

NGL-SEQUENÇAGE (NGL-SQ):

Déclaration des processus de Séquençage > Run Illumina et des expériences de prep. Flowcell et dépôt Illumina

Note:

Depuis la mise en production d'NGL-SQ (prépa FC et dépôt) (30/03/2015) :

- Le LIMS reste maître jusqu'aux solutions stocks :
 - Continuer à déclarer les solutions stocks individuelles ainsi que les pools de solutions stocks dans le LIMS.
 - Continuer à passer les solutions stocks « à déposer » dans le LIMS et continuer à planifier vos FC en vous aidant du BO « Bilan des solutions stocks à déposer ».
- Les solutions stocks « à déposer » sont importées dans NGL-SQ à l'état « Processus en attente » (import toutes les 5 min) cf. Annexe 2.2
- Si une solution stock est remise à « En réserve » dans le LIMS (exemple : sol stock mise dans un pool) :
 - et qu'elle n'a pas de processus dans NGL \Rightarrow elle est mise à « En stock » dans NGL (update toutes les 5 min).
 - <u>et qu'elle a déjà un processus</u> dans NGL ➪ son état NGL n'est pas modifié.
- La création de dénat-dil, de prépa FC et dépôt n'est plus possible dans le LIMS à partir du 30 mars. Tout sera déclaré exclusivement dans NGL-SQ (prepFC qui inclut la dénat-dil et dépôt).



Table des matières

1.	Créa	tion processus Run Illumina	3								
:	1.1)	Mettre à jour les propriétés d'un (ou de plusieurs) processus	4								
:	1.2)	Supprimer des processus que vous n'auriez pas dû créer	4								
2.	Créa	tion expérience : Préparation Flowcell	5								
:	2.1)	ort CSV et macro pour la FDR prep FC									
:	2.2)	marrer la progression									
:	2.3)	rminer l'expérience									
	2.3.1	Continuer									
	2.3.2	Recommencer l'expérience									
	2.3.3	Arrêter le processus									
2.	Créa	tion expérience dépôt	9								
	3.1)	Générer la sample sheet	9								
;	3.2)	Démarrer la progression	10								
	3.3)	Terminer l'expérience	10								
	3.3.1	Recommencer l'expérience									
	3.3.2) Terminer	10								
3.	Gére	r une erreur de container dans une expérience de prep-FC	11								
4.	Redé	Redéposer une solution stock									
5.	* Cha	* Changement d'état container : attention									
6.	Men	Menus Recherche									
7.	Traçabilité des réactifs dans les expériences										
8.	Infos	générales	12								
9.	Anne	exes	13								
	Annexe 1 Workflows : interactions										
	Anne	exe 2.1 Graphique processus séquençage run illumina	15								
	Anne	exe 2.2 Synchronisation LIMS-NGL	16								
	Anne	exe 3.1 Recherche Supports	17								
	Anne	exe 3.2 Interface Recherche Container	18								
	Anne	exe 3.3 Interface Recherche Processus	19								
	Anne	exe 3.4 Interface Recherche Expérience	20								
	Anne	exe 4 Résultat macro mise en forme FDR prep FC	21								
	Anne	exe 5.1 FDR Miseq single ou non indexé (valide pour du single 6 ou 8 bases)	22								
	Anne	exe 5.2 FDR Hiseq single et non indexé (valide pour du single 6 bases)	23								
	Anne	exe 5.3 Pour gérer le dual indexing	24								



1. Création processus Run Illumina

Vous pouvez choisir de :

- Créer les processus en masse sur un grand nombre de solutions stocks (par anticipation) (recommandé pour une version ultérieure d'NGL-SQ)
 OU
- Créer uniquement les processus des solutions stocks concernées par la FC que vous devez créer dans NGL (recommandé pour la v1 d'NGL-SQ)
- Aller dans le menu **Processus > Création.**
- Choisir le processus à créer : *Catégorie :* **Séquençage** *Type :* **Run Illumina**. Les containers issus de « solution stock » sont préfiltrés par défaut. (Attention à ne pas créer des processus sur les tubes !)
- Utiliser les filtres de recherche (si besoin) pour rechercher efficacement vos containers parmi la liste importante de solutions stocks :

Filtres de recherche disponibles :

- Projet(s): exemple: BCU ✓ BGN ✓
- Echantillon(s): exemple: BCU_A

 BCU_B

 BGN_C

 ✓
- Regex pour code support: exemple: « msDPG » pour rechercher BCU msDPG d1
- Si les solutions stocks que vous cherchez ne sont pas dans la liste, faire une recherche de containers pour vérifier à quel état elles sont. Si elles ne sont pas à « En attente de processus » : nous avertir* (et se référer au paragraphe changement d'état container).
- Sélectionner les containers destinés au processus de séquençage et les mettre dans le panier.
- Cliquer sur l'onglet Run Illumina dans le volet de gauche pour visualiser le panier de containers.
- Sélectionner tout, Editer, Renseigner les propriétés de processus :
 - Type séquençage
 - Type de lectures
 - Longueur de lecture
 - % à déposer prévisionnel
- Avant d'enregistrer vous pouvez compter combien de processus vont être créés en sommant le nb de contents de vos containers.
- **Enregistrer**. Attendre que « Sauvegarde réussie » apparaisse (peut prendre 1 à 2 min si pool de 384 par exemple).
- ➡ Un processus est créé par content (un content correspond ici à un échantillon_TAG)
 Exemple : msDPF_d1 contient 47 contents (pool de 47 sol stocks) => 47 processus sont créés.
- ⇒ cf. Annexe 1 : Les containers (sol. stocks) passent alors à « Disponible transformation » pour l'expérience de prepa-FC.



