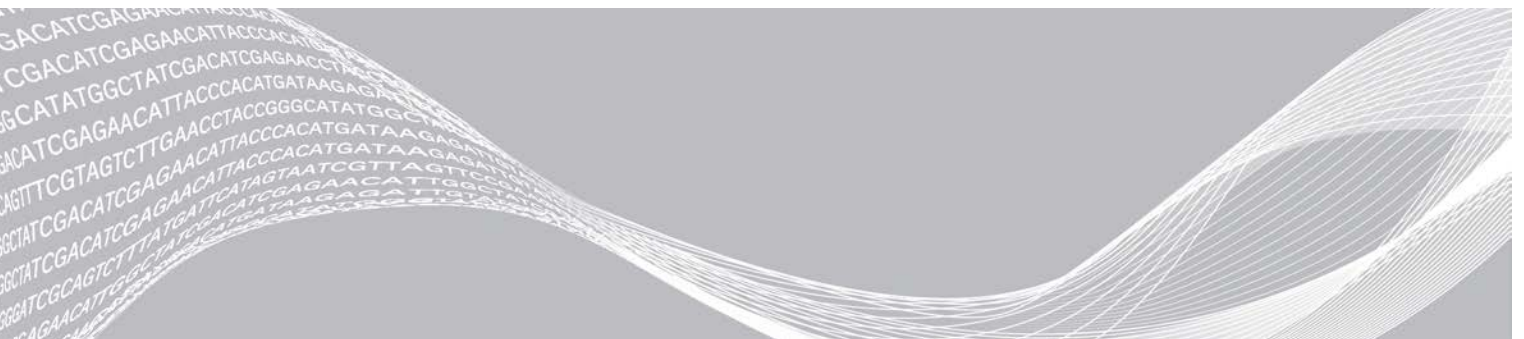


iSeq 100

Navodila za uporabo sistema za sekvenciranje



Ta dokument in vsebina v njem sta last družbe Illumina, Inc. in njenih podružnic («Illumina») ter sta namenjena le pogodbeno določeni uporabi njenih strank v povezavi z uporabo izdelkov, ki so opisani v tem dokumentu in za noben drug namen. Tega dokumenta in vsebine v njem ne smete uporabljati ali distribuirati za kateri koli drug namen in/ali ju kakor koli drugače posredovati, razkriti ali razmnoževati brez predhodnega pisnega soglasja družbe Illumina. Illumina vam s tem dokumentom ne podeljuje nobene licence v okviru svojega patenta, blagovne znamke, avtorskih pravic ali pravic iz običajnega prava in nobenih podobnih pravic tretjih oseb.

Ustrezno kvalificirano in usposobljeno osebje mora natančno in dosledno upoštevati navodila v tem dokumentu, da zagotovi pravilno in varno uporabo izdelkov, opisanih v njem. Pred uporabo teh izdelkov morate v celoti prebrati vsebino tega dokumenta in se seznaniti z njo.

ČE NE PREBERETE VSEH NAVODIL V TEM DOKUMENTU IN JIH NE UPOŠTEVATE DOSLEDNO, LAHKO POVZROČITE OKVARO IZDELKOV, TELESNE POŠKODBE OSEB, VKLJUČNO Z UPORABNIKI IN DRUGIMI OSEBAMI, TER POŠKODBE DRUGE LASTNINE IN RAZVELJAVITE KAKRŠNO KOLI JAMSTVO, KI VELJA ZA IZDELKE.

ILLUMINA NE PREVZEMA NOBENE ODGOVORNOSTI ZA NEPRAVILNO UPORABO IZDELKOV, OPISANIH V TEM DOKUMENTU (VKLJUČNO Z NJIHOVIMI DELI IN PROGRAMSKO OPREMO).

© 2019 Illumina, Inc. Vse pravice pridržane.

Vse blagovne znamke so last družbe Illumina, Inc. ali njihovih ustreznih lastnikov. Informacije o določenih blagovnih znamkah najdete na spletnem mestu www.illumina.com/company/legal.html.

Zgodovina revizij

| Dokument | Datum | Opis spremembe |
|-----------------------------------|-----------------|---|
| Dokument št. 1000000036024 v05 | Marec 2019 | <p>Posodobljeni opisi programske opreme v iSeq Control Software v1.4:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Posodobljena navodila o konfiguraciji nastavitvev sistema, vključno s premikanjem in preimenovanjem nekaterih elementov uporabniškega vmesnika. • Dodani opisi za metriki »%Clusters PF« (%Gruč PF) in »%Occupancy« (%Polnosti), ki sta prikazani na zaslonu za sekvenciranje. • Dovoljena mesta preslikanih omrežnih pogonov za vzorčne liste in mape z odčitki. • Navedeno je, da programska oprema samodejno preimenuje vzorčne liste v SampleSheet.csv. <p>Dodane povezave za te strani:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Predloga vzorčnega lista sistema iSeq 100 za ročni način. • Strani s podporo za programsko opremo za pretvorbo bcl2fast. <p>Dodani volumni za pripravo knjižnic 100% PhiX in AmpliSeq Library PLUS for Illumina s koncentracijo 1 nM.</p> <p>Dodana navodila za premik shrambe vzorčnih genomov za Local Run Manager na mesto, ki ni pogon C, ob povrnitvi na tovarniške nastavitve.</p> <p>Povečano največje število priporočenih ciklov za indeksno odčitavanje 1 in indeksno odčitavanje 2 na 10 ciklov za posamezno odčitavanje.</p> <p>Povečano število ciklov kartuše na 322.</p> <p>Referenčna navodila <i>Navodila za optimiziranje gostote gruče (dokument št. 1000000071511)</i> za podrobne informacije o optimiziranju koncentracije ob vstavljanju.</p> <p>Pojasnilo, da mora biti kartuša shranjena vsaj en dan na temperaturi od –25 °C do –15 °C, preden jo odmrznete v vodni kopeli.</p> <p>Popravljen knjižnica AmpliSeq for Illumina Library PLUS v AmpliSeq Library PLUS for Illumina.</p> |
| Dokument št. 1000000036024 v04 | Oktober 2018 | <p>Dodane priporočene koncentracije ob vstavljanju in navodila za redčenje za knjižnice Nextera DNA Flex for Enrichment, TruSeq DNA Nano in TruSeq DNA PCR-Free.</p> <p>Dodana navodila za uporabo načina normalizacije, ki ne ustvari knjižnic z enojno verigo.</p> <p>Dodani opisi dveh načinov izvedbe – Local Run Manager in ročni način.</p> <p>Dodana možnost 5 % spajanja kontrolnika PhiX v genom in določitev namena posameznih odstotkov spajanja v genom.</p> <p>Dodani ti koraki:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Preklop v račun sbadmin v operacijskem sistemu ob namestitvi programske opreme za nadzor, modulov za analizo in druge programske opreme. • Ponovni zagon instrumenta ob povrnitvi na tovarniške nastavitve. <p>Referenčna navodila <i>Sekvence vmesnika družbe Illumina (dokument št. 1000000002694)</i> za določanje smeri za »Index 2 (i5)« (Indeks 2 (i5)) za vzorčni list.</p> <p>Pojasnjene te točke:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kartuše je treba uporabiti takoj, ko jih odmrznete. • Koncentracije ob vstavljanju, navedene za knjižnici Nextera DNA Flex in Nextera Flex for Enrichment, ne veljajo za druge vrste knjižnic Nextera. • SureCell WTA 3' ni združljiva knjižnica. |

| Dokument | Datum | Opis spremembe |
|-----------------------------------|----------------|---|
| Dokument št. 1000000036024 v03 | Avgust 2018 | <p>Posodobljeni opisi programske opreme v iSeq Control Software v1.3:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dodana navodila za konfiguracijo storitve Universal Copy Service. • Preimenovan zavihek »Network Configuration« (Konfiguracija omrežja) v »Network Access« (Omrežni dostop). • Dodana navodila za odpiranje programske opreme Local Run Manager v programski opremi za nadzor. <p>Posodobljeno privzeto mesto mape z odčitki v D:\SequencingRuns. Dodana navodila za povezovanje sistema s strežnikom proxy. Dodana zahteva za določitev poti UNC za mesta mape z odčitki in vzorčnega lista v omrežju. Določene posebne zahteve za konfiguracijo mesta mape z odčitki v notranjem pogonu, zunanem pogonu ali omrežnem mestu. Dodana navodila za ustvarjanje vzorčnega lista za ročni način za prvi korak nastavitve izvedbe sekvenciranja. Popravljeni navodila za uporabo čarovnika za namestitve zbirke sistema. Popravljen opis datotek s sličicami odčitkov.</p> |
| Dokument št. 1000000036024 v02 | Junij 2018 | <p>Posodobljene epruvete, uporabljene za redčenje knjižnic, v Fisher Scientific, kataloška št. 14-222-158, ali enakovredne epruvete z nizko vezavo.</p> <p>Dodan razdelek z opisom regionalne razpoložljivosti napredne zamenjave. Pojasnilo, da je treba razredčene knjižnice sekvencirati do koncentracije ob vstavljanju istega dne. Pojasnilo, da je treba kartušo z reagentom vzeti iz škatle in jo odmrzniti.</p> |

| Dokument | Datum | Opis spremembe |
|-----------------------------------|-------------|--|
| Dokument št. 1000000036024 v01 | Maj 2018 | <p>Posodobljeni opisi programske opreme v iSeq Control Software v1.2:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dodana možnost iskanja prenesenega programa za namestitev programske opreme v programski opremi za nadzor. • Dodana navodila za shranjevanje sličic. • Premaknjene nastavitve omrežja na zavihek »Network Configuration« (Konfiguracija omrežja). • Povečanje največjega števila uporabe testnih komponent za večkratno uporabo na 36 in opomba, da je preostalo število uporab prikazano na zaslonu. <p>Posodobljene informacije za Local Run Manager:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dodani koraki za odpiranje programske opreme Local Run Manager in nastavitve izvedbe sekvenciranja. • Dodan modul RNA Amplicon kot vnaprej nameščen modul za analizo in modula DNA Enrichment in Resequencing kot drugi podprti moduli. • Posodobljene reference dokumentacije v <i>Navodila za programsko opremo Local Run Manager (dokument št. 1000000002702)</i>. <p>Posodobljena navodila za odmrzovanje kartuše:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dodana možnost odmrzovanja pri sobni temperaturi. • Dodana podrobna navodila za vodno kopel, vključno s shranjevanjem pred odmrznitvijo. <p>Posodobljena navodila za pripravo knjižnic za sekvenciranje:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Posodobljena koncentracija ob vstavljanju knjižnice Nextera DNA Flex na 200 pM. • Dodana koncentracija ob vstavljanju za vrste knjižnic, ki niso navedene. • Dodane informacije o metriki »%Occupied« (% polnosti). • Povečan volumen kontrolnika PhiX s koncentracijo 1 nM za spajanje v genom na 50 µl. <p>Posodobljene številke kataloga družbe Illumina za:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dodatna blazinica posode za zbiranje tekočine za iSeq 100 v 20023927. • Dodatni zračni filter za iSeq 100 v 20023928. <p>Posodobljena priporočila za pipete in konice pipet.</p> |

| Dokument | Datum | Opis spremembe |
|-----------------------------------|-----------------|--|
| Dokument št. 1000000036024 v01 | Maj 2018 | <p>Dodana druga navodila:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Izvajanje preverjanja. • Ustvarjanje vzorčnega lista pri sekvenciranju v ročnem načinu. • Minimiranje programske opreme za nadzor za dostopanje do drugih aplikacij. <p>Dodani ti koraki postopku preverjanja sistema:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Odstranjevanje in shranjevanje testnih komponent za večkratno uporabo. • Čiščenje vidnih delcev na testni pretočni celici za večkratno uporabo. <p>Reorganizirana ta vsebina za lažje razumevanje:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Združena navodila za izvedbo sekvenciranja le z enim kontrolnikom PhiX s standardnimi navodili za sekvenciranje. • Združena navodila za pripravo pretočne celice z navodili za redčenje knjižnice. • Združena navodila za spajanje kontrolnika PhiX v genom. • Premaknjene informacije o številu ciklov v odčitavanju. • Premaknjena analiza v realnem času in preimenovana v <i>Odčitek sekvenciranja</i>. <p>Poenostavljen diagram poteka dela sporočil o napakah. Odstranjene informacije o tabličnem načinu in načinu namizja. Operacijski sistem se privzeto izvaja v načinu namizja, tablični način ni potreben. Odstranjena zahteva za dokončanje in vrnitev potrdila o dekontaminaciji za napredno zamenjavo. Popravljena povprečna velikost izvedbe na 2 GB.</p> |
| Dokument št. 1000000036024 v00 | Februar 2018 | Prva izdaja. |

Kazalo

| | |
|--|-----------|
| Poglavje 1 Pregled | 1 |
| Uvod | 1 |
| Dodatni viri | 2 |
| Deli instrumenta | 3 |
| Reagent i1 za iSeq 100 | 7 |
| | |
| Poglavje 2 Začetek | 11 |
| Začetno nastavljanje | 11 |
| Minimiranje programske opreme za nadzor | 12 |
| Nastavitev izvedbe | 12 |
| Prilagoditev instrumenta | 15 |
| Nastavitev omrežja | 16 |
| Potrošni material in oprema, ki jih dobavi uporabnik | 18 |
| | |
| Poglavje 3 Sekvenciranje | 20 |
| Uvod | 20 |
| Odmrzovanje kartuše v vrečki | 21 |
| Priprava pretočne celice in knjižnic | 22 |
| Vstavljanje potrošnega materiala v kartušo | 24 |
| Nastavitev izvedbe sekvenciranja (Local Run Manager) | 26 |
| Nastavljanje izvedbe sekvenciranja (ročni način) | 29 |
| | |
| Poglavje 4 Vzdrževanje | 33 |
| Čiščenje prostora na trdem disku | 33 |
| Posodobitve programske opreme | 33 |
| Zamenjava zračnega filtra | 35 |
| Prestavljanje instrumenta | 37 |
| Pravilniki z omejitvami programske opreme | 38 |
| | |
| Dodatek A Odčitek sekvenciranja | 41 |
| Pregled analize v realnem času | 41 |
| Potek analize v realnem času | 43 |
| | |
| Dodatek B Odpravljanje težav | 47 |
| Odpravljanje sporočil o napakah | 47 |
| Preklic začete izvedbe sekvenciranja | 48 |
| Ponovni zagon instrumenta | 48 |
| Preverjanje sistema | 49 |
| Ukrepi pri puščanju | 51 |
| Povrnitev na tovarniške nastavitve | 53 |
| | |
| Dodatek C Napredna zamenjava | 55 |

| | |
|--|-----------|
| Zamenjava sistema iSeq 100 | 55 |
| Prejem nadomestnega sistema | 55 |
| Priprava originalnega sistema na vračilo | 55 |
| Vračilo originalnega sistema | 58 |
| Kazalo | 62 |
| Tehnična pomoč | 68 |

Poglavje 1 Pregled

| | |
|------------------------------|---|
| Uvod | 1 |
| Dodatni viri | 2 |
| Deli instrumenta | 3 |
| Reagent i1 za iSeq 100 | 7 |

Uvod

Sistem za sekvenciranje Illumina® iSeq™ 100 ponuja usmerjen pristop k sekvenciranju naslednje generacije. Ta sistem, ki temelji na aplikacijah, ponuja tehnologijo sekvenciranja družbe Illumina v obliki namiznega instrumenta, ki je stroškovno učinkovit.

