洗。

当您开始再次杂化运行时，软件会先执行下列步骤以执行运行：

- ▶ 根据唯一的运行名称创建运行文件夹。
- ▶ 确认流动槽的再次杂化日期未过期。
- ▶ 填装试剂。延迟属于正常现象。
- ▶ 跳过成簇步骤。
- ▶ 取出先前的片段 1 引物。
- ▶ 再次杂化新的片段 1 引物。
- ▶ 根据指定的运行参数继续处理片段 1 及运行剩余物。

结束运行以再次杂化的时间点

仅当您在下列时间点结束运行，之后才能进行再次杂化：

- ▶ **在第 5 次循环之后** — 模板配准之后即会显示强度，而模板配准需要执行头 5 次测序循环。虽然第 1 次循环之后可安全地结束运行，但是仍建议在第 5 次循环之后再结束运行。切勿在簇生成期间结束运行。
- ▶ **片段 1 或标签 1 片段** — 在双末端再合成之前结束运行。双末端再合成开始之后，便无法保存流动槽供之后的再次杂化使用。

必需的耗材

无论之前运行是何时停止的，再次杂化运行都需要使用新的 NextSeq 试剂夹盒和缓冲液夹盒。

结束当前运行

- 1 选择 **End Run（结束运行）**。当系统提示您确认命令时，请选择 **Yes（是）**。
- 2 当系统提示您保存流动槽时，请选择 **Yes（是）**。请注意再次杂化的到期日期。
- 3 取出已保存的流动槽，然后将其置于 2°C 到 8°C 的温度下，直到您准备好设置再次杂化运行。



注意

在 2°C 到 8°C 的温度下，您可以将流动槽置于**不带**干燥剂包的塑料翻盖盒中存储最长 7 天时间。为确保获取最佳效果，请于三天之内再次杂化所保存的流动槽。

执行手动清洗

- 1 从“Home（主页）”屏幕中，选择 **Perform Wash（执行清洗）**。
- 2 从“Wash Selection（清洗选择）”屏幕中，选择 **Manual Post-Run Wash（运行后手动清洗）**。请参见 *执行手动清洗*（第 43 页）。



注意

如果您尚未从停止的运行中取出试剂夹盒和缓冲液夹盒，则可以将这些夹盒用于手动清洗。否则，请使用试剂清洗夹盒和缓冲液清洗夹盒执行手动清洗。

在 BaseSpace “准备” 选项卡上设置新运行

- 1 如果仪器配置为使用 BaseSpace 或 BaseSpace Onsite，请使用与原始运行相同的参数在“Prep（准备）”选项卡上设置新运行。



提示

单击“Pools（混合）”选项卡，选择相应的“Pool ID（混合 ID）”以保留之前的运行设置，然后再为新运行分配一个唯一的名称。

在仪器上设置运行

- 1 准备一个新的试剂夹盒。
- 2 如果之前存储了保留的流动槽，将其恢复至室温（需要 15 至 30 分钟）。
- 3 清洁并装入保留的流动槽。
- 4 取出废试剂容器并适当地倒掉其中的溶液，然后再重新装入空的容器。
- 5 装入新的缓冲液夹盒和试剂夹盒。
- 6 从“Run Setup（运行设置）”屏幕中，选择以下两个选项之一：
 - ▶ **BaseSpace or BaseSpace Onsite（BaseSpace 或 BaseSpace Onsite）** — 选择运行并确认运行参数。
 - ▶ **Standalone（独立）** — 输入运行名称并指定与原始运行相同的参数。
- 7 选择 **Next（下一步）** 以继续执行运行前检查并启动运行。

BeadChip 和扫描错误

软件无法读取 BeadChip 条形码

如果出现条形码错误对话框，请选择以下其中一个选项：

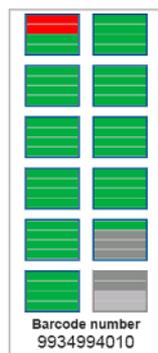
- ▶ 选择 **Rescan（重新扫描）**。软件会尝试再次读取条形码。
- ▶ 选择文本字段，并输入图像中显示的数字条形码。条形码最多有 12 位数字，具体视 BeadChip 而定。选择 **Save（保存）**。条形码图像会存储在输出文件夹中。
- ▶ 选择 **Cancel（取消）**。成像仓门会打开，供您卸载 BeadChip 转接器。

BeadChip 扫描失败

系统扫描图像后会进行配准。配准会将所扫描图像的位置与微珠图或 DMAP 文件夹中提供的信息进行关联，从而识别微珠。

未能配准的节段在 BeadChip 图像上以红色表示。

图 27 BeadChip 显示配准失败的节段



扫描完成后，扫描数据会写入输出文件夹，“Rescan（重新扫描）”按钮将变为可用。

选择“Rescan（重新扫描）”后，软件会执行下列步骤：

- ▶ 通过使用增强的小区到小区重叠，重新扫描包含失败节段的样品。
- ▶ 在原始输出文件夹中生成输出文件。
- ▶ 对于失败的节段，覆盖原有的输出文件。
- ▶ 每执行一次重新扫描，扫描计数器就加 1，但此操作在后台运行。软件不会重命名输出文件夹。

重新扫描或启动新扫描

- 1 选择 **Rescan（重新扫描）** 以扫描包含失败节段的样品。
- 2 如果扫描仍然失败，则结束扫描。
- 3 取下 BeadChip 和转接器，并检查 BeadChip 是否沾上灰尘或碎屑。如果有，请使用罐装空气或其他压缩除尘法清理碎屑。
- 4 重新装入 BeadChip 并启动新扫描。
新的扫描启动后，软件会执行下列步骤：
 - ▶ 扫描整个 BeadChip。
 - ▶ 在新的输出文件夹中生成输出文件。
 - ▶ 扫描计数器在上次重新扫描的计数基础上加 1。

更换清单文件和簇文件

- 1 转至您所用的 BeadChip 对应的 Illumina 支持页面 (support.illumina.com)，单击 **Downloads (下载)** 选项卡。
- 2 下载要更换或更新的文件，将其复制到首选网络位置。