1.1) Mettre à jour les propriétés d'un (ou de plusieurs) processus

Si vous souhaitez modifier le type de séquençage, le type de lectures, la longueur de lectures ou le % à déposer prévisionnel (propriétés de processus Run Illumina) :

- Aller dans le menu Processus > Recherche.
- **Filtrer sur** *Cat* : **Séquençage** *Type* : **Run Illumina** pour faire apparaître les colonnes des propriétés.
- Rechercher et sélectionner les processus à modifier.
- Editer.
- Faire les modifications et enregistrer.

1.2) Supprimer des processus que vous n'auriez pas dû créer

Si vous souhaitez supprimer un processus que vous n'auriez pas dû créer :

- Vérifier que les processus à supprimer sont à Nouveau et qu'ils n'ont pas d'expérience associée (= rien dans la colonne Expériences).
- Vérifier que le container associé N'EST PAS à Disponible transformation

 si c'est le cas, le passer En stock.
- Aller dans le menu Processus > Suppression.
- Rechercher et sélectionner les processus à supprimer.
- Supprimer. (Si vous supprimez des processus par pages de 100, bien attendre que la page 1 se soit rechargée à chaque fois)
- Règles:
 - Un processus ne peut être supprimé que s'il est à « Nouveau ».
 - Un processus ne peut être supprimé que s'il n'a pas d'expérience associée (elle serait à Nouveau dans ce cas et le container à Expérience en attente).
 - Un processus ne peut pas être supprimé si le container associé est à « Disponible » ou « Disponible transformation », etc.

NE PAS ACCEPTER la suppression processus si l'une des 3 raisons :

- processus différent de Nouveau
- OU il existe une expérience associée au processus
- OU état container initial commence par "A-" (disponible transformation/...)

On a le droit si:

- processus est à Nouveau
- ET il n'y a pas d'expérience associée
- ET l'état container initial est différent de "A-" (disponible transformation/...)



2. Création expérience : Préparation Flowcell

- cf. Annexes 1 et 2.1 : les containers (sol. stocks) « En attente de processus » auxquels on a associé un processus sont passés à « Disponible transformation » pour la 1^{ère} expérience du processus (ici : prep FC).
- Aller dans le menu Expérience > Création.
- Sélect. une transformation : Préparation flowcell. Lancer la recherche sur les tubes pouvant entrer dans cette expérience.
- Utiliser les filtres de recherche (si besoin) pour rechercher efficacement vos containers parmi la liste importante de supports containers :

Filtres de recherche disponibles :

- **Sélect catégorie processus :** Séquençage

 ⇒ Des <u>filtres supplémentaires</u> apparaissent, correspondant aux propriétés du processus :
 - Type séquençage
 - Type de lectures
 - Longueur de lecture
- Projet(s)
- Echantillon(s)
- Regex pour code support
- Sélectionner les containers pour l'expérience et les mettre dans le panier.
- Cliquer sur l'onglet Préparation Flowcell dans le volet de gauche pour visualiser le panier de containers.
- Cliquer sur Configurer Préparation Flowcell puis sur Configurer Préparation Flowcell à gauche.
- Renseigner les propriétés de l'expérience et de l'instrument :
 - Protocole
 - Type instrument
 - Instrument
 - Container sortie ⇒ fait apparaître le bon nombre de lignes dans composition flowcell
 - Type lectures
 - Code flowcell : à biper avec la douchette
 - Piste contrôle (par défaut à auto-calibrage)
- Glisser les solutions stocks du panier d'input vers les lanes de la FC.
- Le bouton permet de replier / déployer les lanes de la FC.
- Le bouton permet de dupliquer une solution stock si elle doit être déposée sur plusieurs lanes (action possible uniquement dans le panier d'inputs).
- Rester sur l'onglet [Composition Flowcell].
- Renseigner les propriétés des containers IN (solutions stock) : % à déposer ; et des containers OUT (lanes) : % PhiX et Volume final i = volume introduit dans la barrette (cBot ext) OU cassette de réactifs (Miseq/NextSeq) OU tube de chargement prévu sur le séquenceur (clustering sur séquenceur Hiseq 2500 rapide).
- Passer sur l'onglet [Feuille de calcul].
- Sélectionner les lignes à éditer.
- Editer les propriétés. Les valeurs par défaut s'affichent automatiquement. L'utilisateur peut modifier ces valeurs si besoin. Utiliser le bandeau du haut pour dispatcher la même valeur partout, puis revenir sur certaines lignes pour modifier la valeur si besoin.

Attention aux concentrations de sol. stock < 2nM ! Si dénat spéciale (9µl ADN + 1µl NaOH), renseigner Conc. Dénat = (conc. Sol stock x 9)/10.



- Sauvegarder
- Messages d'erreur si :
 - Même index présent 2 fois sur la lane
 - % différent de 100% sur une lane
 - Catégorie d'index non homogène sur la lane (single index, dual index, mid)
 - Taille d'index non homogène sur la lane (6 bases, 8 bases, 2*8 bases)
 - Oubli de renseigner des propriétés obligatoires
- Après sauvegarde

 retourner sur l'onglet [Feuille de calcul] pour la vérifier. Les calculs doivent s'être fait automatiquement (être vigilant au début de la mise en place d'NGL-SQ et nous avertir de toute incohérence).
- ⇒ Quand tout est OK, expérience créée et compo FC en vue « repliée ».
 - cf. Annexe 1 : L'expérience est à « Nouveau ».
 - Les containers sont à « En attente d'expérience » (rafraîchir la page avec F5).
 - Les processus associés aux containers sont toujours à « Nouveau »
- Si l'on ré-édite le tableau FDR pour changer des valeurs ⇒ **ré-enregistrer** ⇒ les calculs se mettent à jour.