Značilnosti

- ▶ **Dostopnost in zanesljivost** – sistem iSeq 100 ima majhen vmesnik, namestitvev in uporaba pa sta enostavni. Tekočinski elementi in sestavni deli za zajemanje slik so del potrošnega materiala, zato je vzdrževanje instrumenta enostavnejše.
- ▶ **Vstavljanje potrošnega materiala v enem koraku** – vsi reagenti, ki jih potrebujete za izvedbo sekvenciranja, so vnaprej vstavljeni v kartušo za enkratno uporabo. Knjižnica in pretočna celica s senzorjem sta vstavljeni neposredno v kartušo, ki jo nato vstavite v instrument. Integrirana identifikacija omogoča natančno spremljanje.
- ▶ **Programska oprema sistema iSeq 100** – zbirka integrirane programske opreme omogoča nadzor postopkov v instrumentu, obdelavo slik in ustvarjanje dodeljevanja baz. Ta zbirka omogoča analizo podatkov v instrumentu in zagotavlja orodja za prenos podatkov za potrebe zunanjih analiz.
 - ▶ **Analiza v instrumentu** – Local Run Manager omogoča vnos vzorčnih informacij in nato analizira podatke izvedbe z modulom za analizo, določenim za posamezno izvedbo. Programska oprema vključuje zbirko modulov za analizo.
 - ▶ **Analiza v oblaku** – potek dela za sekvenciranje je integriran s središčem BaseSpace Sequence Hub, računalniškim okoljem v oblaku družbe Illumina in je namenjena spremljanju izvedb sekvenciranja, analizi podatkov, shranjevanju in sodelovanju. Datoteke z odčitki v središču BaseSpace Sequence Hub pretakajo v realnem času za potrebe analize.

Od vzorca do analize

V spodnjem diagramu je prikazan celoten potek sekvenciranja, od poskusne zasnove do analize podatkov. V vsakem koraku so navedena orodja in dokumentacija. V tem vodniku je opisan korak knjižnic sekvenc. Ostala dokumentacija je na voljo na spletnem mestu support.illumina.com.

Slika 1 Potek od vzorca do analize



Dodatni viri

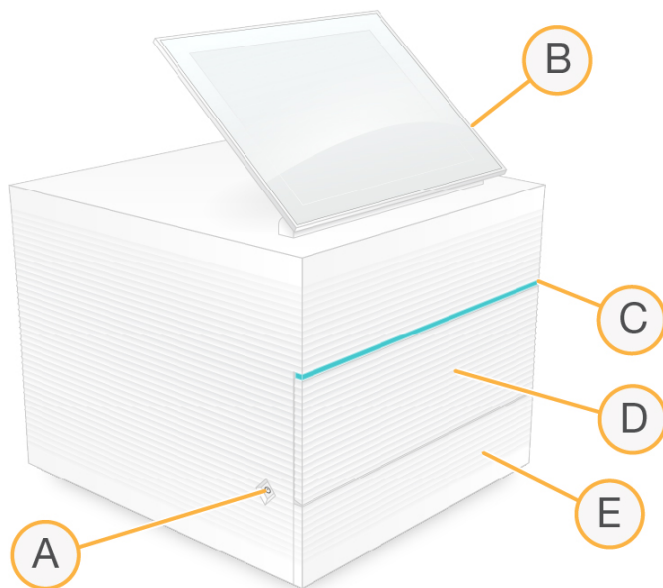
Na spletnem mestu družbe Illumina so [na strani s podporo za sistem za sekvenciranje iSeq 100](#) na voljo dodatni viri sistema. Viri vključujejo programsko opremo, usposabljanje, združljive izdelke in to dokumentacijo. Na straneh s podporo lahko vedno najdete najnovejše različice.

| Vir | Opis |
|--|--|
| Izbirnik protokola po meri | Orodje za ustvarjanje povezanih navodil, prilagojenih vaši metodi priprave knjižnice, parametrom izvajanja in metodi analize z možnostmi izboljšanja ravnih podrobnosti. |
| Plakat za nastavitve sistema za sekvenciranje iSeq 100 (dokument št. 1000000035963) | Vključuje navodila za namestitvev instrumenta in začetno nastavljanje. |
| Navodila za pripravo mesta za uporabo sistema za sekvenciranje iSeq 100 (dokument št. 1000000035337) | Vključuje specifikacije za laboratorijski prostor, zahteve, povezane z elektriko, in dejavnike varstva okolja ter omrežja. |
| Navodila za zagotavljanje varnosti in skladnosti s predpisi za sistem za sekvenciranje iSeq 100 (dokument št. 1000000035336) | Vključuje informacije o zahtevah za varno uporabo, izjave o skladnosti s predpisi in označevanju instrumenta. |
| Navodila za zagotavljanje skladnosti s predpisi za bralnik RFID (dokument št. 100000002699) | Vključuje informacije o bralniku RFID v instrumentu, vključno s potrdili o zagotavljanju skladnosti s predpisi in varnostnimi zahtevami. |

Deli instrumenta

Sistem za sekvenciranje iSeq 100 sestavljajo gumb za vklop/izklop, monitor, vrstica stanja, predal za potrošni material in posoda za zbiranje tekočine.

Slika 2 Zunanji sestavni deli sistema



- A **Gumb za vklop/izklop** – nadzora napajanje instrumenta in označuje, ali je sistem vklopljen (sveti), izklopljen (zatemnjen) ali izklopljen, vendar priključen na električno vtičnico (utripa).
- B **Monitor na dotik** – omogoča konfiguracijo v instrumentu in nastavitve z uporabo vmesnika programske opreme za nadzor.
- C **Vrstica stanja** – označuje stanje sistema, in sicer: pripravljen na sekvenciranje (zelena), obdelava (modra) ali potrebno je posredovanje uporabnika (oranžna).
- D **Predal za potrošni material** – vsebuje potrošni material med izvedbo sekvenciranja.
- E **Vrata posode za zbiranje tekočine** – omogoča dostop do posode za zbiranje tekočine, kjer se zadržijo tekočine.

Stikalo za vklop in ostali priključki

Instrument lahko prestavite tako, da lahko dostopate do vrat USB in zadnje strani instrumenta.

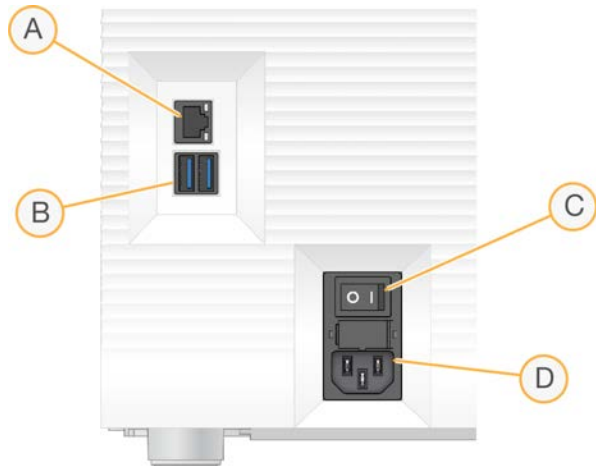
Na zadnji strani instrumenta sta stikalo in vtičnica, s katerima vklopite ali izklopite instrument, ter ethernetna vrata za ethernetno povezavo. Prek dvojih vrat USB lahko priključite miško in tipkovnico ali pa naložite in prenesete podatke na ali iz prenosne naprave.



OPOMBA

Ko povežete sistem s tipkovnico in miško, preglasite tipkovnico na zaslonu.

Slika 3 Zadnja stran instrumenta

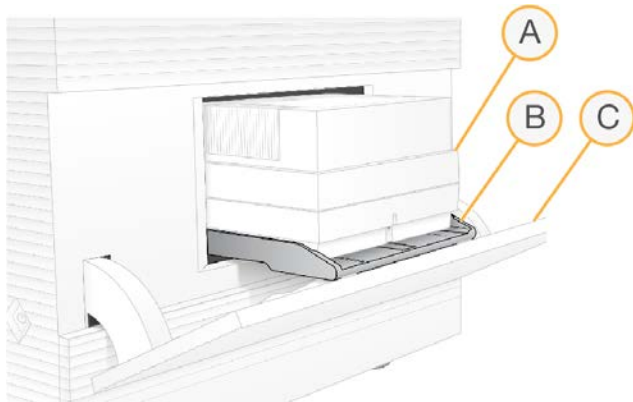


- A **Ethemetna vrata** – izbirna povezava prek ethernetnega kabla.
- B **Vrata USB** – dvoje vrat za priključitev dodatnih pripomočkov.
- C **Preklopno stikalo** – z njim vklopite ali izklopite instrument.
- D **Električna vtičnica** – povezava prek napajalnega kabla.

Predal za potrošni material

Predal za potrošni material vsebuje kartušo za izvedbo sekvenciranja.

Slika 4 Predal z vstavljenim potrošnim materialom



- A **Kartuša** – vsebuje pretočno celico, knjižnico in reagente. Med izvedbo zbira uporabljene reagente.
- B **Pladenj** – med sekvenciranjem je vanj vstavljena kartuša.
- C **Vrata** – odprejo se do kota 60 stopinj, da omogočijo dostop do predala za potrošni material.

Programska oprema odpre in zapre vrata predala in namesti kartušo za zajemanje slike. Vrata se na tečajih spustijo navzdol v smeri proti dnu instrumenta. Ne postavljajte predmetov na spuščena vrata, saj niso zasnovana za uporabo kot polica.

Testna pretočna celica in kartuša za večkratno uporabo

Instrumentu sta priloženi testna pretočna celica za večkratno uporabo iSeq 100 in testna kartuša za večkratno uporabo iSeq 100, s katerima preverite sistem.

- ▶ Hranite ju v originalni embalaži pri sobni temperaturi.
- ▶ Uporabite ju lahko največ 36-krat oziroma 5 let od datuma proizvodnje, kar nastopi prej.
 - ▶ Med preverjanjem sistema programska oprema prikaže preostalo število uporab.
 - ▶ Pretečeno testno opremo za večkratno uporabo zamenjajte s kompletom za testiranje iSeq 100 System Test Kit.

Slika 5 Testna oprema za večkratno uporabo



- A Testna pretočna celica za večkratno uporabo
- B Testna kartuša za večkratno uporabo

Testna oprema za večkratno uporabo je podobna opremi za sekvenciranje, ki je priložena reagentu i1 za iSeq 100; tudi smer vstavljanja je enaka. V testni kartuši ni rezervoarja za knjižnico in noben del testne opreme ne vsebuje kemične mešanice, potrebne za izvedbo sekvenciranja.

Programska oprema sistema

V zbirki programske opreme sistema so integrirane aplikacije, ki izvajajo sekvenciranja in analizo v instrumentu.

- ▶ **iSeq Control Software** – Nadzoruje delovanje instrumenta in ponuja vmesnik za konfiguracijo sistema, nastavljanje izvedbe sekvenciranja in nadzorovanje statistike med sekvenciranjem.
- ▶ **Local Run Manager** – Določa parametre izvedbe in način analize pred sekvenciranjem. Po sekvenciranju se analiza podatkov v instrumentu začne samodejno.
 - ▶ V sistemu so že nameščeni moduli za analizo DNA Amplicon, RNA Amplicon in Generate FASTQ.
 - ▶ Sistem podpira tudi modula za analizo DNA Enrichment in Resequencing, ki sta na voljo na [straneh podpore za Local Run Manager](#).
 - ▶ Več informacij o programski opremi Local Run Manager in modulih za analizo je na voljo v dokumentu *Navodila za programsko opremo Local Run Manager (dokument št. 1000000002702)*.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA2)** – Izvaja analizo slike in dodelitev baze med izvedbo sekvenciranja. Če želite več informacij, glejte razdelek *Odčitek sekvenciranja na strani 41*.
- ▶ **Universal Copy Service** – Kopira datoteke z odčitki sekvenciranja iz mape izvedbe v središče BaseSpace Sequence Hub (po potrebi) in mapo z odčitki, kjer si jih lahko ogledate.