注意

请确保您选择的清单文件和簇文件与 NextSeq 550 系统兼容。兼容文件的文件名中包含 **NS550**。

- 3 只有在位置更改的情况下，才更新 “BeadChip Scan Configuration (BeadChip 扫描配置)” 屏幕上的位置，如下所示：
 - a 从 NCS 的 “Home (主页)” 屏幕中，选择 **Manage Instrument (管理仪器)**。
 - b 选择 **System Configuration (系统配置)**。
 - c 选择 **BeadChip Scan Configuration (BeadChip 扫描配置)**。
- 4 选择 **Browse (浏览)** 并浏览到已更换或已更新文件的所在位置。

自定义配方和配方文件夹

请勿修改原始配方，而是始终将原始配方复制一份，并冠以新名。如果修改了原始配方，则软件更新程序再也无法识别配方供日后更新，也就无法安装新的版本。

请将自定义配方存储在合适的配方文件夹中。配方文件夹按以下方式排列：

 **Custom**

 **High** — 用于高输出试剂盒的自定义配方。

 **Mid** — 用于中输出试剂盒的自定义配方。

 **High** — 用于高输出试剂盒的原始配方。

 **Mid** — 用于中输出试剂盒的原始配方。

 **Wash** — 包含手动清洗配方。

系统检查

正常操作或仪器维护不需要执行系统检查。但是，Illumina 技术支持代表可能会要求您执行系统检查以进行故障诊断。

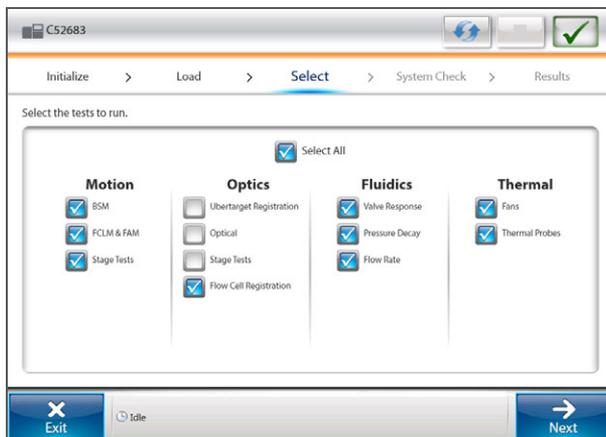


注意

如果到了应清洗仪器的时间，请在启动系统检查之前执行清洗。

启动系统检查将会自动关闭控制软件并启动 NextSeq 服务软件 (NSS)。服务软件会启动并打开至“Load (装入)”屏幕，该屏幕已配置为使用高级装入选项。

图 28 可用的系统检查



“Select (选择)”屏幕上的未激活复选框表示需要 Illumina 现场代表协助的测试。

执行系统检查

- 1 从“Manage Instrument (管理仪器)”屏幕，选择 **System Check (系统检查)**。当系统提示您关闭控制软件时，请选择 **Yes (是)**。
- 2 如下所示装入耗材：
 - a 如果还没有在仪器上装入用过的流动槽，请装入一个。
 - b 清空废试剂容器并放回到仪器。
 - c 在中央槽内装入包含 120 毫升实验室级用水的缓冲液清洗盒。
 - d 装入试剂清洗盒。确保试剂清洗盒是空的，并且是干净的。
- 3 选择 **Load (装入)**。软件会将流动槽和试剂清洗盒移动到位。选择 **Next (下一步)**。
- 4 选择 **Next (下一步)**。系统检查随即开始。
- 5 [可选] 系统检查完成后，选择检查名称旁的 **View (查看)** 可查看每项检查相关联的值。
- 6 选择 **Next (下一步)**。系统检查报告随即打开。
- 7 选择 **Save (保存)** 将报告保存为压缩文件。导航至网络位置以保存文件。
- 8 完成后，选择 **Exit (退出)**。
- 9 当系统提示您关闭服务软件并重新启动控制软件时，请选择 **Yes (是)**。控制软件随即会自动重新启动。

运动检查

系统检查	描述
BSM	检查Bottle Straw Mechanism (BSM) 的增益和距离，以确认模块是否正常工作。
FCLM 和 FAM	检查Flow Cell Load Mechanism (FCLM) 和 Fluid Automation Module (FAM) 的增益和距离，以确认模块是否正常工作。
槽台测试	检查XY 槽台和6个Z 槽台（每个相机各一个）的行程限制和性能。

光学检查

系统检查	描述
流动槽配准	测量流动槽在光学平面上的倾斜度、测试相机功能、测试成像模块并验证流动槽在正确成像位置上的配准情况。

射流检查

系统检查	描述
阀响应	检查阀和泵移动的准确性，并测试泵注射器的移动范围。
压力衰减	检查密封射流系统的泄漏率，由此确认流动槽是否正确安装在测序位置。
流速	检查气泡传感器的功能，该传感器用于检测试剂管路中是否存在空气。测量流速以检查是否有闭塞或泄漏。

热度检查

系统检查	描述
风扇	检查系统风扇的速度（单位为每分钟脉冲数，Pulse Per Minute，简称PPM）以确认风扇是否正常运行。对于无法正常运行的风扇，系统将会返回一个负值。
热探针	检查每个热传感器的平均温度。对于无法正常运行的热传感器，系统将会返回一个负值。

RAID 错误消息

NextSeq 计算机配有 2 个硬盘驱动器。如果其中一个硬盘驱动器开始出现故障，则系统会生成一条 RAID 错误消息，并建议您与 Illumina 技术支持部门联系。这种情况下通常需要更换硬盘驱动器。

您可以继续执行运行设置步骤和常规操作。该消息是为了方便您提前安排维护，避免在常规仪器操作期间发生中断。若要继续操作，请依次选择 **Acknowledge**（确认）和 **Close**（关闭）。