2.1) Export CSV et macro pour la FDR prep FC

- Faire un <u>export CSV</u> de la feuille de route :
- Copier les données de la FDR csv brute et les coller dans la <u>macro Excel</u> qui se trouve dans atelier > SOLEXA > FDR prep FC issue de NGL-SQ.

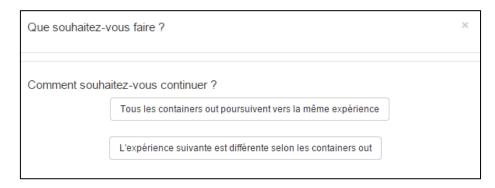
- Aller sur l'onglet Développeur, cliquer sur Macros à gauche (exemple résultat en Annexe 4).
 - Attention, la macro ne doit pas être lancée s'il y a des cellules vides dans le tableau!
- **Enregistrer Sous** le nom de la flowcell ; type : **classeur excel** sans macro ; dans Archive FDR.
- ⇒ Si vous avez fait une erreur de déclaration dans la prep FC, que vous souhaitez remplacer une solution stock par une autre ou ajouter une solution stock, se référer au paragraphe 4.Gérer une erreur de container dans une exp de prep FC.

2.2) Démarrer la progression

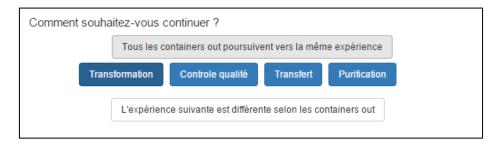
- Quand vous démarrez la cBot : revenir sur l'expérience et Démarrer la progression (si cBot interne, démarrer progression et terminer exp. prep FC avant d'avoir introduit cBot dans séquenceur)
- ⇒ cf. Annexe 1: L'expérience passe à « En cours »; les containers passent à « En cours d'utilisation » (rafraîchir la page avec F5) ; les processus passent à « En cours ».
- Messages d'erreur si au moins une des propriétés obligatoires n'a pas été renseignée. Sinon « sauvegarde réussie ».

2.3) Terminer l'expérience

- Lorsque la cBot est terminée, revenir sur l'expérience. Renseigner une résolution* (obligatoire) de fin d'expérience puis cliquer sur Terminer.
 - **★** Cas 1) <u>Résolution* = déroulement correct (uniquement)</u>
 - ⇒ Une pop-up s'ouvre :



⇒ Cliquer sur « Tous les containers out poursuivent vers la même expérience »



- ⇒ Cliquer sur Transformation.

★ Cas 2) Résolution* inclut autre chose que « déroulement correct »

⇒ Une pop-up s'ouvre :



2.3.1) <u>Continuer</u>

La FC va être déposée, même si problème signalé.

➡ Même comportement que dans le cas 1): choisir « Tous les containers out poursuivent vers la même expérience » puis « Transformation ».

2.3.2) Recommencer l'expérience

La FC est inutilisable, elle doit être recommencée (nouvelle réf FC) avec les mêmes solutions stocks.

⇒ Le support container OUT (Flowcell) passe à « Indisponible » ; les containers IN (sol. stocks) sont remis à « Disponible transformation » (rafraîchir la page avec F5), ils peuvent rentrer à nouveau dans une expérience de prepa FC sans avoir à leur recréer un processus ; les processus restent à « En cours ».



2.3.3) Arrêter le processus

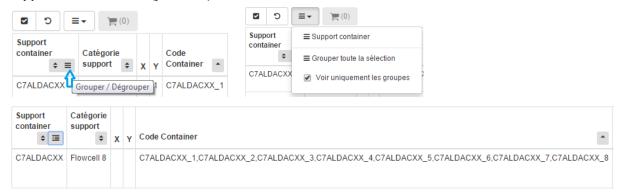
La FC est inutilisable et on ne souhaite pas la recommencer.

Le support container OUT (Flowcell) passe à « Indisponible » ; les containers IN (sol. stock) passent « En stock » (rafraîchir la page avec F5) (ils se mettent « en réserve dans le LIMS ») ; les processus passent à « Terminé » et on doit obligatoirement renseigner une résolution de fin de processus

(en l'occurrence : processus partiel ✓)

2. <u>Création expérience dépôt</u>

- Aller dans le menu Expérience > Création
- Sélect. une transformation : Dépôt Illumina
- Lancer la recherche
- Une liste de **containers** (lanes) s'affiche. Cliquer sur le bouton GROUPER de la colonne Support container (et cocher « voir uniquement les groupes » si besoin) afin de visualiser des **supports de containers** (flowcells).



- Sélectionner la flowcell et la mettre dans le panier.
- Cliquer sur l'onglet Dépôt Illumina dans le volet de gauche,
- Cliquer sur le bouton Configurer Dépôt Illumina puis sur Configuration Illumina dépôt à gauche.
- Renseigner les propriétés de l'expérience et de l'instrument :
 - Protocole
 - Date réelle de dépôt : si celle-ci est différente du jour où vous créez l'expérience
 - Type instrument
 - Instrument
 - Mode run (si Hiseq 2500) : normal ou rapide
 - Piste contrôle (par défaut à auto-calibrage)
 - Position (si dépôt Hiseq)
 - Nom cassette Miseq (si dépôt Miseq)
 - Type lectures
 - Nb cycles Read1
 - Nb cycles Read Index1
 - Nb cycles Read Index2: 0 si pas de read index 2
 - Nb cycles Read2
- Sauvegarder 🖺

Message d'erreur si :

- Plusieurs flowcell mises dans un dépôt.
- Une flowcell incomplète est mise dans le dépôt.
- Oubli de renseigner des propriétés obligatoires.

Sinon expérience créée.