Real-Time Analysis in Universal Copy Service izvajata le postopke v ozadju. Local Run Manager in programska oprema za nadzor lahko zahtevata uporabniške vnose.

Informacije o sistemu

V meniju programske opreme za nadzor je razdelek »About« (Vizitka), kjer so podatki za stik z družbo Illumina in te informacije o sistemu:

- ▶ Serijska številka
- ▶ Ime računalnika in naslov IP
- ▶ Različica delca recepta
- ▶ Število izvedb

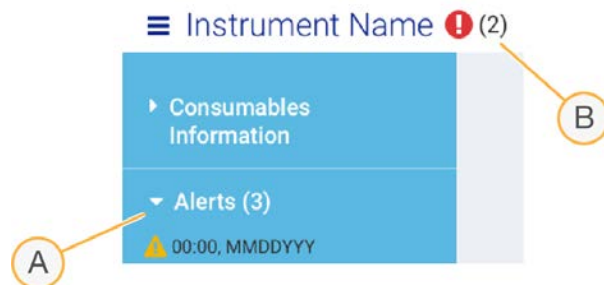
Obvestila in opozorila

Ikona zraven imena instrumenta pomeni obvestilo. Ko izberete ikono, se prikaže seznam obvestil, vključno z opozorili in napakami.

- ▶ Opozorila morate prebrati, vendar se zaradi njih ne ustavi sekvenciranje in vam ni treba ukrepati.
- ▶ Če pride do napake, morate izvesti določena dejanja, preden lahko začnete ali nadaljujete sekvenciranje.

V podoknu na levi strani zaslonov za nastavitve izvedbe sekvenciranja so prikazana opozorila, povezana z vstavljanjem kartuše in preverjanjem pred izvedbo sekvenciranja.

Slika 6 Lokacije na zaslonu



- A Opozorila za nastavitve izvedbe
- B Druga obvestila

Upravljanje postopka

Na zaslonu »Process Management« (Upravljanje postopka) je prikazan prostor na trdem disku (disk D) in stanje izvedbe; za vsako izvedbo je navedeno ime, ID in datum. Zaslone se samodejno osveži vsake tri minute.

V stolpcu »Status« (Stanje) je navedeno, ali je izvedba v teku ali dokončana, glede na obdelavo datotek BCL. Na zaslonu »Process Management« (Upravljanje postopka) je za vsako izvedbo sekvenciranja prikazano tudi stanje postopkov storitve Universal Copy Service, središča BaseSpace Sequence Hub in programske opreme Local Run Manager, ki se izvajajo v ozadju.

Nepovezani postopki niso prikazani na zaslonu. Če na primer izvedba sekvenciranja ni povezana s središčem BaseSpace Sequence Hub, funkcija »Process Management« (Upravljanje postopka) ne prikaže stanja središča BaseSpace v tej izvedbi.

- ▶ Če želite odpraviti težave s stanjem, preberite razdelek *Stanje funkcije »Process Management« (Upravljanje postopka) na strani 47.*
- ▶ Če želite izbrisati izvedbe sekvenciranja in počistiti prostor, preberite razdelek *Čiščenje prostora na trdem disku na strani 33.*

Stanje storitve Universal Copy Service

Storitev Universal Copy Service prikazuje stanje datotek, ki se kopirajo v mapo z odčitki:

- ▶ **In Progress** (V teku) – Universal Copy Service kopira datoteke v mapo z odčitki.
- ▶ **Complete** (Dokončano) – Storitev Universal Copy Service je uspešno kopirala vse datoteke v mapo z odčitki.

Stanje središča za sekvenciranje BaseSpace

V središču za sekvenciranje BaseSpace je prikazano stanje prenosa:

- ▶ **In Progress** (V teku) – Programska oprema za nadzor prenaša datoteke v BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ **Complete** (Dokončano) – Vse datoteke so uspešno prenesene v BaseSpace Sequence Hub.

Stanje orodja Local Run Manager

Local Run Manager prikaže stanje analize v programski opremi za nadzor:

- ▶ **Not Started** (Ni se začelo) – Analizo je treba začeti ali pa Local Run Manager čaka, da se funkcija »Real-Time Analysis« (Analiza v realnem času) zaključi.
- ▶ **In Progress** (V teku) – Local Run Manager analizira datoteke. Podrobnejše stanje preverite v programski opremi Local Run Manager.
- ▶ **Stopped** (Ustavljeno) – Analiza je ustavljena, vendar še ni končana.
- ▶ **Complete** (Dokončano) – Local Run Manager je uspešno dokončal analizo.

Dodatne informacije o stanju analize najdete v programski opremi Local Run Manager.

Reagent i1 za iSeq 100

Za izvedbo sekvenciranja v sistemu iSeq 100 potrebujete en komplet z reagenti i1 za iSeq 100 za enkratno uporabo. Komplet je na voljo v eni velikosti (za 300 ciklov) in v dveh različnih pakiranjih:

- ▶ **Enojno pakiranje** – s potrošnim materialom za eno izvedbo.
- ▶ **Štirikratno pakiranje** – s potrošnim materialom za štiri izvedbe.

Vsebina in shranba

Komplet reagentov i1 za iSeq 100 vsebuje kartušo in pretočno celico za sekvenciranje. Ko prejmete komplet:

- ▶ Ne odpirajte paketov v beli foliji, dokler ne prejmete takšnih navodil med postopkom odmrzovanja kartuše in pripravo pretočne celice. Kartušo odmrznete v vrečki.
- ▶ Nemudoma shranite sestavne dele pri označenih temperaturah, da zagotovite ustrezno učinkovitost delovanja.
- ▶ Shranite kartuše tako, da oznake paketov gledajo navzgor.
- ▶ Kartuše naj bodo shranjene vsaj en dan, preden jih odmrznete v vodni kopeli.

Tabela 1 Sestavni deli kompletov

| Pakiranje | Potrošni material | Količina | Temperatura za shranjevanje |
|-----------|-------------------|----------|-----------------------------|
| En | Kartuša | 1 | od -25 °C do -15 °C |
| | Pretočna celica | 1 | od 2 °C do 8 °C* |

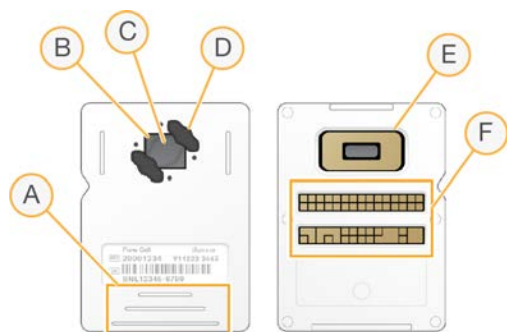
| Pakiranje | Potrošni material | Količina | Temperatura za shranjevanje |
|--------------|-------------------|----------|-----------------------------|
| Paket štirih | Kartuša | 4 | od -25 °C do -15 °C |
| | Pretočna celica | 4 | od 2 °C do 8 °C* |

*Odpremljeno pri sobni temperaturi.

Oba elementa potrošnega materiala vključujeta identifikatorje za sledenje in zagotavljata združljivost. Kartuša uporablja radiofrekvenčno identifikacijo (RFID). Pretočna celica uporablja električni vmesnik: električno izbrisljiv programirljiv bralni pomnilnik (EEPROM).

Pretočna celica

Pretočna celica i1 sistema iSeq 100 je vzorčna, enopasovna pretočna celica, ki prekriva optični senzor z dopolnilnim kovinskooksidnim polprevodnikom (CMOS). Plastična kartuša obdaja stekleno pretočno celico. Privzdignjene oprijemalne točke na plastiki zagotavljajo varno obdelavo.

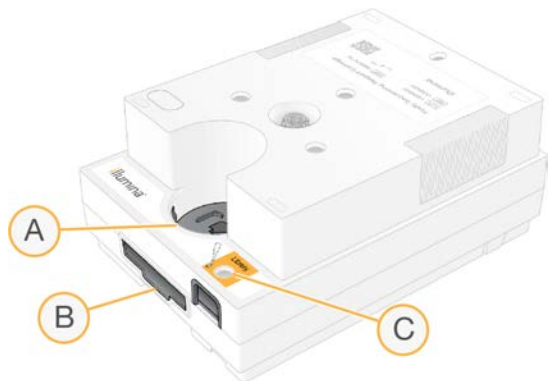


- A Oprijemalne točke
- B Senzor CMOS (vrh)
- C Območje zajemanja slik
- D Tesnilo (eno od dveh)
- E Senzor CMOS (dno)
- F Električni vmesnik

Na površini pretočne celice je več milijonov nano vdolbinic. Gruče se ustvarijo v nano vdolbinicah, v katerih se nato izvede reakcija sekvenciranja. Urejena razporeditev nano vdolbinic zagotavlja boljše rezultate za odčitke in podatke. Med sekvenciranjem senzor CMOS zajame slike za analizo.

Kartuša

Kartuša i1 sistema iSeq 100 je vnaprej napolnjena z reagenti za gručenje, sekvenciranje, odčitavanje v paru in indeksiranje. Rezervoar v zatesnjeni foliji je namenjen knjižnicam, reža na sprednjem delu pa je namenjena pretočni celici. Osvetlitev, ki jo zagotavlja osvetljevalnik, pride do pretočne celice skozi okno za dostop na vrhu kartuše.



- A Okno za dostop
- B Reža pretočne celice
- C Rezervoar knjižnice

Kartuša vsebuje ves potrošni material za izvedbo sekvenciranja: reagente, knjižnico in pretočno celico. Knjižnica in pretočna celica sta nameščeni v odmrznjeni kartuši, ki se nato namesti v instrument. Ko se začne izvedba sekvenciranja, se reagenti in knjižnice samodejno prenesejo iz kartuše v pretočno celico.

V rezervoarju na spodnji strani se zbirajo uporabljeni reagenti. Kartuša vsebuje tudi črpalke, ventile in vse druge tekočinske elemente za sistem. Ker je kartušo treba po izvedbi sekvenciranja zavržiti, instrumenta ni treba izpirati.



Podprto število ciklov







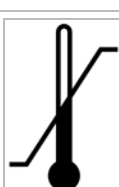
Nalepka 300 ciklov na kartuši pomeni, koliko ciklov je analiziranih in ne koliko se jih izvede. Pretočna celica je združljiva s poljubnim številom ciklov in vrsto odčitavanja.

V kartuši je dovolj reagenta za največ 322 ciklov sekvenciranja. Med temi 322 cikli je po 151 ciklov za odčitavanje 1 in odčitavanje 2 ter do 10 ciklov za indeks 1 in indeks 2. Več informacij o številu ciklov v sekvenciranju poiščite v razdelku *Priporočeno število ciklov na strani 21*.

Opisi simbolov

V naslednji tabeli so opisani simboli na ohišju ali embalaži potrošnih materialov.

| Simbol | Opis |
|---|---|
|  | Datum poteka potrošnega materiala Za najboljše rezultate uporabite potrošne materiale pred tem datumom. |
|  | Označuje proizvajalca (Illumina). |

| Simbol | Opis |
|---|---|
|  | Datum izdelave potrošnega materiala. |
|  | Namen uporabe je »Samo za raziskave« (RUO – Research Use Only). |
|  | Označuje številko dela za identifikacijo potrošnega materiala.* |
|  | Označuje številko paketa za identifikacijo paketa ali serije, v kateri je bila oprema proizvedena.* |
|  | Označuje, da je treba ravnati previdno. |
|  | Označuje nevarnost za zdravje. |
|  | Temperatura za shranjevanje v stopinjah Celzija. Opremo shranite pri navedeni temperaturi. |

* REF označuje posamezno komponento, LOT pa serijo ali paket, ki mu komponenta pripada.

Poglavje 2 Začetek

| | |
|--|----|
| Začetno nastavljanje | 11 |
| Minimiranje programske opreme za nadzor | 12 |
| Nastavitev izvedbe | 12 |
| Prilagoditev instrumenta | 15 |
| Nastavitev omrežja | 16 |
| Potrošni material in oprema, ki jih dobavi uporabnik | 18 |

Začetno nastavljanje

Ko prvič vklopite sistem, se zažene programska oprema za nadzor. Hkrati se odpre niz zaslonov z navodili za začetno nastavitve. Začetno nastavljanje vključuje izvedbo postopka preverjanja sistema, da potrdite učinkovitost delovanja instrumenta in konfigurirate nastavitve sistema.

Če želite spremeniti nastavitve sistema po začetnem nastavljanju, izberite ukaz »System Settings« (Nastavitve sistema) v programski opremi za nadzor. S tem ukazom odprete zavihke »Settings« (Nastavitve), »Network Access« (Omrežni dostop) in »Customization« (Prilagoditev), kjer lahko dostopate do vseh nastavitvev programske opreme za nadzor in omrežnih nastavitvev sistema Windows.

Računi v operacijskem sistemu

V operacijskem sistemu Windows sta na voljo dve vrsti računov: skrbniški (sbsadmin) in uporabniški (sbsuser).

Skrbniški račun uporabljate za namene IT-ja, systemske posodobitve ter nameščanje programske opreme za nadzor, modulov za analizo Local Run Manager in druge programske opreme. Vse ostale funkcije, vključno s sekvenciranjem, izvajajte v uporabniškem računu.

