

## 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 ⇒ elle est mise à « En stock » dans NGL (update toutes les 5 min).
  - et qu'elle a déjà un processus dans NGL ⇒ son état NGL n'est pas modifié.
- *Lorsqu'une solution stock a été utilisée dans une préparation Flowcell NGL et qu'elle est « En stock » dans NGL ⇒ elle passe « En réserve » dans le LIMS.*
- ***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.	Création processus Run Illumina .....	4
1.1)	Mettre à jour les propriétés d'un (ou de plusieurs) processus .....	5
1.2)	Supprimer des processus que vous n'auriez pas dû créer .....	5
2.	Création expérience : Préparation Flowcell.....	6
2.1)	Export CSV et macro pour la FDR prep FC.....	7
2.2)	Démarrer la progression.....	7
2.3)	Terminer l'expérience.....	7
2.3.1)	Continuer .....	8
2.3.2)	Recommencer l'expérience .....	8
2.3.3)	Arrêter le processus.....	9
2.	Création expérience dépôt .....	10
3.1)	Générer la sample sheet.....	10
3.2)	Démarrer la progression.....	11
3.3)	Terminer l'expérience.....	11
3.3.1)	Recommencer l'expérience .....	11
3.3.2)	Terminer.....	11
3.	Gérer une erreur de container dans une expérience de prep-FC .....	12
4.	Redéposer une solution stock .....	12
5.	* Changement d'état container : attention .....	13
6.	<b>Menus de Recherche et Création</b> .....	13
7.	Traçabilité des réactifs dans les expériences .....	13
8.	Infos générales.....	14
9.	Annexes.....	14
	Annexe 1 Workflows : interactions .....	15
	Annexe 2.1 Graphique processus séquençage run illumina .....	16
	Annexe 2.2 Synchronisation LIMS-NGL .....	17
	Annexe 3.1 Recherche Supports .....	18
	Annexe 3.2 Interface Recherche Container.....	19
	Annexe 3.3 Interface Création Processus <i>à partir de containers</i> .....	20
	Annexe 3.4 Interface Recherche Processus .....	21
	Annexe 3.5 Interface Création Expérience <i>à partir de containers</i> .....	22
	Annexe 3.6 Interface Recherche Expérience.....	23
	Annexe 4 Résultat macro mise en forme FDR prep FC.....	24
	Annexe 5.1 FDR Miseq single ou non indexé (valide pour du single 6 ou 8 bases).....	25

Annexe 5.2 FDR Hiseq single et non indexé (valide pour du single 6 bases) .....	26
Annexe 5.3 Pour gérer le dual indexing .....	27

## 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<sup>ère</sup> 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 filtres supplémentaires 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**  = *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** 
- o **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 export CSV** de la feuille de route : 
- Copier les données de la FDR csv brute et les coller dans la macro Excel qui se trouve dans **atelier > SOLEXA > FDR prep FC issue de NGL-SQ**.
- Aller sur l'onglet Développeur, cliquer sur Macros à gauche  et Exécuter FDR\_prep\_FC (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 ».
- o **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) Résolution\* = déroulement correct (uniquement)**
  - ⇒ Une pop-up s'ouvre :

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

⇒ Cliquer sur **Transformation**.

⇒ cf. [Annexe 1](#) : L'expérience passe à « Terminé ». Les containers IN (*sol. stock*) passent à « En stock » (*rafraîchir la page avec F5*) (ils se mettent « en réserve dans le LIMS »), le support container OUT (*flowcell*) passe à « Disponible transformation » (*voir en recherchant le support*) pour la prochaine expérience. Les processus restent à « En cours ».

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

⇒ Une pop-up s'ouvre :

**2.3.1) Continuer**

*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 ».