3.1) Générer la sample sheet

Générer la Sample Sheet pour le séquenceur en cliquant sur le bouton Action (en haut à droite) puis Feuille de route :

⇒ La FDR est directement envoyée dans le répertoire SampleSheet du séquenceur (un message de confirmation apparaît). Elle est aussi téléchargée sur votre ordinateur (dossier Téléchargements).



3.2) <u>Démarrer la progression</u>

Quand vous déposer la FC sur séquenceur : revenir sur l'expérience et Démarrer la progression. Messages d'erreur si oubli de renseigner des propriétés obligatoires. Sinon l'expérience passe « En cours » (cf. Annexe 1).

3.3) Terminer l'expérience

- Lorsque le dépôt a été effectué, et que la first base est passée, revenir sur l'expérience : renseigner une résolution* (obligatoire) de fin d'expérience puis cliquer sur Terminer.

★ Cas 1) <u>Résolution* = déroulement correct (uniquement)</u>

cf. Annexe 1: L'expérience passe à « Terminé ». Le support container IN (flowcell) passe « En stock » (rafraîchir la page avec F5). Il n'y a pas de container OUT. Les processus passent à « Terminé » (car c'est la dernière expérience du processus).

★ Cas 2) Résolution* inclut autre chose que « déroulement correct »

⇒ Une pop-up s'ouvre :



3.3.1) Recommencer l'expérience

La FC doit être redéposée (même séquenceur à une autre date ou autre séquenceur).

⇒ Le support container IN (flowcell) est remis à « Disponible transformation » ; le processus reste « En cours ».

3.3.2) Terminer

Terminer l'expérience normalement, même si problème signalé.

⇒ Même comportement que dans le cas 1)



3. Gérer une erreur de container dans une expérience de prep-FC

NB: possible uniquement si l'expérience est à « Nouveau »

- Retourner sur l'expérience de prep FC concernée.
- Cliquer sur Editer.
- Cliquer sur l'onglet Création expérience apparu dans le volet de gauche.
- Faire une recherche sur les solutions stocks que vous voulez rajouter à la prep. FC.
 Rappel: les solutions stocks doivent être à « Disponible transformation » et avoir un processus pour pouvoir rentrer dans une expérience de prep FC.
- Les sélectionner et les mettre dans le panier.
- Retourner sur l'onglet PREPA-FLOWCELL-DATE_HEURE dans le volet de gauche.
- Les nouveaux containers apparaissent dans le panier d'inputs.
- Glisser les nouvelles solutions stocks du panier d'input vers les lanes de la FC.
- Enlever de la compo FC les solutions stocks que vous voulez supprimer, en les remettant dans le panier d'input. Les supprimer en cliquant sur la poubelle (pas obligatoire).
- Ne pas oublier d'éditer les nouvelles lignes dans le tableau FDR.
- Sauvegarder.

Remarque: vous devez d'abord récupérer un autre container, puis l'échanger dans la FC.

Rappel : A partir du moment où l'expérience est en cours, cette manipulation n'est plus possible.

Vérifications: le nouveau container entré dans l'expérience doit être à « Expérience en attente » (rafraichir la page avec F5 si besoin) et son (ses) processus Nouveau doit (doivent) être associé(s) à l'expérience. Le container qui a été enlevé de la FC doit être revenu à « Disponible transformation » et l'exp doit avoir été effacée de son (ses) processus Nouveau.

4. Redéposer une solution stock

➡ Lorsque vous souhaitez redéposer une solution stock, la remettre dans le LIMS « à déposer » et créer la nouvelle tâche HD (si besoin) en la mettant à « en cours ».

Comportement dans NGL-SQ:

- Si cette solution stock n'a plus de processus associé (son premier processus est terminé) alors la solution stock se remettra à « Processus en attente » et vous pourrez créer un nouveau processus (cf. chapitre 1.Création processus run illumina) puis les expériences de prep FC et dépôt.
- Si cette solution stock est <u>toujours associée à un processus</u> en cours alors elle restera à « En stock », il faudra **terminer le 1**^{er} **processus** pour que la solution stock repasse à « Processus en Attente ».
- Si vous ne souhaitez pas passer pas par le LIMS pour la remettre « à déposer » (pas besoin de replanifier avec le BO par exemple), faire l'action directement dans NGL-SQ : changement d'état container à « Processus en Attente ».

Cf. Annexe 2.2



5. * Changement d'état container : attention

Voir au cas par cas (nous avertir)

Règles existantes :

- On ne peut pas passer un container à « En attente Processus » (IW-P) s'il a encore un processus associé ⇒ car on ne doit jamais avoir 2 processus (N ou IP) en même temps.
- On ne peut pas passer le container à « Disponible *** » (A-TM) s'il n'a pas de processus associé
 pour éviter les cas où un container mis à disponible SANS processus puisse rentrer dans une
 expérience.

6. Menus Recherche

Cf. Annexe 3.1 à 3.4 : Différents menus de recherche sont disponibles :

- ★ Recherche de supports
- ★ Recherche de containers (+ colonnes additionnelles)
- ★ Recherche de processus (+ colonnes additionnelles)
- ★ Recherche d'expériences (+ colonnes additionnelles)

Des **colonnes additionnelles** existent pour la recherche de containers, processus et expériences (à faire évoluer selon vos besoins / si réalisable techniquement).

Les **filtres supplémentaires** (sur les propriétés de processus) existent dans le menu recherche processus et création expérience.

7. Traçabilité des réactifs dans les expériences

Cf. présentation NGL-Reagents dans atelier > commun HD > LIMS et NGL > NGL-Réactifs

Sur la page de l'expérience concernée, Cliquer sur Ajouter un réactif, renseigner un nom de kit (obligatoire) et biper les CB d'une boîte et/ou d'un réactif, dans cet ordre : REF, LOT, CB unique.