Zahteve za gesla

Ko se prvič prijavite v sistem, morate zamenjati gesli za oba računa (sbsadmin in sbsuser). Vsako geslo posodobite vsakih 180 dni, ko vas sistem pozove.

Tabela 2 Privzeti pravilniki za gesla

| Pravilnik | Nastavitev |
|---|------------------------------------|
| »Enforce password history« (Uporabi zgodovino gesel) | Zapomni si pet gesel |
| »Lockout threshold« (Omejitev za zaklep) | Deset nepravilnih poskusov prijave |
| »Minimum password length« (Najmanjša dolžina gesla) | Deset znakov |
| »Password must meet complexity requirements« (Gesla morajo biti skladna z zahtevami za zapletenost) | Onemogočeno |
| »Store passwords using reversible encryption« (Shranjevanje gesel z obratnim šifriranjem) | Onemogočeno |

Izvedbe preverjanja

Pred prvim sekvenciranjem poskusnih knjižnic lahko po potrebi izvedete preverjanje. Izvedba preverjanja sekvencira kontrolnik 100% PhiX, ki ima vlogo knjižnice kontrolnika za preverjanje ustreznosti delovanja sistema. Navodila najdete v razdelku *Sekvenciranje na strani 20*.

Minimiranje programske opreme za nadzor

Minimirajte programsko opremo za nadzor, da lahko dostopate do drugih aplikacij. Če želite na primer poiskati mapo z odčitki v Raziskovalcu ali najti vzorčni list.

- 1 Povlecite navzgor na zaslonu na dotik, da odprete opravilno vrstico za Windows.
- 2 Izberite ikono **iSeq 100 System** (Sistem iSeq 100) ali drugo aplikacijo. Programska oprema za nadzor se minimizira.
- 3 **[Izbirno]** Instrumentu priključite miško in tipkovnico, da omogočite krmarjenje in tipkanje zunaj programske opreme za nadzor.
- 4 Če želite maksimirati programsko opremo za nadzor, povlecite navzgor in izberite **iSeq 100 System** (Sistem iSeq 100).

Nastavitev izvedbe

Možnosti za nastavitev izvedbe, nadzor izvedbe in analizo podatkov konfigurirate na zavihku »Settings« (Nastavitve) v razdelku »System Settings« (Nastavitve sistema). Na tem zavihku so prikazane priporočene hitre nastavitve, ki jih lahko uporabite tako, da izberete možnost hitre nastavitve. Nastavitve pa lahko prilagodite tudi z ročno nastavitvijo.

Za hitre nastavitve so uporabljene spodnje nastavitve, v središče BaseSpace Sequence Hub pa so poslani datoteke InterOp, dnevniške datoteke, podatki o učinkovitosti delovanja instrumenta in podatki o izvedbi:

- ▶ **Illumina Proactive Support** (Proaktivna podpora Illumina) – Omogoča odpravljanje napak in zaznavanje morebitnih okvar ter zagotovi ukrepe za vzdrževanje in maksimiranje časa delovanja instrumenta. Če vklopite storitev Illumina Proactive Support, so podatki o učinkovitosti delovanja instrumenta (ne podatki o sekvenciranju) poslani v središče BaseSpace Sequence Hub. Če želite več informacij, glejte *Tehnične podatke za storitev Illumina Proactive (dokument št. 1000000052503)*.
- ▶ **Local Run Manager** – S programsko opremo Local Run Manager ustvarite izvedbe in analizirate podatke izvedbe za preprost, učinkovit potek dela. Ne potrebujete posebnih vzorčnih listov in aplikacij za analize.
- ▶ **Remote Run Monitoring** (Nadzor izvedbe na daljavo) – V središču BaseSpace Sequence Hub lahko nadzirate izvedbo na daljavo.
- ▶ **Run Analysis, Collaboration, and Storage** (Analiza izvedbe, sodelovanje in shranjevanje) – V središču BaseSpace Sequence Hub lahko shranjujete in analizirate podatke izvedbe ter sodelujete s sodelavci.



OPOMBA

Ko je izvedba dokončana, Local Run Manager samodejno zažene analizo. Podatke lahko analizirate tudi v središču BaseSpace Sequence Hub.

Uporaba hitrih nastavitvev

Trenutne nastavitve izvedbe sekvenciranja je zamenjala hitra nastavitvev, ki vključuje priporočene nastavitve izvedbe in lokalizirane nastavitve za središče BaseSpace Sequence Hub. Za te nastavitve potrebujete internetno povezavo in račun za BaseSpace Sequence Hub. Navodila za nastavitve računa so na voljo v *Spletni pomoči za BaseSpace Sequence Hub (dokument št. 100000009008)*.

- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
- 2 Na zavihku »Settings« (Nastavitve) izberite **Use Express Settings** (Uporabi hitre nastavitve).

- 3 Na seznamu »Set Region« (Nastavi regijo) izberite geografsko lokacijo, kjer se nahaja sistem oz. njemu najbližjo lokacijo.
Ta nastavev zagotavlja, da se podatki shranjujejo na ustrezni lokaciji v središču BaseSpace Sequence Hub.
- 4 Če imate naročnino za podjetja, v polje »Enter Private Domain« (Vnesi zasebno domeno) vnesite ime domene (URL), ki jo uporabljate za enkratno prijavo v središče BaseSpace Sequence Hub.
Na primer: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
- 5 Izberite **Next** (Naprej).
- 6 Preglejte nastavitve. Če želite spremeniti nastavev:
 - a Izberite **Edit** (Uredi), da odprete nastavev.
 - b Po potrebi spremenite nastavev in izberite **Next** (Naprej).
 - c Izberite **Next** (Naprej), da se pomikate po morebitnih nadaljnjih oknih.

Zelena kljukica v oknu »Settings Review« (Pregled nastavitvev) pomeni, da so nastavitve omogočene.
- 7 Izberite **Save** (Shrani).
- 8 Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Ročna konfiguracija nastavitvev

Način ročne nastavitve vključuje navodila, ki jim sledite v posameznih oknih na zavihku »Settings« (Nastavitve) ter tako konfigurirate nastavitve izvedbe s temi zahtevami:

- ▶ Za vklop storitve Illumina Proactive Support in središča BaseSpace Sequence Hub potrebujete internetno povezavo. Za BaseSpace Sequence Hub potrebujete tudi račun. Navodila za nastavev računa so na voljo v *Spletni pomoči za BaseSpace Sequence Hub (dokument št. 100000009008)*.
 - ▶ Za analiziranje podatkov v središču BaseSpace Sequence Hub, ko je sistem konfiguriran za ročni način, potrebujete vzorčni list. Podrobnosti najdete v razdelku *Zahteve za vzorčni list na strani 14*.
- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
 - 2 Izberite **Set Up Manually** (Ročna nastavitvev).
 - 3 Izberite, ali želite omogočiti storitev Illumina Proactive Support:
 - ▶ Če jo želite vklopiti, potrdite polje **Turn on Illumina Proactive Support** (Vklopi Illumina Proactive Support).
 - ▶ Če jo želite izklopiti, počistite potrditveno polje **Turn on Illumina Proactive Support** (Vklopi Illumina Proactive Support).

Storitev pošlje podatke o učinkovitosti delovanja instrumenta, kot sta temperatura in čas izvajanja, družbi Illumina. S temi podatki družba Illumina zazna morebitne napake in jih odpravi. Podatki o izvedbi niso poslani. Če želite več informacij, glejte *Tehnične podatke za storitev Illumina Proactive (dokument št. 1000000052503)*.
 - 4 Izberite **Next** (Naprej).
 - 5 Izberite, ali želite povezati izvedbe s središčem BaseSpace Sequence Hub:
 - ▶ Če želite povezati izvedbe, potrdite eno od teh potrditvenih polj:
 - ▶ **Turn on run monitoring from anywhere only** (Vklopi samo nadzor izvedbe kjer koli) – Omogočite nadzor na daljavo v središču BaseSpace Sequence Hub.
 - ▶ **Turn on run analysis, collaboration, and storage also** (Vklopi tudi analizo izvedbe, sodelovanje in shranjevanje) – Omogočite nadzor in analizo na daljavo v središču BaseSpace Sequence Hub.

- ▶ Če izvedb ne želite povezati, počistite potrditveni polji **Turn on run monitoring from anywhere only** (Vklopi samo nadzor izvedbe kjer koli) in **Turn on run analysis, collaboration, and storage also** (Vklopi tudi analizo izvedbe, sodelovanje in shranjevanje).

Ko ste povezani, programska oprema za nadzor pošlje datoteke InterOp in dnevniške datoteke v središče BaseSpace Sequence Hub. Podatke o izvedbi pošlje tudi možnosti za analizo izvedbe, sodelovanje in shranjevanje.

- Na seznamu »Set Region« (Nastavi regijo) izberite geografsko lokacijo, kjer se nahaja sistem oz. njemu najbližjo lokacijo.
Ta nastavitev zagotavlja, da se podatki shranjujejo na ustrezni lokaciji v središču BaseSpace Sequence Hub.
- Če imate naročnino za podjetja, v polje »Enter Private Domain« (Vnesi zasebno domeno) vnesite ime domene (URL), ki jo uporabljate za enkratno prijavo v središče BaseSpace Sequence Hub.
Na primer: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
- Izberite **Next** (Naprej).
- Izberite, ali želite integrirati programsko opremo za nadzor z načinom Local Run Manager:
 - ▶ Če želite ustvariti izvedbe in analizirati podatke v načinu Local Run Manager, izberite **Use Local Run Manager** (Uporabi način Local Run Manager).
 - ▶ Če želite ustvariti izvedbe v programski opremi za nadzor in analizirati podatke v drugi aplikaciji, izberite **Use Manual Mode** (Uporabi ročni način).V načinu Local Run Manager je potek dela najučinkovitejši, vendar to ni funkcija programske opreme za nadzor. Je integrirana programska oprema za snemanje vzorcev za sekvenciranje, ustvarjanje izvedb in analiziranje podatkov. Pred izvedbo sekvenciranja preberite *Navodila za programsko opremo Local Run Manager (dokument št. 1000000002702)*.
- Izberite **Next** (Naprej).
- Preglejte nastavitve. Če želite spremeniti nastavitve:
 - Izberite **Edit** (Uredi), da odprete nastavitve.
 - Po potrebi spremenite nastavitve in izberite **Next** (Naprej).
 - Izberite **Next** (Naprej), da se pomikate po morebitnih nadaljnjih oknih.Zelena kljukica v oknu »Settings Review« (Pregled nastavitvev) pomeni, da so nastavitve omogočene.
- Izberite **Save** (Shrani).
- Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Zahteve za vzorčni list

Ko sistem konfigurirate na ročni način in analizirate podatke v središču BaseSpace Sequence Hub, potrebujete za vsako izvedbo sekvenciranja vzorčni list. Vzorčni list ustvarite tako, da uredite *predlogo vzorčnega lista sistema iSeq 100 za ročni način* in jo nato uvozite v programsko opremo za nadzor med nastavitvijo izvedbe sekvenciranja. Po uvozu programska oprema samodejno preimenuje vzorčni list v SampleSheet.csv.

Prenesite predlogo vzorčnega lista, ki je na voljo na straneh s podporo za sistem za sekvenciranje iSeq 100: [Predloga vzorčnega lista za sistem iSeq 100 za ročni način](#).



OPOZORILO

Vnesite sekvence vmesnika »Index 2 (i5)« (Indeks 2 (i5)) ob upoštevanju ustrezne smeri za sistem za sekvenciranje iSeq 100. Za smer indeksa glejte *Sekvence vmesnika družbe Illumina (dokument št. 1000000002694)*.

Vzorčni list potrebujete tudi, če je sistem konfiguriran za način Local Run Manager. Local Run Manager za vas ustvari vzorčni list in ga shrani na ustrezno mesto. V vseh drugih primerih je vzorčni list izbiran.

Prilagoditev instrumenta

Poimenujte instrument in konfigurirajte nastavitve za zvok, sličice in posodobitve programske opreme na zavihku »Customization« (Prilagoditev) v razdelku »System Settings« (Nastavitve sistema).

Poimenovanje instrumenta

- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
- 2 Izberite zavihek »Customization« (Prilagoditev).
- 3 V polje »Instrument Nickname« (Vzdevek instrumenta) vnesite želeno ime instrumenta. Ime je prikazano na vrhu vsakega zaslona.
- 4 Izberite **Save** (Shrani).
- 5 Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Vklop ali izklop zvoka

- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
- 2 Izberite zavihek »Customization« (Prilagoditev).
- 3 Izberite, ali želite utišati sistem:
 - ▶ Če želite izklopiti zvok, izberite **Off** (Izklopi).
 - ▶ Če želite vklopiti zvok, izberite **On** (Vklopi).
- 4 Izberite **Save** (Shrani).
- 5 Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Shranjevanje sličic

- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
- 2 Izberite zavihek »Customization« (Prilagoditev).
- 3 Izberite, ali želite shraniti sličice:
 - ▶ Če želite shraniti vse sličice, potrdite polje **Save all thumbnail images** (Shrani vse sličice).
 - ▶ Če ne želite shraniti nobene sličice, počistite potrditveno polje **Save all thumbnail images** (Shrani vse sličice).

Če shranite sličice, boste lažje odpravili morebitne težave, velikost izvedbe pa bo le nekoliko večja. Vse sličice se privzeto shranjujejo.
- 4 Izberite **Save** (Shrani).
- 5 Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Konfiguracija posodobitev programske opreme

Sistem lahko samodejno preveri, ali so na voljo posodobitve programske opreme, in jih prenese za namestitve, lahko pa preverite tudi ročno. Če želite več informacij, glejte razdelek *Posodobitve programske opreme na strani 33*.

- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
- 2 Izberite zavihek »Customization« (Prilagoditev).
- 3 Izberite, ali želite, da sistem samodejno preveri posodobitve programske opreme:
 - ▶ Če želite omogočiti samodejno preverjanje, potrdite potrditveno polje **Autocheck for software updates** (Samodejno preveri posodobitve programske opreme).
 - ▶ Če želite omogočiti ročno preverjanje, počistite potrditveno polje **Autocheck for software updates** (Samodejno preveri posodobitve programske opreme).Za samodejno preverjanje potrebujete internetno povezavo.
- 4 Izberite **Save** (Shrani).
- 5 Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Nastavitev omrežja

Za uporabo sistema in prenos podatkov potrebujete le povezavo WiFi ali ethernetno povezavo s privzetimi nastavitvami omrežja. Teh nastavitev ni treba posodabljanjati, razen če ima vaša organizacija omrežne zahteve po meri. Če jih ima, se za pomoč pri spreminjanju privzetih nastavitev omrežja obrnite na strokovnjaka za IT.

Navodila za pripravo mesta za uporabo sistema za sekvenciranje iSeq 100 (dokument št. 100000035337) vključujejo smernice za nastavitve omrežja in varnosti računalnika za nadzor.

Določanje mesta mape z odčitki

Universal Copy Service kopira datoteke z odčitki sekvenciranja iz mape izvedbe v središče BaseSpace Sequence Hub (po potrebi) in mapo z odčitki, kjer si jih lahko ogledate.

Potrebujete mapo z odčitki, razen če je sistem konfiguriran tako, da se nadzor izvedbe, analiza in sodelovanje izvajajo v središču BaseSpace Sequence Hub. Če mesto mape z odčitki ni določeno, Universal Copy Service kopira datoteke v D:\SequencingRuns.

- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
- 2 Izberite zavihek »Network Access« (Omrežni dostop).
- 3 V polje »Output Folder« (Mapa z odčitki) vnesite privzeto mesto za mapo z odčitki ali izberite **Browse** (Prebrskaj), da se premaknete do želenega mesta.
 - ▶ **Notranji pogon** – Vnesite obstoječe mesto na pogonu D. Na pogonu C ni na voljo dovolj prostora.
 - ▶ **Zunanji pogon** – Vnesite mesto pogona USB, ki je povezan z instrumentom.
 - ▶ **Omrežno mesto** – Vnesite omrežno mesto.Privzeto mesto lahko spremenite za vsako izvedbo.
- 4 Nadaljujte, kot je opisano v nadaljevanju.
 - ▶ Če ste določili mesto notranjega ali zunanjega pogona, izberite **Save** (Shrani) in nato **Exit** (Izhod), da shranite mesto in zaprete okno »System Settings« (Nastavitve sistema).
 - ▶ Če ste določili omrežno mesto, izvedite korake 5–8, da povežete storitev Universal Copy Service z računom, s katerim lahko dostopate do določenega mesta.

- 5 V razdelku za Universal Copy Service izberite vrsto računa:
 - ▶ **Local System Account** (Račun lokalnega sistema) – Mapa z odčitki je v imeniku, do katerega lahko dostopate z lokalnim računom. Z lokalnim računom lahko dostopate do večine lokalnih mest.
 - ▶ **Network Account** (Omrežni račun) – Mapa z odčitki je v imeniku, za katerega potrebujete poverilnice za prijavo.

Ta nastavitve velja za privzeto mesto mape z odčitki in vse lokacije, ki ste jih določili med nastavitvijo izvedbe sekvenciranja.
- 6 Če izberete možnost »Network Account« (Omrežni račun), vnesite uporabniško ime in geslo za račun.
- 7 Izberite **Save** (Shrani).
- 8 Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Vzpostavitev povezav z internetom

Konfigurirajte povezavo WiFi ali ethernetno povezavo v nastavitvah omrežja sistema Windows in interneta, ki jih lahko odprete v programski opremi za nadzor. Privzeta ethernetna povezava zagotavlja zanesljivejši prenos podatkov.

- 1 V meniju programske opreme za nadzor izberite **System Settings** (Nastavitve sistema).
- 2 Izberite zavihek »Network Access« (Omrežni dostop).
- 3 Izberite **Network Configuration** (Konfiguracija omrežja), da minimirate programsko opremo za nadzor in odprete nastavitve omrežja sistema Windows in interneta.
- 4 Konfigurirajte WiFi ali ethernetno povezavo.
 - ▶ Če konfigurirate WiFi, spremenite možnost vmesnika na **Wi-Fi**.
 - ▶ Podrobna navodila za konfiguracijo si lahko ogledate na Microsoftovem spletnem mestu v razdelku s pomočjo za Windows 10.
- 5 Ko je konfiguracija končana, zaprite nastavitve sistema Windows in maksimirajte programsko opremo za nadzor.
- 6 Na zavihku »Network Access« (Omrežni dostop) izberite **Save** (Shrani).
- 7 Če želite zapreti okno »System Settings« (Nastavitve sistema), izberite **Exit** (Izhod).

Vzpostavljanje povezave s strežnikom proxy

- 1 Minimirajte programsko opremo za nadzor.
- 2 Na začetnem zaslonu sistema Windows odprite pogovorno okno »Run« (Zagon).
- 3 Vnesite **cmd**, nato pa izberite **OK** (V redu).
- 4 Vnesite ta ukaz:

```
C:\windows\System32\bitsadmin.exe /Util /SetIEProxy LocalSystem Manual_proxy http://<proxyserver>:<proxy port> NULL
```
- 5 Zamenjajte `http://<proxyserver>:<proxy port>` z naslovom strežnika proxy in vrati strežnika proxy ter vrednost `NULL` z morebitnimi obhodi.
- 6 Pritisnite tipko Enter, da zaženete ukaz.
- 7 Znova zaženite instrument. Navodila so na voljo v razdelku *Ponovni zagon instrumenta na strani 48*.

Potrošni material in oprema, ki jih dobavi uporabnik

Za sekvenciranje, vzdrževanje sistema in odpravljanje težav se uporabljata spodaj navedeni potrošni material in oprema, ki jo dobavi uporabnik.

Potrošni material za sekvenciranje

| Potrošni material | Dobavitelj | Namen |
|---|---|--|
| Rokavice za enkratno uporabo brez prahu | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Splošni namen |
| Reagent i1 za iSeq 100 | llumina, katalog št.: • 20021533 (ena) • 20021534 (paket štirih) | Zagotavlja reagente in pretočno celico za izvedbo. |
| Mikroeprovete, 1,5 ml | Fisher Scientific, kataloška št. 14-222-158 ali enakovredne epruvete z nizko vezavo | Redčenje knjižnic do koncentracije ob vstavljanju. |
| Papirnate brisače | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Sušenje kasete po vodni kopeli. |
| Konice za pipete, 20 µl | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Redčenje in vstavljanje knjižnic. |
| Konice za pipete, 100 µl | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Redčenje in vstavljanje knjižnic. |
| Pufer za resuspendiranje (RSB, Resuspension Buffer) | llumina, dobavljen s kompleti za pripravo knjižnic | Redčenje knjižnic do koncentracije ob vstavljanju. |
| [Izbimo] 10 mM Tris-HCl, pH 8,5 | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Substituent za RSB za redčenje knjižnice do koncentracije za nanos. |
| [Izbimo] PhiX Control v3 | llumina, katalog št. FC-110-3001 | Izvajanje sekvenciranja le s kontrolnikom PhiX ali dodajanje v genomu PhiX za kontrolno uporabo. |

Potrošni material za vzdrževanje in odpravljanje napak

| Potrošni material | Dobavitelj | Namen |
|--|--|---|
| Blazinice z belilom, 10 % | WWR, katalog št. 16200-218 ali enakovreden | Dekontaminacija instrumenta in čiščenje delovnih površin. |
| Rokavice za enkratno uporabo brez prahu | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Splošni namen |
| Dodatna blazinica posode za zbiranje tekoči i1 sistema iSeq 100 ¹ | llumina, katalog št. 20023927 | Obložitev posode za zbiranje tekočin za vpijanje morebitnih tekočin, ki odteka. |
| Dodatni zračni filter i1 sistema iSeq 100 ¹ | llumina, katalog št. 20023928 | Zamenjava zračnega filtra vsakih šest mesecev. |
| Komplet za testiranje za sistem iSeq 100 ² | llumina, katalog št. 20024141 | Izvajanje postopka preverjanja sistema. |
| Zloženci, prepojeni z izopropilnim alkoholom, 70 % | WWR, katalog št. 95041-714 ali enakovreden | Čiščenje instrumenta in testne pretočne celice za večkratno uporabo. |

| Potrošni material | Dobavitelj | Namen |
|--|---|---|
| Čistilna krpica, ki ne pušča nitk | VWR, katalog št. 21905-026 ali enakovreden | Brisanje posode za zbiranje tekočine in testne pretočne celice za večkratno uporabo. |
| Papirnate brisače | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Brisanje tekočin okoli instrumenta. |
| [Izbimo] Raztopina belila, 10 % | VWR, katalog št. 16003-740 (32 oz), 16003-742 (16 oz) ali enakovreden | Čiščenje delovnih površin po dekontaminaciji. |
| [Izbimo] zloženci, prepojeni z etanolom, 70 % | Fisher Scientific, katalog št. 19-037-876 ali enakovreden | Nadomestni zloženci, prepojeni z izopropilnim alkoholom za čiščenje instrumenta in testne pretočne celice za večkratno uporabo. |

¹ Instrument je dostavljen z eno priloženo in eno dodatno. Če instrument ni pod garancijo, nadomestne izdelke dobi uporabnik. Shranite zapakirano do uporabe.

² Zamenja testno opremo za večkratno uporabo, priloženo instrumentu, ko ta poteče po 5 letih ali 36 uporabah.

Oprema

| Element | Vir | Namen |
|--------------------------------|---|--|
| Zamrzovalnik, od -25 do -15 °C | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Shranjevanje kasete |
| Posoda za led | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Dajanje knjižnice na stran. |
| Pipeta, 10 µl | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Redčenje knjižnic do koncentracije ob vstavljanju. |
| Pipeta, 20 µl | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Redčenje knjižnic do koncentracije ob vstavljanju. |
| Pipeta, 100 µl | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Redčenje knjižnic do koncentracije ob vstavljanju. |
| Hladilnik, od 2 do 8 °C | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Shranjevanje pretočne celice |
| [Izbimo] Tipkovnica | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Nadomeščanje zaslonske tipkovnice. |
| [Izbimo] Miška | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Nadomeščanje vmesnika za zaslon na dotik. |
| [Izbimo] Vodna kopel | Dobavitelj običajne laboratorijske opreme | Odmrzovanje kartuše. |

Poglavje 3 Sekvenciranje

| | |
|--|----|
| Uvod | 20 |
| Odmrzovanje kartuše v vrečki | 21 |
| Priprava pretočne celice in knjižnic | 22 |
| Vstavljanje potrošnega materiala v kartušo | 24 |
| Nastavitev izvedbe sekvenciranja (Local Run Manager) | 26 |
| Nastavljanje izvedbe sekvenciranja (ročni način) | 29 |

Uvod

Sekvenciranje v sistemu za sekvenciranje iSeq 100 vključuje generiranje gruče, sekvenciranje in analizo. Vsak korak se samodejno izvede med postopkom sekvenciranja. Ko je postopek sekvenciranja dokončan, se lahko izvede dodatna analiza izven instrumenta, odvisno od konfiguracije sistema.

- ▶ **Generiranje gruče** – Knjižnica se samodejno denaturira v posamezne verige, redčenje pa se nadaljuje v instrumentu. Med generiranjem gruče se posamezne molekule DNK vežejo na površino pretočne celice in s pomnožitvijo ustvarijo gruče.
- ▶ **Sekvenciranje** – Slika gruč je zajeta z enobarvno kemično mešanico; ta kodira podatke za vse štiri nukleotide, in sicer z eno fluorescentno oznako in dvema cikloma zajemanja slik. Prvi cikel zajemanja slike zazna adenin (A) in timin (T). Nato cikel kemične mešanice izlušči barvilo iz A in hkrati doda podobno barvilo v citozin (C). Drugi cikel zajemanja slike zazna C in T. Po drugem ciklu zajemanja slike programska oprema Real-Time Analysis izvede dodelitev baze, filtriranje in oceno kakovosti. Ta postopek se ponovi za vsak cikel sekvenciranja. Več informacij o enobarvni kemični mešanici je na voljo v razdelku [Dodelitev baze na strani 44](#).
- ▶ **Analiza** – Med napredovanjem izvajanja programska oprema za nadzor samodejno prenese datoteke za dodelitev baze (*.bcl) v določeno mapo z odčitki za analizo podatkov. Način analize podatkov je odvisen od konfiguracije aplikacije in sistema.

Volumen in koncentracija ob vstavljanju

Volumen ob vstavljanju je 20 µl. Koncentracija ob vstavljanju je odvisna od vrste knjižnice.

| Vrsta knjižnice | Koncentracija ob vstavljanju (pM) |
|------------------------------------|-----------------------------------|
| 100 % PhiX | 60 |
| AmpliSeq Library PLUS for Illumina | 50 |
| Nextera DNA Flex | 200 |
| Nextera Flex for Enrichment | 100 |
| TruSeq DNA Nano | 100 |
| TruSeq DNA PCR-Free | 100 |

Za druge vrste knjižnic družba Illumina priporoča začetno koncentracijo ob vstavljanju 50 pM. Optimizirajte koncentracijo v naslednjih izvajanjih sekvenciranja, da določite koncentracijo ob vstavljanju, ki zagotavlja dosleden donos v skladu s specifikacijami.