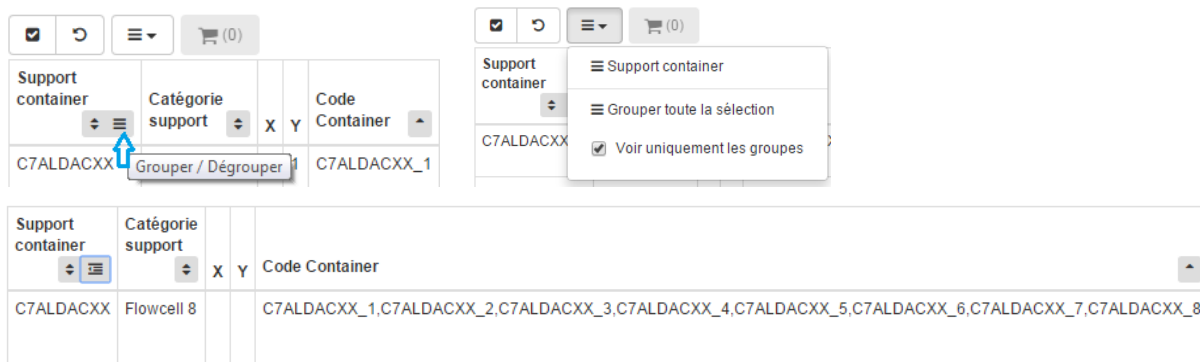
### 2.3.3) Arrêter le processus

*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. Création expérience dépôt

- 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) Démarrer la progression

- 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

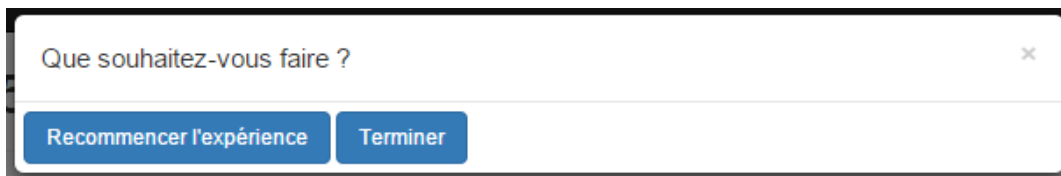
- Lorsque le dépôt a été effectué, et que la first base est passée, revenir sur l'expérience : renseigner une **résolution\*** (obligatoire) de fin d'expérience puis cliquer sur **Terminer**.

#### ★ Cas 1) **Résolution\*** = déroulement correct (uniquement)

⇒ 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 :



Que souhaitez-vous faire ?

Recommencer l'expérience Terminer

#### 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 » ou « A redéposer ». Vérifier qu'elle est bien dans un de ces états si qqn d'autre a déclaré la tâche HD.

**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 toujours associée à un processus en cours alors elle restera à « En stock », il faudra **terminer le 1<sup>er</sup> processus** pour que la solution stock repasse à « Processus en Attente ».
- ➡ Si vous ne souhaitez pas passer 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 de Recherche et Création

Cf. Annexe 3.1 à 3.6 : Différents menus de recherche et de création sont disponibles :

- ★ Recherche de containers (et de supports)
- ★ Création de processus *à partir de containers*
- ★ Recherche de processus
- ★ Création d'expérience *à partir de containers*
- ★ Recherche d'expériences

Ils comportent tous :

- des **colonnes additionnelles** pour ajouter des colonnes à la volée dans le tableau de résultat (*exemples : type échantillon, type processus banque, concentration, station tara, profondeur tara, porosité tara...*) [*à faire évoluer selon vos besoins / si réalisable techniquement*].
- et des **filtres supplémentaires** (*exemples : type échantillon, type processus banque, tag, catégorie de tag, station, profondeur, porosité tara...* et correspondant aux propriétés de processus quand un type de processus est sélectionné, *exemple : type séquençage, type de lectures, longueur de lectures...*) [*à faire évoluer selon vos besoins / si réalisable techniquement*].

## 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 code-barres 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 boîte du phix.*
- **Dépôt :**  
*Biper les 3 codes-barres des 2 boîtes (box 1 et box 2 pour le tampon)*