Bien vérifier que les CB sont séparés par des « _ »; sinon réinitialiser la douchette avec le codebarres prévu pour les tabulations.

Recommandations pour la traçabilité des réactifs MISEQ:

Prepa Flowcell :

Biper les 3 code-barres de la box 2 qui contient la flowcell.

Biper les 3 codes-barres de la boite du phix.

- Dépôt :

Biper les 3 codes-barres des 2 boites (box 1 et box 2 pour le tampon)

8. <u>Infos générales</u>

Raccourci Bureautique: ordinateur > connecter un lecteur réseau > \\nfs11.genoscope.cns.fr (à priori).

Excel : si vous n'avez pas l'onglet **Développeur**, aller dans Fichiers, Options, Personnaliser le ruban, cocher Développeur à droite.

Nomenclature code processus = <sample>_<code type processus>_<CB 9 caractères> (Exemple : BEG_A_ILLUMINA-RUN_03HB42142)



Nomenclature code expérience = <code type experience>-<date_heure>

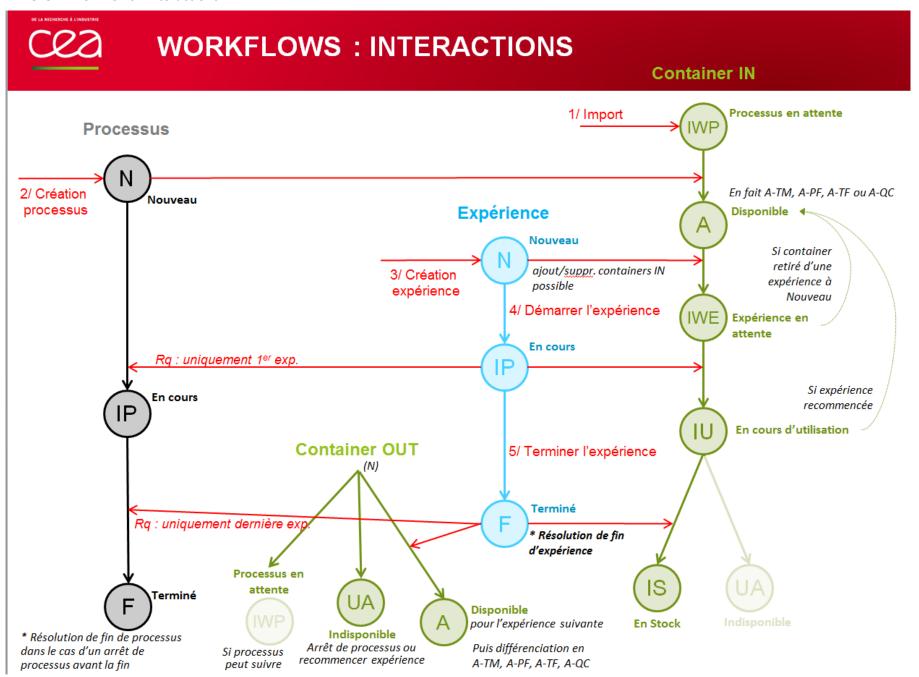
(Exemple: PREPA-FLOWCELL-20150318_094818) (Exemple: ILLUMINA-DEPOT-20150318_140951)

Modèles FDR séquenceurs en Annexe 5.