配置系统设置

系统是在安装期间配置的。不过，如果需要更改，或必须重新配置系统，请使用系统配置选项。

- ▶ **Network Configuration (网络配置)** — 提供用于设置 IP 地址、域名服务器 (DNS) 地址、计算机名称和域名的选项。
- ▶ **BaseSpace Configuration (BaseSpace 配置)** — 提供 BaseSpace 中的分析方法 (包括 BaseSpace、BaseSpace Onsite、独立模式) 和运行监控选项，以及默认 BaseSpace 登录和仪器运行状况报告的设置。
- ▶ **BeadChip Scan Configuration (BeadChip 扫描配置)** — 提供用于指定默认 DMAP 文件夹位置、输出文件夹位置、所保存图像的文件格式以及输出文件类型的选项。

设置网络配置

- 1 从“Manage Instrument (管理仪器)”屏幕中，选择 **System Configuration (系统配置)**。
- 2 选择 **Network Configuration (网络配置)**。
- 3 选择 **Obtain an IP address automatically (自动获取 IP 地址)** 以使用 DHCP 服务器获取 IP 地址。



注意

动态主机配置协议 (DHCP) 是一项标准网络协议，用于在 IP 网络上动态分配网络配置参数。

您也可以选择 **Use the following IP address (使用下列 IP 地址)**，按下列方式将仪器手动连接到另一台服务器。请联系网络管理员，以获取您的机构专用的地址。

- ▶ 输入 IP 地址。IP 地址是一串包含 4 个以点分隔的数字的字符，例如 168.62.20.37。
- ▶ 输入子网掩码，它是 IP 网络的细分。
- ▶ 输入默认网关，它是网络上用于连接 Internet 的路由器。

- 4 选择 **Obtain a DNS address automatically (自动获取 DNS 地址)**，以将仪器连接到与该 IP 地址关联的域名服务器。

您也可以选择 **Use the following DNS addresses (使用下列 DNS 地址)**，按以下方式将仪器手动连接到域名服务器。

- ▶ 输入首选 DNS 地址。DNS 地址是用于将域名转换成 IP 地址的服务器名称。
- ▶ 输入备用 DNS 地址。如果首选 DNS 无法将特殊域名转换成 IP 地址，则需要使用备用 DNS。

- 5 选择 **Save (保存)** 进入“Computer (计算机)”屏幕。



注意

在仪器计算机制造期间会向其分配仪器计算机名称。对该计算机名称的任何更改都可能影响网络连接，因此需要由网络管理员执行更改。

- 6 按下列方式将仪器计算机连接到域或工作组：
 - ▶ **对于已连接到 Internet 的仪器** — 选择 **Member of domain (域成员)**，然后输入您的机构与 Internet 连接关联的域名。若要更改域，需要提供管理员用户名和密码。
 - ▶ **对于未连接到 Internet 的仪器** — 选择 **Member of work group (工作组成员)**，然后输入工作组名称。该工作组名称是您的机构所特有的。
- 7 选择 **Save (保存)**。

设置 BaseSpace 配置

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Configuration（系统配置）**。
- 2 选择 **BaseSpace Configuration（BaseSpace 配置）**。
- 3 从下列选项中进行选择，以指定用于后续分析的数据的传输位置。
 - ▶ 选择 **BaseSpace** 以将测序数据发送到 Illumina BaseSpace。[可选] 选中 **Output Folder（输出文件夹）** 复选框，选择 **Browse（浏览）** 并导航到一个次要网络位置，以便除了 BaseSpace 之外也在此处保存 BCL 文件。
 - ▶ 选择 **BaseSpace Onsite**。在“Server Name（服务器名称）”字段中，输入 BaseSpace Onsite 服务器的完整路径。[可选] 选中 **Output Folder（输出文件夹）** 复选框，选择 **Browse（浏览）** 并导航到一个次要网络位置，以便除了 BaseSpace Onsite 服务器之外也在此处保存 BCL 文件。
 - ▶ 选择 **Standalone instrument（独立仪器）** 仅将数据保存到某个网络位置。选择 **Browse（浏览）** 并导航到首选网络位置。控制软件会自动生成输出文件夹名称。
 - ▶ [可选] 选择 **Use Run Monitoring（使用运行监控）**，以使用 BaseSpace 上的可视化工具监控运行。需要登录 BaseSpace 并连接到 Internet。
- 4 选择 **Save（保存）** 进入 BaseSpace 屏幕。
- 5 如果选择了 BaseSpace 或 BaseSpace Onsite，请按以下方式设置 BaseSpace 参数：
 - ▶ 输入 **BaseSpace User Name（用户名）** 和 **Password（密码）**，以在 BaseSpace 中注册仪器。
 - ▶ 选择 **Use default login and bypass the BaseSpace login screen（使用默认登录信息并跳过 BaseSpace 登录屏幕）** 将已注册的用户名和密码设置为默认登录信息。此设置用于在运行设置期间跳过 BaseSpace 屏幕。
- 6 如果之前选择了 BaseSpace，此时请选择 **Send instrument health information to Illumina（将仪器运行状况信息发送给 Illumina）**，以将日志文件发送给 Illumina。此选项不适用于 BaseSpace Onsite。
- 7 选择 **Save（保存）**。

BeadChip 扫描配置

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Configuration（系统配置）**。
- 2 选择 **BeadChip Scan Configuration（BeadChip 扫描配置）**。
- 3 要指定默认的 DMAP 文件夹位置，请选择 **Browse（浏览）** 并导航至您机构的网络上的首选文件夹位置。



注意
执行每次扫描之前，请先下载 DMAP 内容并将其复制到此位置。每个 BeadChip 都需要 DMAP 内容，并且该内容对每个 BeadChip 条形码都是唯一的。
- 4 要指定默认的输出位置，请选择 **Browse（浏览）** 并导航至您机构的网络上的首选位置。
- 5 为保存的图像选择一个图像文件格式。默认的图像类型为 JPG。
- 6 为扫描数据选择一个输出文件格式。默认的输出文件类型为 GTC only（仅限 GTC）。
- 7 选择 **Save（保存）**。