## 8. [Infos générales](#)

**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.

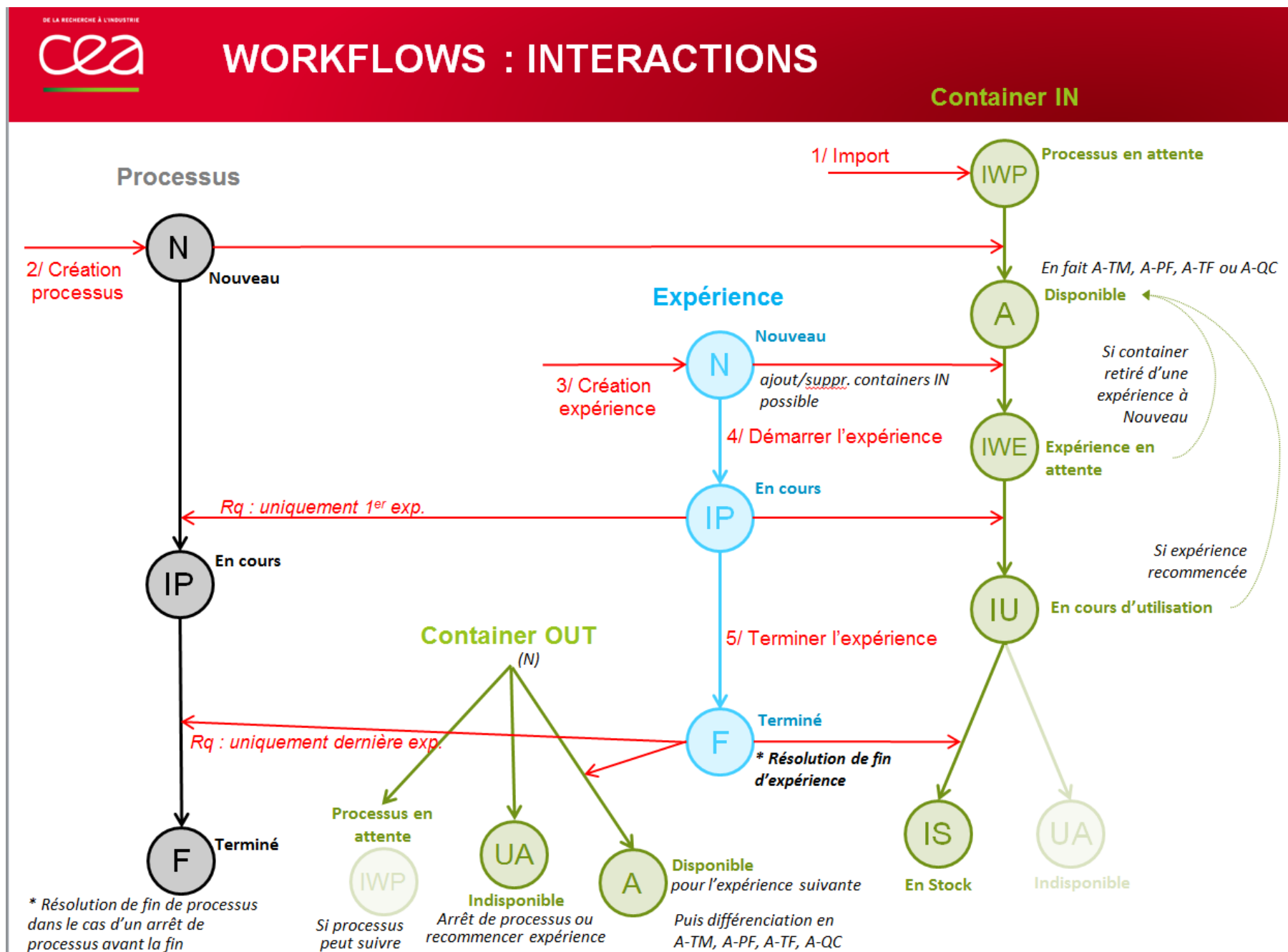
**Nomenclature code processus** = <sample>\_<code type processus>\_<CB 9 caractères>  
(Exemple : BEG\_A\_ILLUMINA-RUN\_03HB42142)