9. Annexes



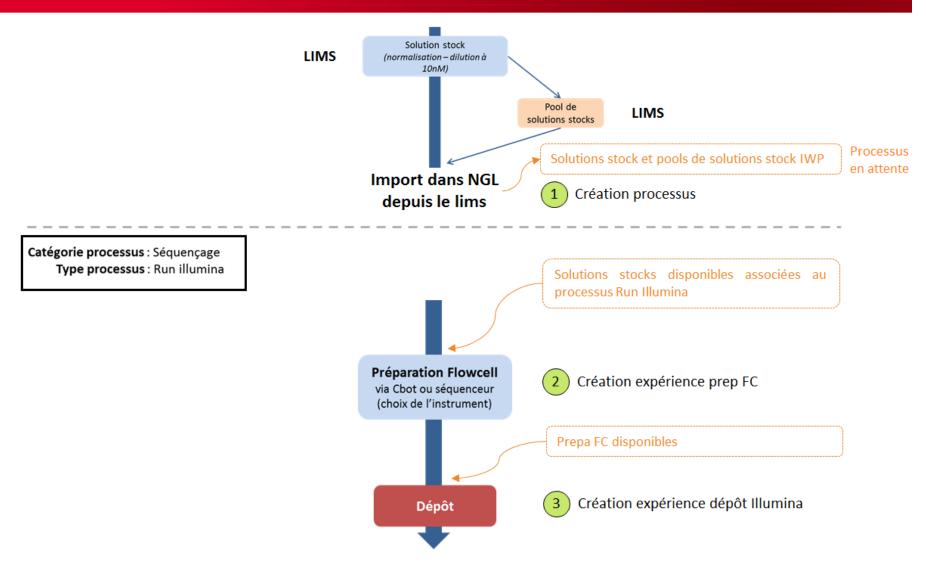
Annexe 1 Workflows: interactions



Annexe 2.1 Graphique processus séquençage run illumina

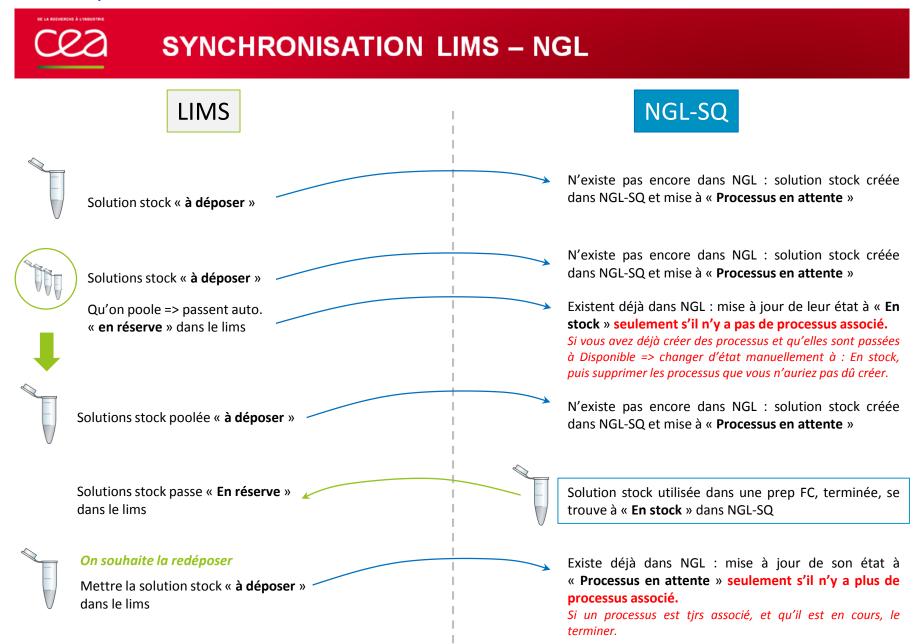


PROCESSUS SÉQUENÇAGE – RUN ILLUMINA



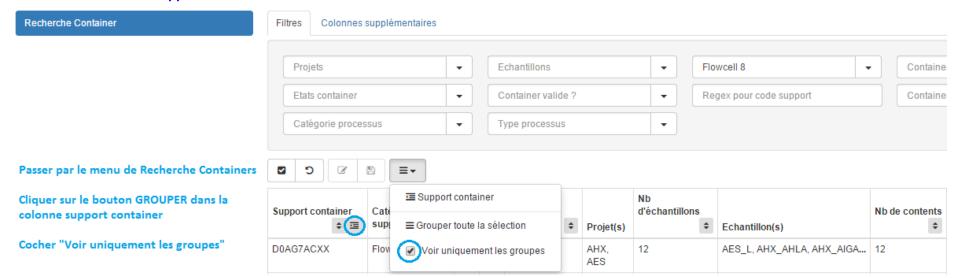


Annexe 2.2 Synchronisation LIMS-NGL



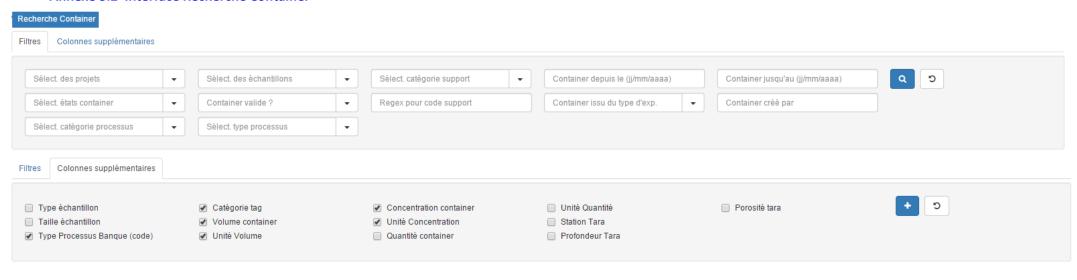
Guide d'utilisation NGL-SQ_V 1.8 (juillet 2015)

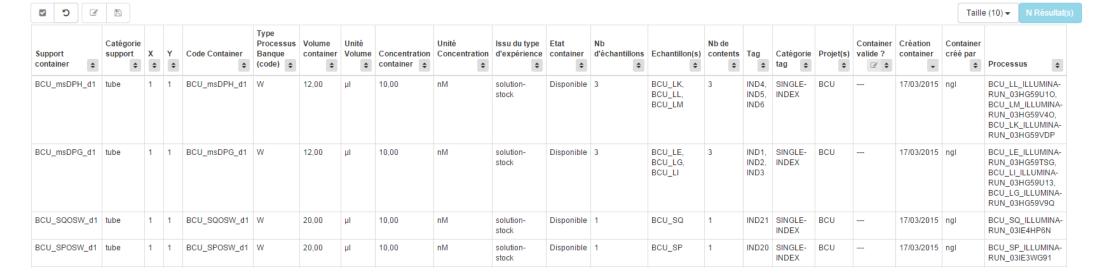
Annexe 3.1 Recherche Supports





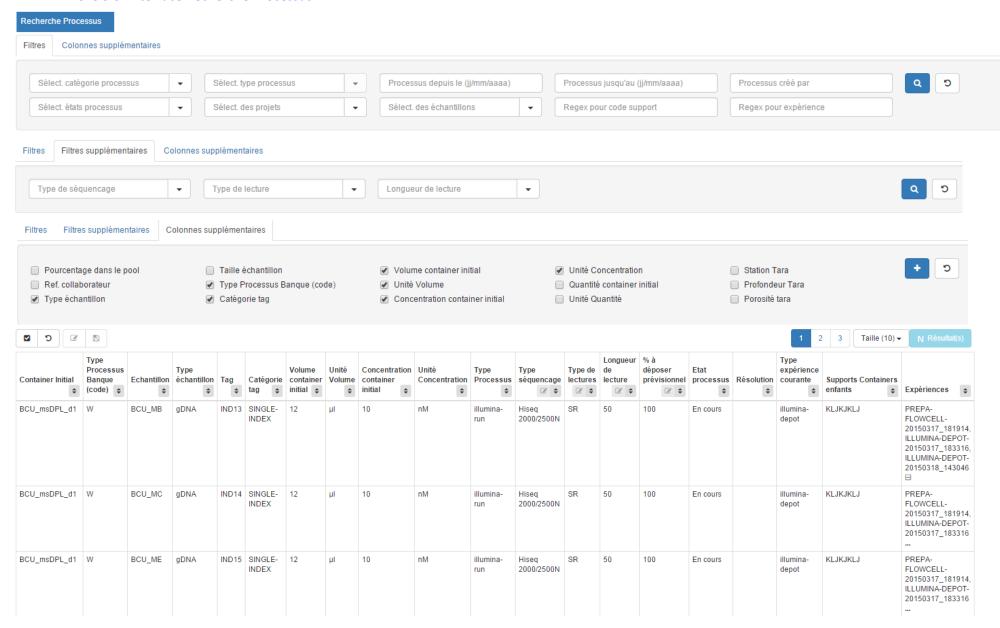
Annexe 3.2 Interface Recherche Container