Previsoke ali prenizke koncentracije ob vstavljanju lahko povzročijo gručenje in metrike izvedbe, ki niso optimalne. Če želite več informacij, glejte *Navodila za pregled optimiziranja gruče (dokument št. 1000000071511)*.

Priporočeno število ciklov

Kakovost podatkov je zagotovljena, če za vsako odčitavanje vnesete najmanj 26 ciklov in največ 151 ciklov. Natančno število ciklov je odvisno od posameznega eksperimenta.

Najmanjše in največje število ciklov vključujeta tudi dodatni cikel. Želeni dolžini odčitavanja vedno dodajte še en cikel, s katerim popravite učinke faziranja in predfaziranja. Dolžina odčitavanja je število ciklov **sekvenciranja** v odčitavanju 1 in odčitavanju 2, vendar brez dodatnih in indeksnih ciklov.

Primer nastavitve izvedbe:

- ▶ Če je dolžina odčitavanja 36 (eno odčitavanje), v polje »Read 1« (Odčitavanje 1) vnesite **37**.
- ▶ Če je dolžina odčitavanja 150 na odčitavanje (odčitavanje v paru), v polje »Read 1« (Odčitavanje 1) vnesite **151** in v polje »Read 2« (Odčitavanje 2) vnesite **151**.

Najboljše prakse

- ▶ Pri delu z reagenti in drugimi kemikalijami uporabljajte zaščitna očala, laboratorijsko haljo in rokavice brez prahu. V skladu z navodili zamenjajte rokavice, da preprečite navzkrižno kontaminacijo.
- ▶ Pred začetkom protokola se prepričajte, da imate pripravljen potreben potrošni material in opremo. Glejte *Potrošni material in oprema, ki jih dobavi uporabnik na strani 18*.
- ▶ Protokole izvajajte v prikazanem vrstnem redu ter pri tem uporabite določene volumne, upoštevajte navedene temperature in obdobja trajanja.
- ▶ Če zaustavitvena točka ni določena, takoj nadaljujte z naslednjim korakom.

Odmrzovanje kartuše v vrečki

- 1 Preden kartušo odmrznete v vodni kopeli, naj bo kartuša shranjena vsaj en dan na temperaturi od $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
Vodna kopel je najhitrejši od treh razpoložljivih načinov odmrzovanja, ki so opisani v koraku 5.



OPOZORILO

Če kartušo odmrznete v vodni kopeli takoj po odpremi, ko je bila shranjena na suhem ledu, lahko negativno vplivate na učinkovitost delovanja kartuše.

- 2 Nadenite si nov par rokavic brez prahu.
- 3 Kartušo prestavite s temperature $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ na temperaturo $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 4 Če je kartuša shranjena v škatli, jo vzemite iz škatle, vendar **ne odprite bele vrečke**.



- 5 Kartušo v vrečki odmrznite na enega od teh načinov. Kartušo uporabite takoj po odmrznitvi; ne smete je zamrzniti nazaj ali kakor koli drugače shraniti.

| Način | Čas odmrzovanja | Navodilo |
|------------------------------------|-------------------------|--|
| Vodna kopel med 20 in 25 °C | 6 ur, ne več kot 18 ur | <ul style="list-style-type: none"> • Uporabite 6 l (1,5 galona) vode na kartušo. • Pripravite vodno kopel z nadzorom temperature do 25 °C ali zmešajte vročo in hladno vodo, da dosežete temperaturo od 20 do 25 °C. • Nalepko na vrečki obrnite navzgor in v celoti potopite kartušo ter jo obtežite z ~2 kg (4,5 lbs), da ne priplava na površje. • Kartuš ne zlagajte v vodno kopel ene na drugo, razen če uporabljate vodno kopel z nadzorom temperature. |
| Hladilnik od 2 do 8 °C | 36 ur, ne več kot 72 ur | Kartušo položite tako, da je nalepka obrnjena navzgor in da zrak lahko kroži z vseh strani, tudi od spodaj. |
| Sobna temperatura (od 20 do 25 °C) | 9 ur, ne več kot 18 ur | Kartušo položite tako, da je nalepka obrnjena navzgor in da zrak lahko kroži z vseh strani, tudi od spodaj. |

- 6 Če je vrečka s kartušo mokra od vodne kopeli, jo obrišite s papirnatimi brisačami.

Priprava pretočne celice in knjižnic

Preden vstavite pretočno celico in knjižnice v kartušo, segrejte pretočno celico na sobno temperaturo, razredčite knjižnice in po potrebi izvedite spajanje kontrolnika PhiX v genom. Knjižnice se samodejno denaturirajo, ko so v instrumentu.

Ta navodila za redčenje veljajo za podprte knjižnice družbe Illumina z dvema verigama. Vedno opravite analizo nadzora kakovosti, optimizirajte koncentracijo ob vstavljanju za svojo knjižnico in uporabite način normalizacije, ki ustvari knjižnice z dvema verigama. Normalizacija na osnovi kroglic, ki ustvari knjižnice z enojo verigo, ni združljiva z denaturiranjem v instrumentu.

Redčenje knjižnice do koncentracije 1 nM

- 1 Pretočne celice pripravite tako, da upoštevate ta postopek.
 - a Novo pretočno celico vzemite iz hladilnika, kjer je bila shranjena (pri temperaturi med 2 °C in 8 °C).
 - b Neodprto embalažo s celico pustite stati na sobni temperaturi približno 10 do 15 minut, da preprečite kondenzacijo.

Če zdaj pripravite pretočno celico, poskrbite, da bo pravočasno dosegla sobno temperaturo.
- 2 Vzemite pufer za resuspendiranje (RSB) iz shrambe pri temperaturi od –25 do –15 °C. Namesto pufera za resuspendiranje (RSB) lahko uporabite 10 mM Tris-HCl, pH 8,5.
- 3 **[Izbirno]** Prestavite 10 nM kontrolnika PhiX s temperature –25 °C na temperaturo –15 °C. Kontrolnik PhiX potrebujete le za izbirno spajanje v genom ali za izvedbo sekvenciranja le s kontrolnikom PhiX.
- 4 Odmrzujte RSB in izbirni PhiX pri sobni temperaturi 10 minut.

- 5 Ob uporabi RSB-ja kot razredčila pripravite ustrezno količino knjižnice s koncentracijo 1 nM v mikroeprevetah z *nizko vezavo*:

| Vrsta knjižnice | Priprava knjižnice s koncentracijo 1 nM (µl) |
|--|--|
| 100 % PhiX (le za izvajanje sekvenciranja s kontrolnikom PhiX) | 8 |
| AmpliSeq Library PLUS for Illumina | 7 |
| Nextera DNA Flex | 25 |
| Nextera Flex for Enrichment | 12 |
| TruSeq DNA Nano | 12 |
| TruSeq DNA PCR-Free | 12 |

Redčenje knjižnic v mikroeprevetah z nizko vezavo je ključno za doseganje uspešnega sekvenciranja.

- 6 Na kratko postavite v vrtnični mešalnik, nato pa 1 minuto centrifugirajte pri 280 × g.
7 **[Izbirno]** Shranjujte 1 nM knjižnice pri temperaturi od –25 do –15 °C do 1 meseca.

Redčenje knjižnice s koncentracijo 1 nM do koncentracije ob vstavljanju

- 1 Kombinirajte te volumne v mikroepreveti z nizko vezavo in pripravite 100 µl knjižnice, razredčene do ustrezne koncentracije pri vstavljanju:

| Vrsta knjižnice* | Koncentracija ob vstavljanju (pM) | Volumen knjižnice s koncentracijo 1 nM (µl) | Volumen RSB-ja (µl) |
|------------------------------------|-----------------------------------|---|---------------------|
| 100 % PhiX | 60 | 6 | 94 |
| AmpliSeq Library PLUS for Illumina | 50 | 5 | 95 |
| Nextera DNA Flex | 200 | 20 | 80 |
| Nextera Flex for Enrichment | 100 | 10 | 90 |
| TruSeq DNA Nano | 100 | 10 | 90 |
| TruSeq DNA PCR-Free | 100 | 10 | 90 |

* Če imate nenavedene vrste knjižnic, vključno z drugimi knjižnicami Nextera, začnite s koncentracijo ob vstavljanju 50 pM in jo optimizirajte v nadaljnjih izvajanjih sekvenciranja.

V tej tabeli so navedene vzorčne koncentracije ob vstavljanju. Sistem iSeq 100 je združljiv z vsemi paketi za pripravo knjižnic družbe Illumina, razen s paketom SureCell WTA 3', vendar se optimalna koncentracija ob vstavljanju lahko razlikuje.

- 2 Na kratko postavite v vrtnični mešalnik, nato pa 1 minuto centrifugirajte pri 280 × g.
3 Razredčeno knjižnico postavite na stran na led za sekvenciranje.
Razredčene knjižnice sekvencirajte do koncentracije ob vstavljanju istega dne, ko je bila razredčena.
4 Če **ne** dodate kontrolnika PhiX ali izvajate sekvenciranja le s kontrolnikom PhiX, preskočite naslednji razdelek in nadaljujte z razdelkom *Vstavljanje potrošnega materiala v kartušo na strani 24*.

Dodajanje kontrolnika PhiX Control (izbirno)

PhiX je majhna knjižnica družbe Illumina, primerna za takojšnjo uporabo, z uravnoteženo reprezentacijo nukleotida. Z dodajanjem 2 % spajanja kontrolnika PhiX v genom v knjižnico pridobite dodatno merjenje. Če želite povečati raznolikost osnove za knjižnice z nizko raznolikostjo, je priporočeno 5 % spajanje v genom.

**OPOMBA**

Spajanje v genom, ki znaša 1 %, je sicer učinkovito za zagotavljanje dodatnega merjenja, vendar je zaradi tega pipetiranje težavno.

- 1 V mikroepreveti z nizko vezavo kombinirajte te volumne in pripravite 50 µl kontrolnika PhiX s koncentracijo 1 nM:
 - ▶ Kontrolnik PhiX (5 µl) s koncentracijo 10 nM
 - ▶ RSB (45 µl)
- 2 Na kratko postavite v vrtnični mešalnik, nato pa 1 minuto centrifugirajte pri 280 × g.
- 3 **[Izbirno]** Shranjujte kontrolnik PhiX s koncentracijo 1 nM pri temperaturi od –25 °C do –15 °C do enega meseca.
- 4 V mikroepreveti z nizko vezavo kombinirajte te volumne za redčenje kontrolnika PhiX do enake koncentracije ob vstavljanju, kot jo ima knjižnica, na primer:

| Koncentracija ob vstavljanju kontrolnika PhiX (pM) | Volumen kontrolnika PhiX s koncentracijo 1 nM (µl) | Volumen RSB-ja (µl) |
|--|--|---------------------|
| 50 | 5 | 95 |
| 100 | 10 | 90 |
| 200 | 20 | 80 |

- 5 Kombinirajte kontrolnik PhiX in knjižnico:
 - ▶ Za 2 % spajanje v genom, dodajte 2 µl razredčenega kontrolnika PhiX v 100 µl razredčene knjižnice.
 - ▶ Za 5% spajanje v genom, dodajte 5 µl razredčenega kontrolnika PhiX v 100 µl razredčene knjižnice.
 Dejanski odstotek kontrolnika PhiX se razlikuje glede na kakovost in količino knjižnice.
- 6 Na kratko postavite v vrtnični mešalnik, nato pa 1 minuto centrifugirajte pri 280 × g.
- 7 Knjižnico s spajanjem kontrolnika PhiX v genom postavite na led.

Vstavljanje potrošnega materiala v kartušo

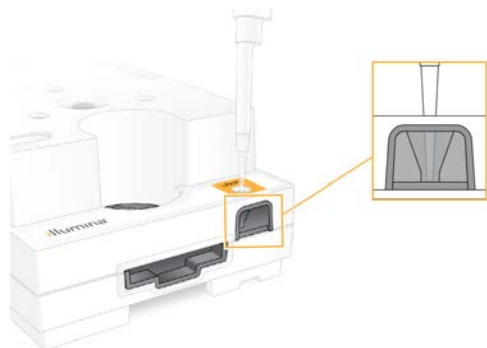
- 1 **[Izbirno]** Če si želite ogledati videoposnetek z navodili za pripravo in vstavljanje kartuše, izberite **Sequence** (Sekvenciranje).
- 2 Odprite vrečko s kartušo, kjer so zareze.
- 3 Ne dotikajte se okna za dostop na vrhu kartuše in odstranite kartušo z vrečke. Zavržite vrečko.
- 4 Kartušo petkrat obrnite, da se reagenti premešajo.
Med obračanjem boste morda slišali notranje komponente, kar je normalno.
- 5 Kartušo rahlo udarite (oznaka naj bo obrnjena navzgor) po mizi ali drugi trdi površini petkrat, da se reagent aspirira.

Vstavljanje knjižnice

- 1 S konico nove pipete preluknjajte rezervoar knjižnice in potisnite folijo proti robu, da povečate odprtino.



- 2 Zavrzite konico pipete, da preprečite kontaminacijo.
- 3 Dodajte 20 µl razredčene knjižnice na **dno** rezervoarja. Pri tem se ne dotikajte folije.



Vstavljanje pretočne celice

- 1 Odprite embalažo, tako da povlečete zarez na beli vrečki. Celico uporabite v roku 24 ur po odprtju.
- 2 Povlecite pretočno celico iz embalaže.
Ko rokuje s pretočno celico, se dotikajte le plastičnih delov. Ne dotikajte se električnega vmesnika, senzorja CMOS, stekla in tesnil na kateri koli strani stekla.