**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](#)

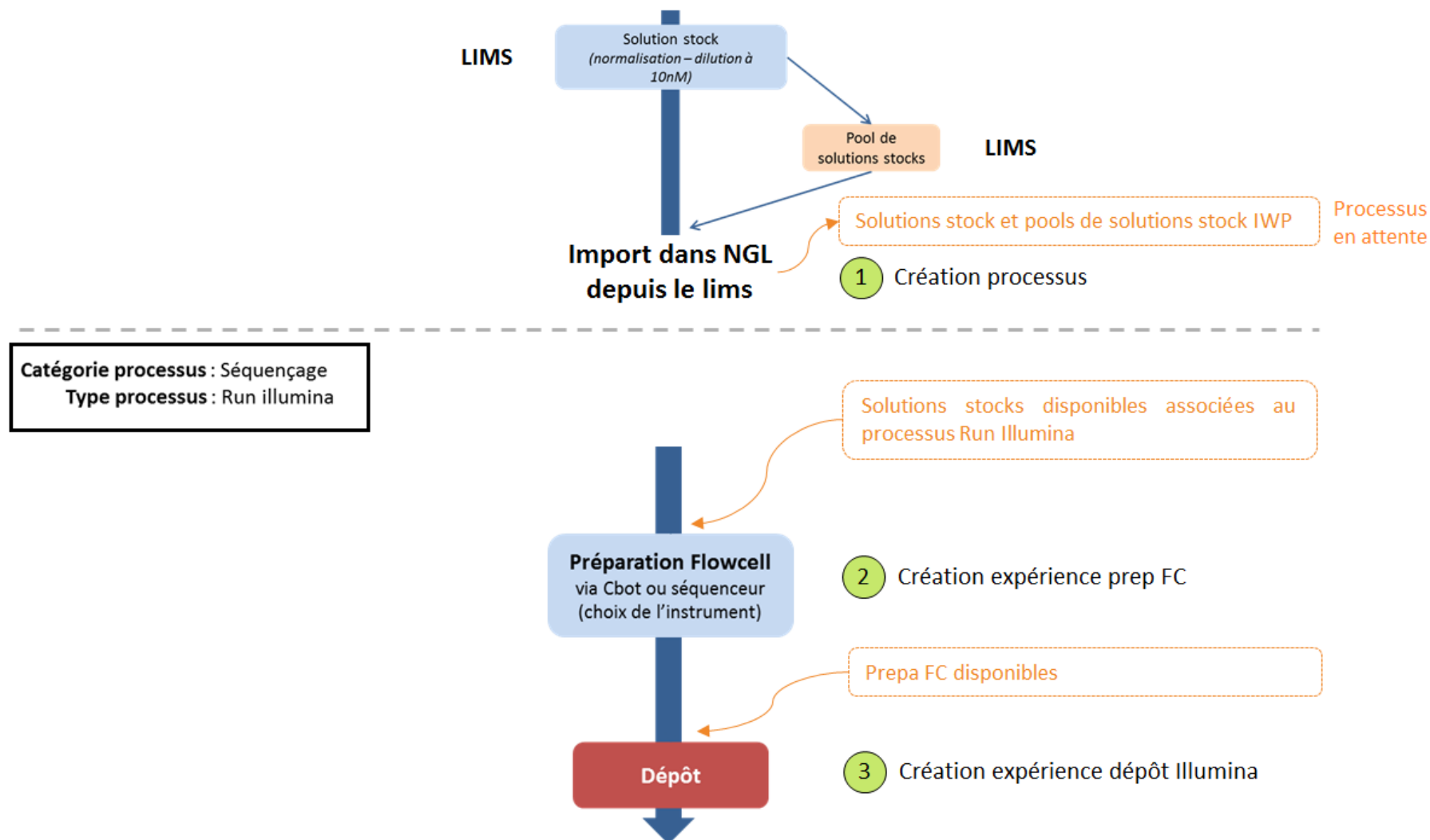
## Annexe 1 Workflows : interactions



## Annexe 2.1 Graphique processus séquençage run illumina

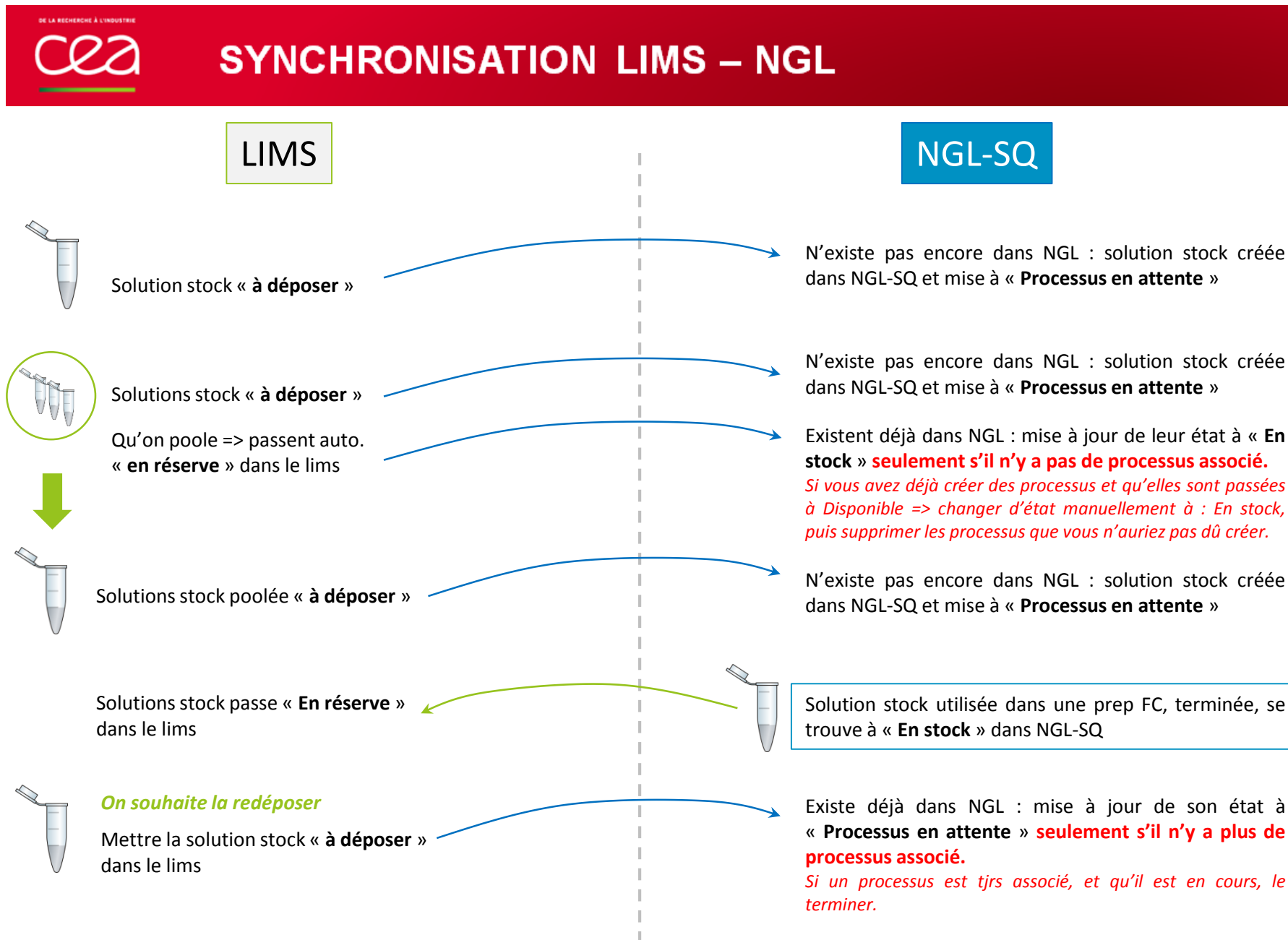


# PROCESSUS SÉQUENÇAGE – RUN ILLUMINA





## Annexe 2.2 Synchronisation LIMS-NGL



## Annexe 3.1 Recherche Supports

Recherche Container

Filtres

Colonnes supplémentaires

Projets ▼

Echantillons ▼

Flowcell 8 ▼

Containe

Etats container ▼

Container valide ? ▼

Regex pour code support

Containe

Catégorie processus ▼

Type processus ▼

**Passer par le menu de Recherche Containers**

**Cliquer sur le bouton GROUPER dans la colonne support container**

**Cocher "Voir uniquement les groupes"**

☑

↺

✎

💾

☰ ▼

Support container	Cate	sup	Projet(s)	Nb d'échantillons	Echantillon(s)	Nb de contenus
D0AG7ACXX	Flow	☰	AHX, AES	12	AES_L, AHX_AHLA, AHX_AIGA...	12

☰ Support container



☰ Grouper toute la sélection

☑ Voir uniquement les groupes

## Annexe 3.2 Interface Recherche Container

### Recherche Container

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires



Projets Echantillons Catégorie support Container depuis le (jj/mm/aaaa) Container jusqu'au (jj/mm/aaaa)  

Etats container Container valide ? Regex pour code support Container issu du type d'exp. Container créé par

Catégorie processus Type processus



### Nouveau :

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

Types échantillon Tag Station Tara Porosité Tara (code)  





Type processus banque Catégorie de tag Profondeur Tara (code)

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

☐ Type échantillon ☒ Catégorie tag ☒ Volume container ☐ Unité Quantité ☐ Porosité tara  

☐ Taille échantillon (bases) ☒ Concentration container ☒ Unité Volume ☐ Station Tara

☒ Type Processus Banque (code) ☒ Unité Concentration ☐ Quantité container ☐ Profondeur Tara

Taille (10) N Résultat(s)