- 8 从“Scan Map (扫描映射)”屏幕，指定每个 BeadChip 类型的清单文件和簇文件的完整路径。针对每种文件类型选择 **Browse (浏览)**，然后导航至包含这些文件的文件夹位置。

实时分析

实时分析概述	68
实时分析工作流程	70



实时分析概述

NextSeq 500 使用称为 RTA v2 的实时分析 (RTA) 软件的实现。RTA v2 在仪器计算机上运行，会从图像提取强度、执行碱基检出，并为碱基检出分配质量分值。RTA v2 和控制软件通过 Web HTTP 接口和共享内存文件进行通信。RTA v2 一旦被终止，处理过程便无法恢复，并且运行数据也不会保存下来。



注意

RTA2 不会计算逆多路复用性能。因此，系统不会填充 Sequencing Analysis Viewer (SAV) 中的“Index (标签)”选项卡。

RTA v2 输入

需要输入以下内容，RTA v2 才能执行处理：

- ▶ 包含在本地系统内存中的小区图像。
- ▶ RunInfo.xml，它在运行开始时自动生成，会指定运行名称、循环次数、片段是否带有标签，以及流动槽上的小区数量。
- ▶ RTA.exe.config，它是 XML 格式的软件配置文件。

RTA v2 从控制软件接收有关 RunInfo.xml 的位置以及是否指定了可选输出文件夹方面的命令。

RTA v2 输出文件

每个通道的图像在内存中均作为小区传递。小区是流动槽上的小成像区域，定义为相机的视野。软件根据这些图像以一组带有质量分值的碱基检出文件和过滤文件的形式生成输出。其他所有文件均为支持输出文件。

文件类型	描述
碱基检出文件	已分析的每个小区纳入针对每个通道和每次循环累积的碱基检出 (*.bcl) 文件中。累积的碱基检出文件包含该通道中每个簇的碱基检出以及相关的质量分值。
过滤文件	每个小区都会生成过滤信息，针对每个通道累积到 1 个过滤 (*.filter) 文件中。过滤文件指定簇是否通过过滤。
簇位置文件	对于小区中的每个簇，簇位置 (*.locs) 文件包含 X 坐标和 Y 坐标。在模板生成期间，会针对每个通道生成簇位置文件。
碱基检出标签文件	为保留原始小区信息，会针对每个通道生成碱基检出标签 (*.bci) 文件。该标签文件包含与每个小区对应的一对值，即小区编号和该小区的簇数量。

输出文件用于 BaseSpace 中的下游分析。也可以将 bcl2fastq 转换软件用于 FASTQ 转换以及第三方分析解决方案。NextSeq 文件需要使用 bcl2fastq v2.0 或更高版本。如需 bcl2fastq 的最新版本，请访问 Illumina 网站上的 NextSeq 下载页面。

RTA v2 提供作为 InterOp 文件存储的运行质量实时指标。InterOp 文件为二进制输出，它包含小区、循环和片段级别指标，使用 Sequencing Analysis Viewer (SAV) 查看实时指标时需要该文件。如需 SAV 的最新版本，请访问 Illumina 网站上的 SAV 下载页面。

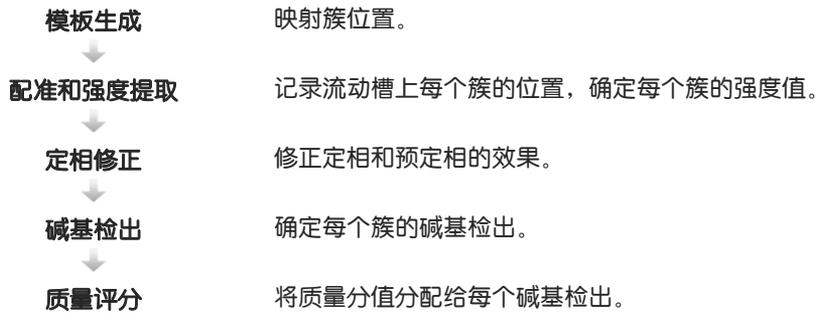
错误处理

RTA v2 会创建日志文件并将其写入 RTALogs 文件夹。错误以 *.tsv 文件格式记录在错误文件中。

在处理结束时，以下日志和错误文件会传送至最终输出目的地：

- ▶ *GlobalLog*.tsv 汇总重要运行事件。
- ▶ *LaneNLog*.tsv 列出每个通道的处理事件。
- ▶ *Error*.tsv 列出在运行期间发生的错误。
- ▶ *WarningLog*.tsv 列出在运行期间发生的警告。

实时分析工作流程



模板生成

RTA 工作流程中的第一个步骤就是模板生成，在此步骤中，将使用 X 和 Y 坐标定义小区中每个簇的位置。

模板生成需要运行的前 5 次循环产生的图像数据。小区的最后一个模板循环成像后，随即会生成模板。



注意

要在模板生成期间检测簇，头 5 次循环中必须至少有一个非 G 碱基。对于任何标签序列，RTA v2 需要头 2 次循环中至少有一个非 G 碱基。

模板用作配准和强度提取的后续步骤的参考。整个流动槽的簇位置将写入簇位置 (*.locs) 文件，每个通道 1 个文件。

配准和强度提取

模板生成之后，就会开始配准和强度提取。

- ▶ 配准用于对照模板比对针对成像的每次后续循环生成的图像。
- ▶ 强度提取用于确定给定图像的模板中每个簇的强度值。

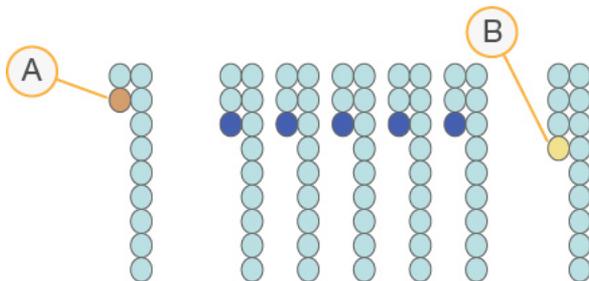
如果某次循环中的任何图像的配准失败，则在该循环中不会为该小区生成碱基检出。使用 Sequencing Analysis Viewer (SAV) 软件来检查缩略图图像并标识配准失败的图像。