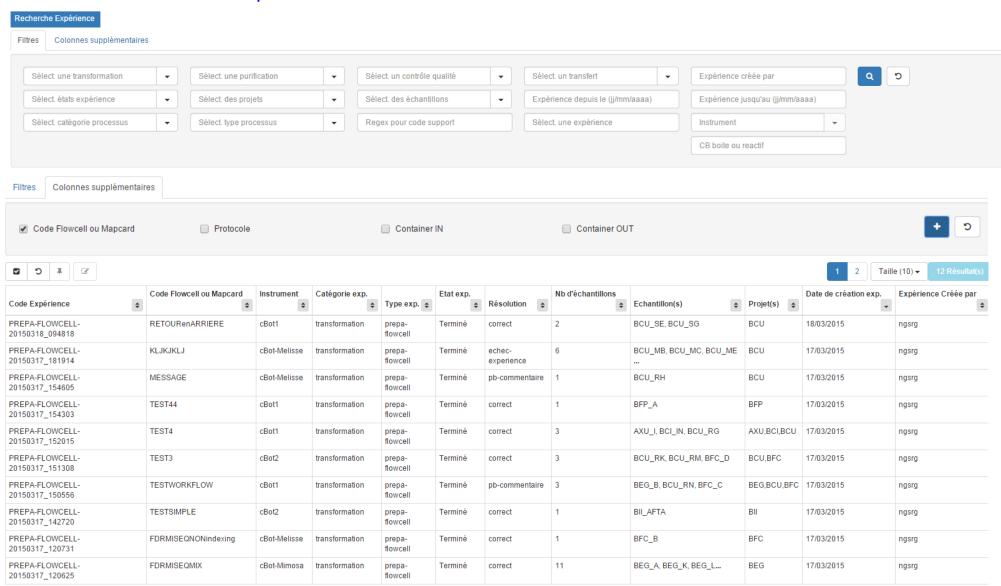


Annexe 3.3 Interface Recherche Processus





Annexe 3.4 Interface Recherche Expérience





Annexe 4 Résultat macro mise en forme FDR prep FC

			Solution Stock		Dénaturation				Dilution									
Х	Support container	Tag	Conc. (nM)	Vol. (μl)		NaOH		Vol. EB (μL)	Conc. dénat. (nM)	dénat.	ldenat. ds	Vol. HT1 (μL)				% à déposer	% phiX	Support container
1	AWK_DOSW_d18	705D503	0,69	10	19	1	2N	0	0,656	20	19,83	973,67	6,5	13	1000	100	1	BIGFC8LANES
2	BII_AGHAOSW_d1	IND21	10	30	4	1	2N	15	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES
3	BCI_msDPF_d1	BC001,BC	10	10	4	1	2N	15	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES
4	BCU_msDPO_d1	IND19,INE	10	12	4	1	2N	15	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES
5	BCU_msDPO_d1	IND19,INE	10	12	4	1	2N	15	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES
6	BCU_msDPO_d1	IND19,IND	10	12	4	1	2N	15	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES
7	BFC_AOSU_d1		12,88	10	3,11	1	2N	15,89	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES
8	BFC_AOSU_d1		12,88	10	3,11	1	2N	15,89	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES

Annexe 5.1 FDR Miseq single ou non indexé (valide pour du single 6 ou 8 bases)

[Header]

IEMFileVersion,4

Investigator Name,

Project Name,

Experiment Name, ILLUMINA-DEPOT-20150330_143153

Date,03/30/2015

Workflow, Generate FASTQ

Application, FASTQ Only

Assay, Genoscope

Description,

Chemistry, Default

[Reads]

151

151

[Settings]

[Data]

Sample_ID,Sample_Name,Sample_Plate,Sample_Well,I7_Index_ID,index,Sample_Project,Description

```
1_AEY_NA_W_IND1,AC12G,,,A001,ATCACG,,IND1_10.00
```

1_AEY_NL_ W_IND10,AC12G,,,A010,TAGCTT,,IND10_10.00

1_AEY_NM_ W_IND11,AC12G,,,A011,GGCTAC,,IND11_10.00

1 AEY NN W IND12,AC12G,,,A012,CTTGTA,,IND12 5.00

1 AEY NS I W ND13,AC12G,,,A013,AGTCAA,,IND13 5.00

1 AEY NT W IND14,AC12G,,,A014,AGTTCC,,IND14 5.00

1_AEY_NV_ W_IND15,AC12G,,,A015,ATGTCA,,IND15_5.00

1_AEY_PA_ N_IND16,AC12G,,,A016,CCGTCC,,IND16_5.00

1_AEY_PB_ N_IND17,AC12G,,,A017,GTAGAG,,IND17_5.00

1_AEY_PD_ N_IND18,AC12G,,,A018,GTCCGC,,IND18_15.00

1_AEY_PE_ N_IND19,AC12G,,,A019,GTGAAA,,IND19_5.00

...