Support container	Catégorie support	X	Y	Code Container	Type Processus Banque (code)	Volume container	Unité Volume	Concentration container	Unité Concentration	Issu du type d'expérience	Etat container	Nb d'échantillons	Echantillon(s)	Nb de contenus	Tag	Catégorie tag	Projet(s)	Container valide ?	Création container	Container créé par	Processus
BCU_msDPH_d1	tube	1	1	BCU_msDPH_d1	W	12,00	µl	10,00	nM	solution-stock	Disponible	3	BCU_LK, BCU_LL, BCU_LM	3	IND4, IND5, IND6	SINGLE-INDEX	BCU	---	17/03/2015	ngl	BCU_LL_ILLUMINA-RUN_03HG59U10, BCU_LM_ILLUMINA-RUN_03HG59V40, BCU_LK_ILLUMINA-RUN_03HG59VDP
BCU_msDPG_d1	tube	1	1	BCU_msDPG_d1	W	12,00	µl	10,00	nM	solution-stock	Disponible	3	BCU_LE, BCU_LG, BCU_LI	3	IND1, IND2, IND3	SINGLE-INDEX	BCU	---	17/03/2015	ngl	BCU_LE_ILLUMINA-RUN_03HG59TSG, BCU_LI_ILLUMINA-RUN_03HG59U13, BCU_LG_ILLUMINA-RUN_03HG59V9Q
BCU_SQOSW_d1	tube	1	1	BCU_SQOSW_d1	W	20,00	µl	10,00	nM	solution-stock	Disponible	1	BCU_SQ	1	IND21	SINGLE-INDEX	BCU	---	17/03/2015	ngl	BCU_SQ_ILLUMINA-RUN_03IE4HP6N
BCU_SPOSW_d1	tube	1	1	BCU_SPOSW_d1	W	20,00	µl	10,00	nM	solution-stock	Disponible	1	BCU_SP	1	IND20	SINGLE-INDEX	BCU	---	17/03/2015	ngl	BCU_SP_ILLUMINA-RUN_03IE3WG91

### Annexe 3.3 Interface Création Processus à partir de containers

#### Création Processus

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

#### Nouveau :

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

☐ Type échantillon
 ☒ Catégorie tag
 ☒ Volume container
 ☐ Unité Quantité
 ☐ Porosité tara

☐ Taille échantillon (bases)
 ☒ Concentration container
 ☒ Unité Volume
 ☐ Station Tara
 ☐ Profondeur Tara

☒ Type Processus Banque (code)
 ☒ Unité Concentration
 ☐ Quantité container

Support container	Catégorie support	Code Container	Projet	Nb d'échantillons	Echantillon(s)	Nb de contenus	Tag	Issu du type d'expérience	Etat container	Container valide ?	Création container	Container créé par
BMX_COSW_d1	Tube	BMX_COSW_d1	BMX	1	BMX_C	1	IND15	Solution stock	Processus en attente	---	17/06/2015	ngl
BMX_msEBC_d1	Tube	BMX_msEBC_d1	BMX	6	BMX_AS, BMX_AR, BMX_R...	6	IND12, IND20, IND23...	Solution stock	Processus en attente	---	10/06/2015	ngl
BMX_msEBW_d1	Tube	BMX_msEBW_d1	BMX	6	BMX_I, BMX_V, BMX_E...	6	IND27, IND8, IND18 ...	Solution stock	Processus en attente	---	18/06/2015	ngl
BMX_msEAR_d1	Tube	BMX_msEAR_d1	BMX	3	BMX_C, BMX_A, BMX_B	3	IND2, IND4, IND12	Solution stock	Processus en attente	---	08/06/2015	ngl

## Annexe 3.4 Interface Recherche Processus

### Recherche Processus

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

### Nouveau :

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

☐ Pourcentage dans le pool ☐ Taille échantillon (bases) ☒ Concentration container initial ☐ Unité Volume ☐ Station Tara  
☐ Ref. collaborateur ☒ Type Processus Banque (code) ☒ Unité Concentration ☐ Quantité container initial ☐ Profondeur Tara  
☒ Type échantillon ☒ Catégorie tag ☐ Volume container initial ☐ Unité Quantité ☐ Porosité tara

**NB : Diffèrent légèrement des colonnes additionnelles des autres menus.**

☒

3 4 5   Taille (10) 5189 Résultat(s)