定相修正

在测序反应期间，簇中的每个 DNA 链在每次循环中均会扩展一个碱基。定相和预定相在 DNA 链与当前结合循环异相时发生。

- ▶ 当碱基落在后面时，便会发生定相。
- ▶ 当碱基跳到前面时，便会发生预定相。

图 29 定相和预定相



- A 具有定相碱基的片段
- B 具有预定相碱基的片段

RTA v2 会修正定相和预定相的效果，从而尽可能提高整个运行期间每次循环的数据质量。

碱基检出

碱基检出用于确定特定循环中给定小区的每个簇的碱基（A、C、G 或 T）。NextSeq 550 使用 2 通道测序，因此只需要 2 个图像即可对 4 种 DNA 碱基的数据进行编码，一个图像来自红色通道，一个图像来自绿色通道。

两个图像相比之下提取的强度会产生 4 个不同的种群，每个种群对应于一种核苷酸。碱基检出流程决定了每个簇属于哪个种群。

图 30 簇强度展示图

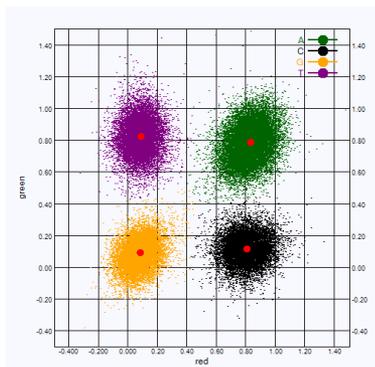


表 1 2 通道测序的碱基检出

碱基	红色通道	绿色通道	结果
A	1 (开)	1 (开)	簇在红色通道和绿色通道中都显示强度。
C	1 (开)	0 (关)	簇只在红色通道中显示强度。
G	0 (关)	0 (关)	簇在已知的簇位置上未显示强度。
T	0 (关)	1 (开)	簇只在绿色通道中显示强度。

簇通过过滤

在运行期间，RTA v2 会过滤原始数据，删除任何不符合数据质量阈值的片段，并去除重叠和低质量的簇。

对于 2 通道分析，RTA v2 使用基于种群的系统确定碱基检出的纯度。如果在前 25 次循环中，纯度 < 0.63 的碱基检出不超过 1 个，簇将通过过滤 (PF)。未通过过滤的簇则不会检出碱基。

标签注意事项

针对标签片段的碱基检出过程与其他片段的碱基检出过程有所不同。

在前 2 次循环中的任一循环内，标签片段的开头必须至少有 1 个碱基不是 G。如果标签片段所检出的前 2 个碱基均为 G，则不会生成信号强度。前 2 次循环中的任一循环必须存在信号，这样才能保证逆多路复用性能。

为提高逆多路复用性能，请为每次循环选择至少 1 个通道中存在信号（最好是两个通道中都存在信号）的标签序列。遵循此准则可避免出现导致每次循环都只有 G 碱基的标签组合。

- ▶ 红色通道 — A 或 C
- ▶ 绿色通道 — A 或 T

此碱基检出过程可以保证分析低重样品时的准确性。

质量评分

质量分值（或 Q-score）是对碱基检出不正确的可能性的预测。Q-score 越高，表示碱基检出的质量越高，正确率也越高。

Q-score 可作为一种告知小错误可能性的简单方法。质量分值以 $Q(X)$ 表示，其中 X 是分值。下表显示了质量分值与错误概率之间的关系。

Q-Score $Q(X)$	错误概率
Q40	0.0001（万分之一）
Q30	0.001（千分之一）
Q20	0.01（百分之一）
Q10	0.1（十分之一）



注意

质量评分基于 Phred 算法的修改版本计算。

质量评分会计算每个碱基检出的一组预测因素，然后使用预测因素值在质量表中查找 Q-score。创建质量表的目的是根据特定的测序平台和化学反应版本配置为生成的运行提供最准确的质量预测。

确定 Q-score 之后，结果会记录在碱基检出 (*.bcl) 文件中。

输出文件和文件夹

测序输出文件	74
测序输出文件夹结构	78
扫描输出文件	79
扫描输出文件夹结构	80



测序输出文件

文件类型	文件描述、位置和名称
碱基检出文件	<p>在每次循环中，已分析的每个小区均纳入一个碱基检出文件，并且针对每个通道累积到 1 个文件中。累积的文件包含该通道中每个簇的碱基检出以及已编码的质量分值。</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — 对于每个通道，文件均存储在 1 个文件夹中。</p> <p>[循环].bcl.bgzf，其中 [循环] 代表循环次数（以 4 位数表示）。系统使用数据块 gzip 压缩方式来压缩碱基检出文件。</p>
碱基检出标签文件	<p>对于每个通道，二进制标签文件以每个小区一对值的方式列出了原始小区信息，即小区编号和该小区的簇数量。</p> <p>首次为该通道创建碱基检出文件时，会创建碱基检出标签文件。</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — 对于每个通道，文件均存储在 1 个文件夹中。</p> <p>s_[通道].bci</p>
簇位置文件	<p>对于每个小区，每个簇对应的 X 坐标和 Y 坐标会针对每个通道累积到 1 个簇位置文件中。簇位置文件是模板生成的成果。</p> <p>Data\Intensities\L00[X] — 对于每个通道，文件均存储在 1 个文件夹中。</p> <p>s_[通道].locs</p>
过滤文件	<p>过滤文件指定簇是否通过过滤。每个通道和片段的过滤信息会累积到 1 个过滤文件中。</p> <p>过滤文件在第 26 次循环时使用前 25 次循环的数据生成。</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X] — 对于每个通道，文件均存储在 1 个文件夹中。</p> <p>s_[通道].filter</p>
InterOp 文件	<p>用于 Sequencing Analysis Viewer (SAV) 的二进制报告文件。InterOp 文件会在整个运行期间加以更新。</p> <p>InterOp 文件夹</p>
RTA 配置文件	<p>RTA 配置文件在运行开始时创建，列出了运行的设置。</p> <p>[根文件夹], RTAConfiguration.xml</p>
运行信息文件	<p>列出运行名称、每个片段中的循环次数、片段是否为带标签的片段以及流动槽上测绘带和小区的数量。运行信息文件创建于运行开始时。</p> <p>[根文件夹], RunInfo.xml</p>
缩略图文件	<p>在成像期间的每次循环中，由顶面和底面所有相机生成的小区 1、6 和 12 的每个颜色通道（红色和绿色）的缩略图。</p> <p>Thumbnail_Images\L00[X]\C[X.1] — 对于每个通道，文件均存储在 1 个文件夹中，对于每次循环，文件均存储在 1 个子文件夹中。</p> <p>s_[通道]_[小区]_[通道].jpg — 在该文件名中，小区以 5 位数表示，这些数字分别代表表面、测绘带、相机和小区。有关详细信息，请参见小区编号(第 76 页) 以及缩略图命名(第 77 页)。</p>