Fichier **Genoscope.txt** mis dans dossier SamplePrepKits.

Creation manuelle: Catégorie: Other

Application : FASTQ only

Fichier Genoscope.txt

[Version]

1

[Name]

Genoscope

[PlateExtension]

genoscope

[Settings]

Adapter AGATCGGAAGAGCACACGTC

[17]

BC1 AAGGGA

...

A001 ATCACG

A002 CGATGT

A003 TTAGGC

• • •

A099 AAAAAAA [test:ok]

[DefaultLayout_SingleIndex]

A01 BC1

A02 A002

A03 A003

...

H10 A010

H11 A011

H12 A012

[test : pas rajouté ici]

Annexe 5.2 FDR Hiseq single et non indexé (valide pour du single 6 bases)

```
FCID,Lane,SampleID,SampleRef,Index,Description,Control,Recipe,Operator,SampleProject C741YACXX,1,1_BGN_AKN_IND1,,ATCACG,,N,,,IND1_0.00
```

C741YACXX,1,1_BGN_ALH_IND2,,CGATGT,,N,,,IND2_0.00

C741YACXX,1,1_BGN_ALS_IND3,,TTAGGC,,N,,,IND3_0.00

C741YACXX,1,1_BGN_ALV_IND4,,TGACCA,,N,,,IND4_0.00

...

C741YACXX,2,2_BCU_NC_IND9,,GATCAG,,N,,,IND9_0.00 C741YACXX,2,2_BLD_A_IND45,,TCATTC,,N,,,IND45_0.00 C741YACXX,2,2_BCU_QH_IND48,,TCGGCA,,N,,,IND48_0.00 C741YACXX,3,3_BHN_AGCI_IND3,,TTAGGC,,N,,,IND3_0.00 C741YACXX,4,4_BLR_EH_IND7,,CAGATC,,N,,,IND7_0.00 C741YACXX,4,4_BLR_EI_IND8,,ACTTGA,,N,,,IND8_0.00

...

C741YACXX,5,5_BLR_P_IND13,,AGTCAA,,N,,,IND13_0.00

•••

C741YACXX,6,6_BLR_CM_IND22,,CGTACG,,N,,,IND22_0.00 C741YACXX,6,6_BLR_CN_IND23,,GAGTGG,,N,,,IND23_0.00 C741YACXX,6,6_BLR_CP_IND25,,ACTGAT,,N,,,IND25_0.00 C741YACXX,6,6_BLR_CQ_IND27,,ATTCCT,,N,,,IND27_0.00 C741YACXX,7,7_BLR_CS_IND2,,CGATGT,,N,,,IND2_0.00

•••

C741YACXX,8,8_BLR_DG_IND11,,GGCTAC,,N,,,IND11_0.00 C741YACXX,8,8_BLR_DH_IND12,,CTTGTA,,N,,,IND12_0.00 C741YACXX,8,8_BLR_DI_IND13,,AGTCAA,,N,,,IND13_0.00 # IEMVERSION 3 Genoscope Fichier **Genoscope.txt** mis dans dossier SamplePrepKits.

Ligne « Genoscope » ajoutée dans applications HiseqCASAVA.txt et HiseqGenerateFASTQ.txt (n'apparaissent pas dans la FDR)

Fichier Genoscope.txt

[Version]

1

[Name]

Genoscope

[PlateExtension]

genoscope

[Settings]

Adapter AGATCGGAAGAGCACACGTC

[17]

BC1 AAGGGA

...

A001 ATCACG

A002 CGATGT

A003 TTAGGC

• • •

[DefaultLayout_SingleIndex]

A01 BC1

A02 A002

A03 A003

...

H10 A010

H11 A011

H12 A012



Annexe 5.3 Pour gérer le dual indexing

- Autre format FDR Miseq (colonnes I5 index et index 2 en +)
 - Dual index séparé en 2 champs : GACTGTAC puis TCGACCTA
 - Single : format header dual avec des NNNNN dans index 2 fonctionnerait ?
- Même format FDR Hiseq mais nomenclature index change :
 - 1 colonne index avec GACTGTAC-TCGACCTA

 - Si non indexé : rien
 - Si que du single dans FC : GTACCA ou GTACCANN-NNNNNNN ?
 - Si single 6 et 8 : compléter les 6 bases avec NN ?
 - Si que du single, laisser les NN ?
 - ⇒ après discussion avec Yann Legros, le logiciel SAV illumina ne pourra jamais analysé les FDR avec un mix d'index 6 bases et dual index, il faudrait donner les 2 bases exactes lues apres les 6 premieres bases et les 6 bases exactes susceptibles d'etre lues a la place de l'index 2.
 - dans ce cas pour des runs mixtes pas besoin de générer une FDR Hiseq mixtes avec les "N"
- Fichier Genoscope.txt MODIFIÉ

```
Fichier Genoscope.txt
[Version]
[Name]
Genoscope
[PlateExtension]
genoscope
[Settings]
Adapter AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCA
AdapterRead2
  AGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTGT
[17]
D701 ATTACTCG
D702 TCCGGAGA
D703 CGCTCATT
A001 ATCACGNN
A002 CGATGTNN
A003 TTAGGCNN
[15]
D501 TATAGCCT
D502 ATAGAGGC
D503 CCTATCCT
Single NNNNNNN
[DefaultLayout_SingleIndex]
A01 D701
A02 D702
A03 D703
E01 D701
[DefaultLayout_DualIndex]
A01 D701 D501
A02 D702 D501
A03 D703 D501
F02 D702 D506
```