Container Initial	Concentration container initial	Unité Concentration	Projet	Echantillon	Type échantillon	Type Processus Banque (code)	Tag	Catégorie tag	Type Processus	Type séquençage	Type de lectures	Longueur de lecture	% à déposer prévisionnel	Etat processus	Résolution	Type expérience courante	Supports Containers enfants	Expériences	Code Processus
AEY_msDSP_d1	10,61	nM	AEY	AEY_PE	total-RNA	W	IND19	SINGLE-INDEX	Run Illumina	Miseq	PE	150	5,26	Terminé		Depot Illumina	AC12G	PREPA-FLOWCELL-20150330_141344, ILLUMINA-DEPOT-20150330_143153	AEY_PE_ILLUMINA-RUN_03UE16R7N
msDWE_d1	8,46	nM	AEY	AEY_PF	gDNA	W	IND3	SINGLE-INDEX	Run Illumina	Miseq	PE	150	4,17	Terminé		Depot Illumina	AC097	PREPA-FLOWCELL-20150423_103952, ILLUMINA-DEPOT-20150423_113817	AEY_PF_ILLUMINA-RUN_04NA36HRK
msDWE_d1	8,46	nM	AEY	AEY_PH	gDNA	W	IND4	SINGLE-INDEX	Run Illumina	Miseq	PE	150	4,17	Terminé		Depot Illumina	AC097	PREPA-FLOWCELL-20150423_103952, ILLUMINA-DEPOT-20150423_113817	AEY_PH_ILLUMINA-RUN_04NA36I7M

### Annexe 3.5 Interface Création Expérience à partir de containers

**Création Expérience**

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

Transformation Transfert Contrôle qualité Purification Catégorie support

Catégorie processus Type processus Support depuis le (jj/mm/aaaa) Support jusqu'au (jj/mm/aaaa) Support créé par

Projets Echantillons Regex pour code support Issu du type d'expérience

#### Nouveau :

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

Type de séquençage Type de lecture Longueur de lecture

Types échantillon Tag Station Tara Porosité Tara (code)

Type processus banque Catégorie de tag Profondeur Tara (code)

en fonction du TYPE de processus sélectionné dans les filtres

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

☐ Type échantillon ☒ Catégorie tag ☒ Volume container ☐ Unité Quantité ☐ Porosité tara

☐ Taille échantillon (bases) ☒ Concentration container ☒ Unité Volume ☐ Station Tara

☒ Type Processus Banque (code) ☒ Unité Concentration ☐ Quantité container ☐ Profondeur Tara

1 2 Taille (10) 18 Résultat(s)

Station Tara	Profondeur Tara	Porosité tara	Support container	Catégorie support	X	Y	Code Container	Projet(s)	Nb d'échantillons	Echantillon(s)	Nb de contenus	Tag	Issu du type d'expérience	Etat container	Container valide ?	Création container	Container créé par	Processus
119	SUR	QQSS	ARC_BTCBOSW_d2	Tube	1	1	ARC_BTCBOSW_d2	ARC	1	ARC_BTCB	1	IND7	Solution stock	Disponible transformation	---	04/06/2015	ngl	ARC_BTCB_ILLUMINA-RUN_07AG3KM39
121	SUR	QQSS	ARC_BTFBOSW_d2	Tube	1	1	ARC_BTFBOSW_d2	ARC	1	ARC_BTFB	1	IND8	Solution stock	Disponible transformation	---	04/06/2015	ngl	ARC_BTFB_ILLUMINA-RUN_07AG3KMEC
121	SUR	GGZZ	ARC_BTHCOSW_d2	Tube	1	1	ARC_BTHCOSW_d2	ARC	1	ARC_BTHC	1	IND19	Solution stock	Disponible transformation	---	04/06/2015	ngl	ARC_BTHC_ILLUMINA-RUN_07AG3KM37
96	DCM	MMQQ	ARC_CAVASW_d2	Tube	1	1	ARC_CAVASW_d2	ARC	1	ARC_CAVA	1	IND4	Solution stock	Disponible transformation	---	04/06/2015	ngl	ARC_CAVA_ILLUMINA-RUN_07AG3KNGS
112	DCM	SSUU	ARD_BHIAOSW_d2	Tube	1	1	ARD_BHIAOSW_d2	ARD	1	ARD_BHIA	1	IND5	Solution stock	Disponible transformation	---	04/06/2015	ngl	ARD_BHIA_ILLUMINA-RUN_07FA3LKP4

## Annexe 3.6 Interface Recherche Expérience

**Recherche Expérience**

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

Transformation Transfert Contrôle qualité Purification Expérience créée par

Projets Echantillons Regex pour code support Expérience depuis le (jj/mm/aaaa) Expérience jusqu'au (jj/mm/aaaa)

Etats expérience Instrument Sélection une expérience CB boîte ou reactif

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

☐ Code Flowcell ou Mapcard ☐ Protocole ☒ Support container IN ☒ Support container OUT

### Nouveau :

Filtres Filtres supplémentaires Colonnes supplémentaires

Types échantillon Tag Station Tara Porosité Tara (code)

Type processus banque Catégorie de tag Profondeur Tara (code)