流动槽小区

小区是流动槽上的小成像区域，定义为相机的视野。小区总数取决于流动槽上成像的通道、测绘带和表面的数量，以及各相机相互配合收集图像的方式。

- ▶ 高输出流动槽共有 864 个小区。
- ▶ 中等输出流动槽共有 288 个小区。

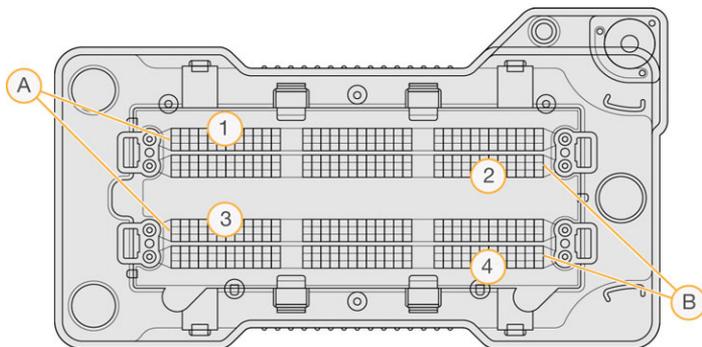
表2 流动槽小区

流动槽组件	高输出	中输出	描述
通道	4	4	通道是指带有专用输入端口和输出端口的物理通道。
表面	2	2	流动槽会在顶面和底面这两个表面成像。一个小区的顶面成像后，该小区的底面会接着成像，之后会移至下一个小区。
每通道测绘带数	3	1	测绘带是通道中的一列小区。
相机片段	3	3	仪器使用6个相机对流动槽成像，为每个通道成像3个片段。
每个相机片段的每测绘带小区数	12	12	小区是流动槽上的区域，相机将其视为一个图像。
成像小区总计	864	288	小区总数 = 通道数 × 表面数 × 测绘带数 × 相机片段数 × 每个片段的每测绘带小区数。

通道编号

通道 1 和 3（称为“通道对 A”）同时成像。通道 2 和 4（称为“通道对 B”）在通道对 A 完成成像后成像。

图 31 通道编号

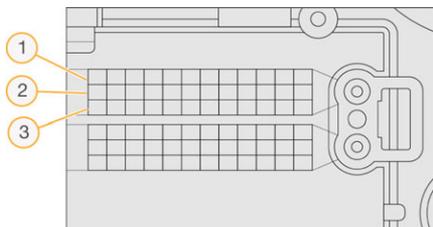


- A 通道对 A—通道 1 和 3
- B 通道对 B—通道 2 和 4

测绘带编号

每个通道在 3 个测绘带中成像。对于高输出流动槽，测绘带以 1-3 编号。

图 32 测绘带编号

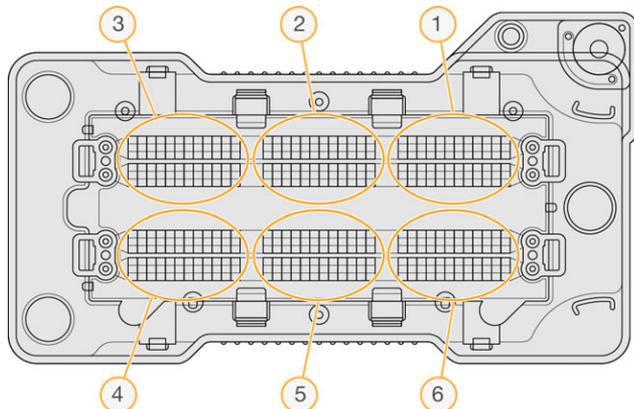


相机编号

NextSeq 550 使用 6 个相机对流动槽成像。

相机以 1-6 编号，其中相机 1-3 对通道 1 成像，相机 4-6 对通道 3 成像。通道 1 和 3 成像结束后，成像模块会移至 X 轴对通道 2 和 4 成像。

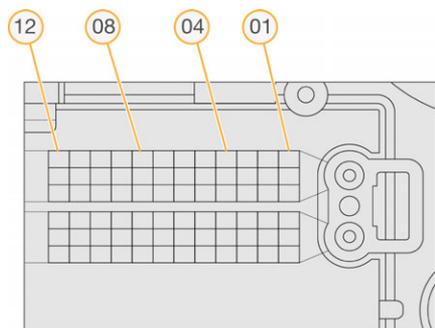
图 33 相机和片段编号（所示为高输出流动槽）



小区编号

每个相机片段每个测绘带有 12 个小区。无论对应哪个测绘带编号或相机区段，小区均以 01-12 编号，并用 2 位数表示。

图 34 小区编号



完整的小区编号采用 5 位数来表示位置，如下所示：

- ▶ **表面** — 1 表示顶面，2 表示底面
- ▶ **测绘带** — 1、2 或 3
- ▶ **相机** — 1、2、3、4、5 或 6
- ▶ **小区** — 01、02、03、04、05、06、07、08、09、10、11 或 12