- 3 Pretočno celico držite za držalo, pri tem naj bo nalepka obrnjena navzgor.
- 4 Pretočno celico vstavite v režo na sprednji strani kartuše.
Ko zaslišite klik, je pretočna celica na svojem mestu. Ko je celica na pravem mestu, držalo gleda iz kartuše, v oknu za dostop pa je vidno steklo.



- A Vstavljanje pretočne celice
B Vstavljena pretočna celica

- 5 Embalažo odvrzite po spodnjih navodilih.
 - a Iz ovoja iz folije vzemite škatlo na preklop.
 - b Iz škatle na preklop odstranite vrečko s kremenom.
 - c Škatlo na preklop reciklirajte, folijo in kremen pa vrzite v smeti.
- 6 Nadaljnji postopki so odvisni od tega, ali je sistem integriran z načinom Local Run Manager:
 - ▶ Če uporabljate način Local Run Manager, sledite navodilom *Nastavitev izvedbe sekvenciranja (Local Run Manager) na strani 26*.
 - ▶ Če ne uporabljate načina Local Run Manager, sledite navodilom *Nastavljanje izvedbe sekvenciranja (ročni način) na strani 29*.

Nastavitev izvedbe sekvenciranja (Local Run Manager)

Če želite nastaviti izvedbo z orodjem Local Run Manager, morate ustvariti in shraniti izvedbo v orodju Local Run Manager, nato pa v programski opremi za nadzor vnesti potrošni material in izbrati izvedbo. Podatki so shranjeni v določeno mapo z odčitki za analizo, ki jo Local Run Manager samodejno izvede po dokončanju izvedbe.

- 1 Lokalno odprite programsko opremo Local Run Manager na monitorju instrumenta ali oddaljeno v drugem računalniku:

| Dostop | Odpiranje programske opreme Local Run Manager |
|------------------|---|
| Lokalno | V meniju programske opreme za nadzor izberite Local Run Manager , nato pa izberite Open Local Run Manager (Odpri Local Run Manager). |
| Oddaljeno | V meniju programske opreme za nadzor izberite About (Vizitka), da pridobite naslov IP sistema. V računalniku, ki je povezan z istim omrežjem kot instrument, odprite programsko opremo Local Run Manager v brskalniku Chromium. Povežite se z naslovom IP sistema. |

- 2 Če je na monitorju instrumenta prikazan prazen brskalnik Chromium, znova zaženite instrument in nastavitev izvedbe sekvenciranja. Navodila so na voljo v razdelku *Ponovni zagon instrumenta na strani 48*.
- 3 V programski opremi Local Run Manager ustvarite izvedbo in jo shranite.
 - ▶ Oglejte se navodila v dokumentu *Navodila za programsko opremo Local Run Manager (dokument št. 1000000002702)*.
 - ▶ Nastavite izvedbo sekvenciranja z enim kontrolnikom PhiX tako, da ne bo indeksirana. Local Run Manager samodejno pošlje shranjene izvedbe sekvenciranja v programsko opremo za nadzor.
- 4 V programski opremi za nadzor izberite **Sequence** (Sekvenca). Programska oprema delno odpre vrata, izvrže pladenj in inicializira niz zaslonov za nastavitve.
- 5 **[Izbirno]** Izberite **Help** (Pomoč), da prikažete zaslonki poziv. Pozivi s pomočjo so prikazani na posameznih zaslonih in nudijo dodatna navodila.

Vstavljanje kartuše v instrument

- 1 Prepričajte se, da je kartuša odmrznjena in vsebuje pretočno celico in razredčeno knjižnico.

- Postavite kartušo na pladenj, da je okno za dostop obrnjeno navzgor in je pretočna celica znotraj instrumenta. Kartuše ali pladnja ne porivajte v instrument.



- Izberite **Close Door** (Zapri vrata), da instrument povleče kartušo in zapre vrata. Na levi strani zaslona se prikaže podokno z informacijami o skeniranem potrošnem materialu.

Vpis v središče BaseSpace Sequence Hub

Okno središča BaseSpace Sequence Hub se prikaže, ko je sistem konfiguriran za »Run Monitoring« (Nadzor izvedbe) ali »Run Monitoring and Storage« (Nadzor in shranjevanje izvedbe).

- Če trenutne izvedbe ne želite povezati s središčem BaseSpace Sequence Hub, izberite **Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In** (Preskoči vpis v BaseSpace Sequence Hub). Podatki o učinkovitosti delovanja instrumenta bodo še vedno poslani družbi Illumina.
- Če želite spremeniti povezavo za trenutno izvedbo, izberite možnost konfiguracije:
 - ▶ **Run Monitoring Only** (Le nadzor izvedbe) – V središče BaseSpace Sequence Hub so poslani le datoteke InterOp, s čimer je omogočeno izvajanje nadzora na daljavo.
 - ▶ **Run Monitoring and Storage** (Nadzor in shranjevanje izvedbe) – V središče BaseSpace Sequence Hub so poslani podatki o izvedbi, s čimer sta omogočena nadzor in analiza na daljavo.
- Vnesite svoje poverilnice za BaseSpace Sequence Hub (e-poštni naslov in geslo), nato pa izberite **Sign In** (Vpis).
- Če se prikaže seznam »Available Workgroups« (Razpoložljive delovne skupine), izberite delovno skupino, v katero želite prenesti podatke. Seznam se prikaže, če pripadate več delovnim skupinam.
- Izberite **Run Setup** (Nastavitev izvedbe).

Izbiranje izvedbe sekvenciranja

- Če se prikaže okno za prijavo v orodju Local Run Manager, vnesite svoje uporabniško ime in geslo ter izberite **Log In** (Prijava). Okno se prikaže, ko orodje Local Run Manager nastavite tako, da zahteva prijavo. Privzeto se vam ni treba vpisati.
- Izberite izvedbo na seznamu »Run Name« (Ime izvedbe), kjer so navedene izvedbe, shranjene v orodju Local Run Manager.
 - ▶ Če si želite ogledati posodobljen seznam, izberite **Refresh** (Osveži).
 - ▶ Če je seznam prazen, izberite **Open Local Run Manager** (Odpri Local Run Manager), da ustvarite izvedbo.Če izberete možnost »Open Local Run Manager« (Odpri Local Run Manager), minimirate programsko opremo za nadzor in odprete Local Run Manager v brskalniku Chromium.

- 3 Če ste zaprli programsko opremo za nadzor, da bi ustvarili izvedbo, se vrnite in izberite izvedbo. Kliknite **Refresh** (Osveži), da si ogledate posodobljeni seznam.
- 4 **[Izbirno]** Izberite **Edit** (Uredi) in spremenite parametre izvedbe:
 - a Če želite spremeniti možnost »Read Type« (Vrsta odčitavanja), izberite **Single Read** (Eno odčitavanje) ali **Paired End** (Odčitavanje v paru).
 - b Če želite spremeniti možnost »Read Cycle« (Cikel odčitavanja), vnesite **26–151** ciklov za »Read 1« (Odčitavanje 1) in »Read 2« (Odčitavanje 2). Dodajte en cikel zelenemu številu ciklov.
 - c Če želite spremeniti mapo z odčitki za trenutno izvedbo, vnesite pot za mesto ali pa izberite **Browse** (Prebrskaj) in ga poiščite.
 - d Izberite **Save** (Shrani), da posodobite izvedbo v programski opremi za nadzor in orodju Local Run Manager.
- 5 Izberite **Start Run** (Začni izvedbo), da zaženete postopek preverjanja pred izvedbo sekvenciranja.

Pregled postopkov preverjanja pred izvedbo sekvenciranja

Med preverjanji pred izvedbo sekvenciranja sta preverjanje instrumenta in preverjanje pretoka. Pri preverjanju pretoka instrument preluknja pečate na kartuši in spusti reagent skozi pretočno celico; zato potrošnih materialov ni mogoče znova uporabiti, ko se izvede preverjanje pretoka.

- 1 Preverjanja pred izvedbo sekvenciranja potekajo približno 15 minut.
Ko so postopki uspešno zaključeni, se izvedba sekvenciranja samodejno začne. Če zvok v sistemu ni izklopljen, zvočni signal naznani začetek izvedbe sekvenciranja.



OPOZORILO

Če odpirate vrata med preverjanjem pred izvedbo ali med samo izvedbo sekvenciranja, izvedba morda ne bo uspela.

- 2 Če pride do napake med preverjanjem instrumenta, izberite **Retry** (Poskusi znova), da ponovite preverjanje.
Preverjanje instrumenta se izvede pred preverjanjem pretoka. Ko poteka preverjanje, je v njegovi vrstici prikazana animacija.
- 3 Če se napaka ponovi, glejte razdelek *Odpravljanje sporočil o napakah na strani 47*, da jo odpravite.

Nadzorovanje napredka izvedbe

- 1 Napredek in metriko izvedbe lahko spremljate, ko se prikaže na zaslonu za sekvenciranje po ciklu 26.

| Metrika | Opis |
|---|---|
| %Q30 Read 1 (%Q30 Odčitavanje 1) | Odstotek dodelitev baze pri Odčitavanju 1 z oceno kakovosti (Q-score) ≥ 30 . |
| %Q30 Read 2 (%Q30 Odčitavanje 2) | Odstotek dodelitev baze pri Odčitavanju 2 z oceno kakovosti (Q-score) ≥ 30 . |
| %Clusters PF (%Gruč PF) | Odstotek gruč, ki so uspešno filtrirane. |
| %Occupancy (%Polnosti) | Odstotek vdolbinic na površini pretočnih celic, ki vsebuje gruč. |
| Projected Total Yield (Projiciran skupni donos) | Pričakovano število baz, ki bodo dodeljene za izvedbo. |

- 2 Če želite spremljati kopiranje datotek in druge postopke izvedb, izberite meni programske opreme za nadzor, nato pa izberite **Process Management** (Upravljanje postopka).

Odstranjevanje potrošnega materiala

- 1 Ko je sekvenciranje dokončano, izberite **Eject Cartridge** (Izvrzi kartušo). Programska oprema iz instrumenta izvrše uporabljen kartušo.
- 2 Odstranite kartušo s pladnja.
- 3 Vzemite pretočno celico iz kartuše.
- 4 Pretočno celico, ki vključuje elektronske sestavne dele, zavržite v skladu z veljavnimi standardi, ki veljajo v vaši regiji.
- 5 Kartušo, ki vključuje reagente, zavržite v skladu z veljavnimi standardi, ki veljajo v vaši regiji. Izpiranje po sekvenciranju ni potrebno, saj tekočine odstranite skupaj s kartušo.



OPOZORILO

Ta nabor reagentov vsebuje kemikalije, ki so lahko nevarne. Do telesnih poškodb lahko pride zaradi vdihavanja, zaužitja, stika s kožo in z očmi. Uporabljajte zaščitno opremo, vključno z zaščito za oči, rokavicami in laboratorijsko haljo, glede na tveganje izpostavljenosti. Uporabljene reagente obravnavajte kot kemične odpadke in jih zavržite v skladu z veljavnimi regijskimi, nacionalnimi in lokalnimi zakoni in uredbami. Če želite dodatne informacije o varovanju okolja in zdravja ter zagotavljanju varnosti, glejte »SDS« na spletnem mestu support.illumina.com/sds.html.

- 6 Izberite **Close Door** (Zapri vrata), da znova naložite pladenj in se vrnete na začetni zaslon. Programska oprema samodejno znova zapre pladenj in senzorji potrdijo odstranitev kartuše.

Nastavljanje izvedbe sekvenciranja (ročni način)

Če želite nastaviti izvedbo v ročnem načinu, morate določiti parametre izvedbe sekvenciranja v programski opremi za nadzor in izvesti analizo izven instrumenta z aplikacijo po lastni izbiri. Programska oprema shrani podatke v določeno mapo z odčitki za analizo. Če želite ustvariti datoteke FASTQ, morate izvesti dodaten korak.

- 1 Če sistem konfigurirate tako, da se analiza izvedbe, sodelovanje in shranjevanje izvajajo v središču BaseSpace Sequence Hub, ustvarite vzorčni list za izvedbo:
 - a Prenesite *predlogo vzorčnega lista sistema iSeq 100 za ročni način*, ki je na voljo na [straneh s podporo za sistem za sekvenciranje iSeq 100](#).
 - b Po potrebi spremenite predlogo in jo shranite v obliki zapisa datoteke CSV. Zagotovite te dejavnike:
 - ▶ Sekvence vmesnika »Index 2 (i5)« (Indeks 2 (i5)) morajo upoštevati ustrezno smer. Za smeri vstavljanja glejte *Sekvence vmesnika družbe Illumina (dokument št. 100000002694)*.
 - ▶ Vrednosti vzorčnega lista morajo ustrezati vrednostim programske opreme za nadzor. V polje »Read 1« (Odčitavanje 1) vnesite na primer 151, tako v okno vzorčnega lista kot tudi v okno »Run Setup« (Nastavitev sekvenciranja).
- 2 V programski opremi za nadzor izberite **Sequence** (Sekvenca). Programska oprema delno odpre vrata, izvrše pladenj in inicializira niz zaslonov za nastavitve.
- 3 **[Izbirno]** Izberite **Help** (Pomoč), da prikažete zaslonki poziv. Pozivi s pomočjo so prikazani na posameznih zaslonih in nudijo dodatna navodila.

Vstavljanje kartuše v instrument

- 1 Prepričajte se, da je kartuša odmrznjena in vsebuje pretočno celico in razredčeno knjižnico.