☒ ☐ ☐ ☐ 1 2 Taille (10) 12 Résultat(s)

Code Expérience	Code Flowcell ou Mapcard	Instrument	Catégorie exp.	Type exp.	Etat exp.	Résolution	Nb d'échantillons	Echantillon(s)	Projet(s)	Date de création exp.	Expérience Créée par
PREPA-FLOWCELL-20150318_094818	RETOURenARRIERE	cBot1	transformation	prepa-flowcell	Terminé	correct	2	BCU_SE, BCU_SG	BCU	18/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_181914	KLJKJKLJ	cBot-Melisse	transformation	prepa-flowcell	Terminé	echec-experience	6	BCU_MB, BCU_MC, BCU_ME...	BCU	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_154605	MESSAGE	cBot-Melisse	transformation	prepa-flowcell	Terminé	pb-commentaire	1	BCU_RH	BCU	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_154303	TEST44	cBot1	transformation	prepa-flowcell	Terminé	correct	1	BFP_A	BFP	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_152015	TEST4	cBot1	transformation	prepa-flowcell	Terminé	correct	3	AXU_I, BCL_IN, BCU_RG	AXU,BCL,BCU	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_151308	TEST3	cBot2	transformation	prepa-flowcell	Terminé	correct	3	BCU_RK, BCU_RM, BFC_D	BCU,BFC	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_150556	TESTWORKFLOW	cBot1	transformation	prepa-flowcell	Terminé	pb-commentaire	3	BEG_B, BCU_RN, BFC_C	BEG,BCU,BFC	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_142720	TESTSIMPLE	cBot2	transformation	prepa-flowcell	Terminé	correct	1	BII_AFTA	BII	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_120731	FDRMISEQNONIndexing	cBot-Melisse	transformation	prepa-flowcell	Terminé	correct	1	BFC_B	BFC	17/03/2015	ngsrg
PREPA-FLOWCELL-20150317_120625	FDRMISEQMIX	cBot-Mimosa	transformation	prepa-flowcell	Terminé	correct	11	BEG_A, BEG_K, BEG_L...	BEG	17/03/2015	ngsrg

#### Annexe 4 Résultat macro mise en forme FDR prep FC

			Solution Stock		Dénaturation						Dilution							
X	Support container	Tag	Conc. (nM)	Vol. (µl)	Vol. sol. stock ds dénat. (µL)	Vol. NaOH (µL)	Conc. NaOH	Vol. EB (µL)	Conc. dénat. (nM)	Vol. dénat. (µL)	Vol. dénat. ds dil. (µL)	Vol. HT1 (µL)	Vol. Phix (µL)	Conc. dil. (pM)	Vol. dil. (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,IND	10	12	4	1	2N	15	2	20	7	986	7	14	1000	100	1	BIGFC8LANES
5	BCU_msDPO_d1	IND19,IND	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,GenerateFASTQ

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\_IND13,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

[I7]

BC1 AAGGGA

...

A001 ATCACG

A002 CGATGT

A003 TTAGGC

...

A099 AAAAAAAAAA [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  
HiseqCASA.VA.txt et HiseqGenerateFASTQ.txt  
(n'apparaissent pas dans la FDR)

```
Fichier Genoscope.txt
[Version]
1
[Name]
Genoscope
[PlateExtension]
genoscope
[Settings]
Adapter AGATCGGAAGAGCACACGTC
[I7]
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 single : GTACCANN-NNNNNNNN
    - Si non indexé : rien
    - Si que du single dans FC : GTACCA ou GTACCANN-NNNNNNNN ?
    - 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 analyser les FDR avec un mix d'index 6 bases et dual index, il faudrait donner les 2 bases exactes lues après les 6 premières bases et les 6 bases exactes susceptibles d'être lues à 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]
1
[Name]
Genoscope
[PlateExtension]
genoscope
[Settings]
Adapter AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCA
AdapterRead2
    AGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTGT
[I7]
D701 ATTACTCG
D702 TCCGGAGA
D703 CGCTCATT
...
A001 ATCACGNN
A002 CGATGTNN
A003 TTAGGCNN
...
[I5]
D501 TATAGCCT
D502 ATAGAGGC
D503 CCTATCCT
...
Single NNNNNNNN
[DefaultLayout_SingleIndex]
A01 D701
A02 D702
A03 D703
...
E01 D701
...
[DefaultLayout_DualIndex]
A01 D701 D501
A02 D702 D501
A03 D703 D501
F02 D702 D506
...
```