示例：小区编号 12508 表示顶面、测绘带 2、相机 5 和小区 8。

完整的 5 位数小区编号用于缩略图和经经验定相文件的文件名。有关详细信息，请参见[测序输出文件](#)(第 74 页)。

缩略图命名

在成像期间的每次循环，小区 1、6 和 12 的每个颜色通道（红色和绿色）的缩略图由顶面和底面所有相机生成。生成的缩略图文件为 JPG 文件格式。

每个图像都按小区编号命名并一律以 **s_** 开头，如下列命名约定所示：

- ▶ **通道** — 1、2、3 或 4
- ▶ **小区** — 5 位数小区编号，表示表面、测绘带、相机和小区
- ▶ **通道** — 红色或绿色

示例： s_3_12512_green.jpg 表示通道 3、顶面、测绘带 2、相机 5、小区 12 和绿色通道。

测序输出文件夹结构

控制软件会自动生成输出文件夹名称。

📁 Data

📁 Intensities

📁 BaseCalls

📁 L001 — 通道 1 的碱基检出文件，每次循环累积在 1 个文件中。

📁 L002 — 通道 2 的碱基检出文件，每次循环累积在 1 个文件中。

📁 L003 — 通道 3 的碱基检出文件，每次循环累积在 1 个文件中。

📁 L004 — 通道 4 的碱基检出文件，每次循环累积在 1 个文件中。

📁 L001 — 通道 1 的累积 *.locs 文件。

📁 L002 — 通道 2 的累积 *.locs 文件。

📁 L003 — 通道 3 的累积 *.locs 文件。

📁 L004 — 通道 4 的累积 *.locs 文件。

📁 Images

📁 Focus

📁 L001 — 通道 1 的聚焦图像。

📁 L002 — 通道 2 的聚焦图像。

📁 L003 — 通道 3 的聚焦图像。

📁 L004 — 通道 4 的聚焦图像。

📁 **InterOp** — Sequencing Analysis Viewer (SAV) 使用的二进制文件。

📁 **Logs** — 描述运行步骤的日志文件。

📁 **Recipe** — 以试剂夹盒 ID 命名的运行特定配方文件。

📁 **RTALogs** — 描述分析步骤的日志文件。

📁 **Thumbnail_Images** — 每次循环每个测绘带中第 1、6 和 12 小区的缩略图。

📄 RTAComplete.xml

📄 RTAConfiguration.xml

📄 RunInfo.xml

📄 RunNotes.xml

📄 RunParameters.xml

扫描输出文件

文件类型	文件描述、位置和名称
GTC 文件	<p>基因型检出文件。对于BeadChip上扫描的每个样品，系统会生成一个GTC文件。文件名包含所扫描的条形码和样品。</p> <p>[条形码]_[样品].gtc</p>
图像文件	<p>图像文件根据BeadChip上所扫描的区域命名。该名称包括BeadChip上的条形码、样品和节段，以及测绘带和成像通道（红色或绿色）。</p> <p>[条形码]_[样品]_[节段]_[测绘带]_[相机]_[小区]_[通道].jpg</p> <ul style="list-style-type: none"> • 条形码—文件名以BeadChip条形码开头。 • 样品—BeadChip上的区域，按行自上而下编号（R0X），以及按列从左到右编号（C0X）。 • 节段—样品中编号的行。 • 测绘带—BeadChips 作为一组重叠小区成像。因此，只有1个测绘带用于对节段成像。 • 相机—相机用于收集图像。 • 小区—定义为相机视野的成像区域。 • 通道—通道为红色或绿色。

扫描输出文件夹结构

- 📁 [日期]_[仪器名称]_[扫描编号]_[条形码]
 - 📁 [条形码]
 - 📁 Config
 - 📄 Effective.cfg — 记录运行期间所用的配置设置。
 - 📁 Focus — 包含聚焦扫描所用的图像文件。
 - 📁 Logs — 所包含的日志文件列出了扫描期间执行的每个步骤。
 - 📁 PreScanDiagnosticFiles
 - 📁 [日期_时间] Barcode Scan
 - 📄 ProcessedBarcode.jpg — BeadChip 条形码的图像。
 - 📄 Scanning Diagnostics (日志文件)
 - 📄 PreScanChecks.csv — 记录自动检查的结果。
 - 📄 GTC 文件 — 基因型检出文件（每个样品一个文件）。
 - 📄 IDAT 文件 — [可选] 强度数据文件（每个样品 2 个文件，每个通道 1 个文件）。
 - 📄 图像文件 — 扫描每个样品、节段、测绘带、相机、小区和通道的图像。
 - 📄 [条形码]_sample_metrics.csv
 - 📄 [条形码]_section_metrics.csv
- 📄 ScanParameters.xml

B

- BaseSpace 2
 - 传输图标 30
 - 登录 23
- BaseSpace 配置 26
- BeadChip
 - 分析 2
 - 类型 2
 - 配准失败 58
 - 条形码方向 37
 - 无法读取条形码 58
 - 转接器 6, 37
 - 装入 38
- BlueFuse Multi 软件 2

D

- 帮助
 - 文档 3
- 帮助, 技术 85
- 标签注意事项 71
- 测绘带编号 75
- 测序
 - 用户自备的耗材 15

I

- 测序工作流程 70

L

- 成像仓 4

Q

- 纯度过滤 71

R

- 次氯酸钠, 清洗 43
- 簇通过过滤 71
- 簇位置
 - 模板生成 70
 - 文件 74
- 错误概率 72
- 错误和警告 5
 - 在输出文件中 69
- Decode File Client 34
 - 按 BeadChip 访问 36
 - 按帐户访问 36

巛

- DMAP 文件夹
 - Decode File Client 34
 - 正在下载 36

杧

- 电源按钮 6, 12

洝

- 电源开关 12
- 定相, 预定相 70
- 独立配置 27
- 废试剂
 - 处理 23, 44
 - 容器已满 55

檣

- 分析
 - 输出文件 74

篋

- 分析, 初级
 - 信号纯度 71
- GTC 文件 79

钹

- 高级装入选项 13–14
- 更新软件 46
- 工作流程
 - BaseSpace 登录 23
 - BaseSpace 模式 26
 - BeadChip 38
 - 标签注意事项 71
 - 测序 70
 - 次氯酸钠 43
 - 独立模式 27
 - 废试剂 23
 - 概述 19, 35
 - 高级装入选项 14
 - 缓冲液夹盒 24
 - 流动槽 23
 - 流动槽准备 21
 - 试剂夹盒 20, 25
 - 运行持续时间 18
 - 运行前检查 27, 39

运行指标 29

熬

故障诊断

- 低质量指标 56
- 废试剂容器 55
- 更换清单文件和簇文件 59
- 联系选项 50
- 扫描配准失败 58
- 特定于扫描的文件 51
- 特定于运行的文件 51
- 无法读取 BeadChip 条形码 58
- 系统检查 61
- 运行前检查 53

关闭仪器 48

管理仪器

- 关闭 48
- 自定义 13

孽

过滤文件 74

耗材 7

- 测序运行 15
- 缓冲液夹盒 9
- 流动槽 7
- 清洗耗材 43
- 实验室级用水 15
- 试剂夹盒 8
- 仪器维护 15

缓冲液仓 4

儗

缓冲液夹盒 9, 24

笛

InterOp 文件 51, 74

技术协助 85

甲酰胺, 位置 6 25

轧

兼容性

- RFID 跟踪 7-8
- 流动槽, 试剂夹盒 7

羴

碱基检出 71

- 标签注意事项 71

碱基检出文件 74

经验定相 70

客户支持 85

控制软件 5

纳

locs 文件 74

流动槽

- 包装 21
- 测绘带编号 75
- 成像 76
- 对准针 23
- 概述 7
- 类型 2
- 清洁 21
- 通道编号 75
- 通道对 7
- 图像文件命名 77
- 小区 74
- 小区编号 76
- 再次杂化 56

泡

模板生成 70

配置设置 64

片段长度 18

片段中的循环 18

Q-score 72

强度 71

清除耗材 14

清洗

- 清洗组件 43
- 手动清洗 43
- 用户自备的耗材 43
- 自动 31

稿

RAID 错误消息 63

郭

RFID 跟踪 7

燧

RTA v2

- 终止 68

廚

RTA2

- 错误处理 69

淳

RTAv2

- 概述 68

Run Copy Service 30

RunInfo.xml 51, 74

日志文件

- GlobalLog 69

LaneNLog 69

數

软件

- 初始化 12
- 配置设置 64
- 手动更新 46
- 图像分析, 碱基检出 5
- 仪器内 5
- 仪器设置 13
- 运行持续时间 18
- 自动更新 46

輶

Sequencing Analysis Viewer 18

戈

扫描输出文件

- GTC, IDAT 79

嬾

实时分析

- 定相 70

实时分析软件 2, 5

- 结果 74

实验室级用水准则 15

澀

试剂

- 套装 7
- 妥善处理 25

试剂仓 4

试剂夹盒

- 槽 28 43
- 概述 8
- 制备 20

輳

输出文件 74

输出文件, 测序 74

输出文件, 扫描

- GTC, IDAT 79

输入文件, 扫描

- DMAP 文件夹 34
- DMAP 文件夹, 下载 36
- 簇文件 34, 59
- 清单文件 34, 59

攘

数据传输

- Run Copy Service 30
- 活动图标 30
- 扫描数据 40

纒

缩略图 74

辺

通道编号 75

通道对 75

通过过滤 (PF) 71

塙

头像名称 13

嘉

图标

- 错误和警告 5
- 状态 5

图像, 2 通道测序 71

纒

维护, 预防性 42

擲

文档 3, 85

文件夹位置 27

肅

系统检查 61

系统用户名和密码 12

晴

相机编号 76

享

小区编号 76

事

仪器

- 电源按钮 6
- 配置设置 64
- 启动 12

仪器名称, 自定义 13

仪器清洗 43

仪器维护

- 耗材 15

庵

引物再次杂化 56

瓊

用户名和密码 12

用户自备的耗材 15

頤

预防性维护 42

轰

运行参数

 BaseSpace 模式 26

 编辑参数 26

 独立模式 27

运行持续时间 18

运行后清洗 31

运行前检查 27, 39

运行前检查错误 53

运行设置, 高级选项 14

运行指标 29

覩

再次杂化, 片段 1 56

嚙

在线培训 3

摺

指标

 簇密度循环 29

 碱基检出 71

 强度循环 29

賈

质量分值 72

 Phred 算法 72

輻

转接器

 BeadChip 方向 37

 BeadChip 装入 38

 概述 6

牖

状态警报 5

状态栏 4

膊

自定义 13

募

组件

 成像仓 4

 缓冲液仓 4

 试剂仓 4

 状态栏 4

技术协助

如需技术协助，请与 Illumina 技术支持部门联系。

表 3 Illumina 常用联系信息

网站	www.illumina.com
电子邮件	techsupport@illumina.com

表 4 Illumina 客户支持电话号码

地区	联系号码	地区	联系号码
北美洲	1.800.809.4566	瑞典	020790181
澳大利亚	1.800.775.688	瑞士	0800.563118
爱尔兰	1.800.812949	台湾	00806651752
奥地利	0800.296575	西班牙	900.812168
比利时	0800.81102	香港	800960230
丹麦	80882346	新加坡	1.800.579.2745
德国	0800.180.8994	新西兰	0800.451.650
法国	0800.911850	意大利	800.874909
芬兰	0800.918363	英国	0800.917.0041
荷兰	0800.0223859	中国	400.635.9898
挪威	800.16836	其他国家/地区	+44.1799.534000
日本	0800.111.5011		

安全数据表 (safety data sheet, 简称 SDS) — 可通过 Illumina 网站 (support.illumina.com/sds.html) 获取。

产品文档 — 可通过 Illumina 网站下载 PDF 版本。请转到 support.illumina.com，选择一个产品，然后选择 **Documentation & Literature (文档与文献)**。