- Postavite kartušo na pladenj, da je okno za dostop obrnjeno navzgor in je pretočna celica znotraj instrumenta. Kartuše ali pladnja ne porivajte v instrument.



- Izberite **Close Door** (Zapri vrata), da instrument povleče kartušo in zapre vrata. Na levi strani zaslona se prikaže podokno z informacijami o skeniranem potrošnem materialu.

Vpis v središče BaseSpace Sequence Hub

Okno središča BaseSpace Sequence Hub se prikaže, ko je sistem konfiguriran za »Run Monitoring« (Nadzor izvedbe) ali »Run Monitoring and Storage« (Nadzor in shranjevanje izvedbe).

- Če trenutne izvedbe ne želite povezati s središčem BaseSpace Sequence Hub, izberite **Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In** (Preskoči vpis v BaseSpace Sequence Hub). Podatki o učinkovitosti delovanja instrumenta bodo še vedno poslani družbi Illumina.
- Če želite spremeniti povezavo za trenutno izvedbo, izberite možnost konfiguracije:
 - ▶ **Run Monitoring Only** (Le nadzor izvedbe) – V središču BaseSpace Sequence Hub so poslani le datoteke InterOp, s čimer je omogočeno izvajanje nadzora na daljavo.
 - ▶ **Run Monitoring and Storage** (Nadzor in shranjevanje izvedbe) – V središču BaseSpace Sequence Hub so poslani podatki o izvedbi, s čimer sta omogočena nadzor in analiza na daljavo (potrebujete vzorčni list).
- Vnesite svoje poverilnice za BaseSpace Sequence Hub (e-poštni naslov in geslo), nato pa izberite **Sign In** (Vpis).
- Če se prikaže seznam »Available Workgroups« (Razpoložljive delovne skupine), izberite delovno skupino, v katero želite prenesti podatke. Seznam se prikaže, če pripadate več delovnim skupinam.
- Izberite **Run Setup** (Nastavitev izvedbe).

Vnašanje parametrov za sekvenciranje

- V polje »Run Name« (Ime izvedbe) vnesite edinstveno ime po lastnem izboru, da poimenujete trenutno izvedbo. Ime izvedbe lahko vključuje alfanumerične znake, vezaje in podčrtaje.
- Za »Read Type« (Vrsta odčitavanja) izberite eno od teh možnosti:
 - ▶ **Single Read** (Eno odčitavanje) – izvedite eno odčitavanje sekvenciranja, kar je hitrejša in preprostejša možnost.
 - ▶ **Paired End** (Odčitavanje v paru) – izvedite dve odčitavanji sekvenciranja, s čimer zagotovite kakovostnejše podatke in natančnejšo uskladitev.
- Za »Read Cycle« (Cikel odčitavanja) vnesite število ciklov, ki jih želite izvesti v posameznem odčitavanju.
 - ▶ Za »Read 1« (Odčitavanje 1) in »Read 2« (Odčitavanje 2) dodajte en cikel zelenemu številu ciklov.

- Za izvajanje sekvenciranja le z enim kontrolnikom PhiX vnesite **0** v obe polji za indeks.

| Odčitavanje | Število ciklov |
|------------------------|----------------|
| Read 1 (Odčitavanje 1) | 26–151 |
| Index 1 (Indeks 1) | Največ 10 |
| Index 2 (Indeks 2) | Največ 10 |
| Read 2 (Odčitavanje 2) | 26–151 |

Vrednost odčitavanja 2 je običajno enaka vrednosti odčitavanja 1, vključno z dodatnim ciklom. Indeks 1 sekvencira vmesnik indeksa i7, indeks 2 pa sekvencira vmesnik indeksa i5.

- Če želite določiti mapo z odčitki za trenutno izvajanje sekvenciranja ali prenesti vzorčni list, izberite možnost **Advanced** (Napredno):
 - V polje »Output Folder« (Mapa z odčitki) vnesite pot do lokacije mape z odčitki ali izberite **Browse** (Prebrskaj) in se premaknite do nje.
 - V polje »Sample Sheet« (Vzorčni list) vnesite pot do lokacije vzorčnega lista ali izberite **Browse** (Prebrskaj) in se premaknite do njega.
- Izberite **Start Run** (Začni izvedbo), da zaženete postopek preverjanja pred izvedbo sekvenciranja.

Pregled postopkov preverjanja pred izvedbo sekvenciranja

Med preverjanji pred izvedbo sekvenciranja sta preverjanje instrumenta in preverjanje pretoka. Pri preverjanju pretoka instrument preluknja pečate na kartuši in spusti reagent skozi pretočno celico; zato potrošnih materialov ni mogoče znova uporabiti, ko se izvede preverjanje pretoka.

- Preverjanja pred izvedbo sekvenciranja potekajo približno 15 minut. Ko so postopki uspešno zaključeni, se izvedba sekvenciranja samodejno začne. Če zvok v sistemu ni izklopljen, zvočni signal naznani začetek izvedbe sekvenciranja.



OPOZORILO

Če odpirate vrata med preverjanjem pred izvedbo ali med samo izvedbo sekvenciranja, izvedba morda ne bo uspela.

- Če pride do napake med preverjanjem instrumenta, izberite **Retry** (Poskusi znova), da ponovite preverjanje. Preverjanje instrumenta se izvede pred preverjanjem pretoka. Ko poteka preverjanje, je v njegovi vrstici prikazana animacija.
- Če se napaka ponovi, glejte razdelek *Odpravljanje sporočil o napakah na strani 47*, da jo odpravite.

Nadzorovanje napredka izvedbe

- Napredek in metriko izvedbe lahko spremljate, ko se prikaže na zaslonu za sekvenciranje po ciklu 26.

| Metrika | Opis |
|---|---|
| %Q30 Read 1 (%Q30 Odčitavanje 1) | Odstotek dodelitev baze pri Odčitavanju 1 z oceno kakovosti (Q-score) ≥ 30 . |
| %Q30 Read 2 (%Q30 Odčitavanje 2) | Odstotek dodelitev baze pri Odčitavanju 2 z oceno kakovosti (Q-score) ≥ 30 . |
| %Clusters PF (%Gruč PF) | Odstotek gruč, ki so uspešno filtrirane. |
| %Occupancy (%Polnosti) | Odstotek vdolbinic na površini pretočnih celic, ki vsebuje gruče. |
| Projected Total Yield (Projiciran skupni donos) | Pričakovano število baz, ki bodo dodeljene za izvedbo. |

- 2 Če želite spremljati kopiranje datotek in druge postopke izvedb, izberite meni programske opreme za nadzor, nato pa izberite **Process Management** (Upravljanje postopka).

Odstranjevanje potrošnega materiala

- 1 Ko je sekvenciranje dokončano, izberite **Eject Cartridge** (Izvrzi kartušo). Programska oprema iz instrumenta izvrše uporabljeno kartušo.
- 2 Odstranite kartušo s pladnja.
- 3 Vzemite pretočno celico iz kartuše.
- 4 Pretočno celico, ki vključuje elektronske sestavne dele, zavržite v skladu z veljavnimi standardi, ki veljajo v vaši regiji.
- 5 Kartušo, ki vključuje reagente, zavržite v skladu z veljavnimi standardi, ki veljajo v vaši regiji. Izpiranje po sekvenciranju ni potrebno, saj tekočine odstranite skupaj s kartušo.



OPOZORILO

Ta nabor reagentov vsebuje kemikalije, ki so lahko nevarne. Do telesnih poškodb lahko pride zaradi vdihavanja, zaužitja, stika s kožo in z očmi. Uporabljajte zaščitno opremo, vključno z zaščito za oči, rokavicami in laboratorijsko haljo, glede na tveganje izpostavljenosti. Uporabljene reagente obravnavajte kot kemične odpadke in jih zavržite v skladu z veljavnimi regijskimi, nacionalnimi in lokalnimi zakoni in uredbami. Če želite dodatne informacije o varovanju okolja in zdravja ter zagotavljanju varnosti, glejte »SDS« na spletnem mestu support.illumina.com/sds.html.

- 6 Izberite **Close Door** (Zapri vrata), da znova naložite pladenj in se vrnete na začetni zaslon. Programska oprema samodejno znova zapre pladenj in senzorji potrdijo odstranitev kartuše.

Poglavje 4 Vzdrževanje

| | |
|---|----|
| Čiščenje prostora na trdem disku | 33 |
| Posodobitve programske opreme | 33 |
| Zamenjava zračnega filtra | 35 |
| Prestavljanje instrumenta | 37 |
| Pravilniki z omejitvami programske opreme | 38 |

Čiščenje prostora na trdem disku

Za izvedbo sekvenciranja potrebujete približno 2 GB prostora na trdem disku. Ko začne prostora na trdem disku zmanjkovati, sprostite prostor tako, da izbrišete dokončane izvedbe po spodaj navedenih navodilih.

- 1 V meniju v programski opremi za nadzor izberite **Process Management** (Upravljanje postopka). Prikaže se zaslon za upravljanje postopka s seznamom izvedb sekvenciranja, shranjenih na trdem disku.
- 2 Za izvedbo, ki jo želite izbrisati, izberite **Delete** (Izbriši). Če izbrišete izvedbo, izbrišete lokalno mapo izvedbe. Mapa z odčitki, ki je kopija mape z izvedbami, se ohrani.
- 3 V pogovornem oknu izberite **Yes** (Da), da potrdite brisanje izvedbe.
- 4 Ponovite koraka 2 in 3 za vsako izvedbo, ki jo želite izbrisati.
- 5 Ko končate, zaprite okno »Process Management« (Upravljanje postopka), da se vrnete na zaslon za sekvenciranje.

Posodobitve programske opreme

S posodobitvijo programske opreme zagotovite, da ima vaš sistem najnovejše funkcije in popravke. Posodobitve programske opreme so združene v zbirko sistema, ki vključuje to programsko opremo:

- ▶ Programska oprema za nadzor iSeq
- ▶ Recepti sistema iSeq 100
- ▶ Universal Copy Service
- ▶ Analiza v realnem času
- ▶ Local Run Manager (le ogrodje)



OPOMBA

Čeprav je Local Run Manager vključen v zbirko sistema, moduli za analizo niso. Po potrebi jih namestite ločeno z računom sbsadmin. Programska oprema modula za analizo je na voljo na straneh podpore za Local Run Manager.

Sistem je konfiguriran za samodejni ali ročni prenos posodobitev programske opreme:

- ▶ **Automatic updates** (Samodejne posodobitve) – Posodobitve se samodejno prenesejo iz središča BaseSpace Sequence Hub, vi jih le namestite. Za to možnost potrebujete internetno povezavo, ne pa tudi računa središča BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ **Manual updates** (Ročne posodobitve) – Posodobitve prenesete ročno iz spleta, jih shranite lokalno ali v prenosno napravo in jih nato namestite s shranjenega mesta. Za to možnost ne potrebujete internetne povezave.

Namestitev samodejne posodobitve programske opreme

- 1 Preklopite v račun sbsadmin v operacijskem sistemu.
- 2 Izberite meni programske opreme za nadzor, nato pa izberite **Software Update** (Posodobitev programske opreme), da odprete pogovorno okno »Software Update« (Posodobitev programske opreme).
Sistemi, ki so konfigurirani za samodejne posodobitve, prikažejo opozorilo, ko so na voljo posodobitve programske opreme.
- 3 Če želite preveriti, ali je na voljo posodobitev, izberite eno od teh možnosti:
 - ▶ **Check for Update** (Preveri posodobitve) – preveri, ali so na voljo posodobitve programske opreme.
 - ▶ **Autocheck for Updates** (Samodejno preveri posodobitve) – preveri, ali so na voljo posodobitve programske opreme in konfigurira sistem tako, da samodejno preveri, ali so na voljo nove posodobitve.Te možnosti so prikazane v sistemih, ki imajo vzpostavljeno povezavo z internetom, vendar niso konfigurirani za samodejne posodobitve.
- 4 Izberite **Update** (Posodobi), da prenesete novo različico programske opreme.
Ko je prenos dokončan, se programska oprema za nadzor zapre in prikaže se čarovnik za namestitev.
- 5 V čarovniku za namestitev izberite **Install** (Namesti).



OPOMBA

Če posodobitev prekličete, preden se dokonča namestitev, se postopek posodobitve ustavi na trenutni točki. Spremembe, ki jih izvedete do točke preklica, so povrnjene v prejšnjo različico oziroma niso nameščene.

- 6 Ko je namestitev dokončana, izberite **Close** (Zapri).
Programska oprema za nadzor se samodejno znova zažene. Če sistem znova zaženete, se morebitne posodobitve vdelaane programske opreme prikažejo samodejno.

Namestitev ročne posodobitve programske opreme

- 1 Preklopite v račun sbsadmin v operacijskem sistemu.
- 2 Ko je na voljo posodobitev vdelaane programske opreme, prenesite program za namestitev zbirke (*.exe) s [strani s podporo za sistem za sekvenciranje iSeq 100](#). Namestitveni program shranite na lokalni ali prenosni pogon.
- 3 Če namestitveni program shranite na prenosni pogon, povežite pogon z vrati USB na zadnji strani instrumenta. Po potrebi premaknite instrument, da dostopate do zadnje strani.
- 4 V programski opremi za nadzor izberite **Software Update** (Posodobitev programske opreme) v meniju programske opreme za nadzor.
- 5 V pogovornem oknu »Software Update« (Posodobitev programske opreme) razširite možnost **Install from local or portable drive** (Namesti z lokalnega ali prenosnega pogona).
- 6 Izberite **Browse** (Prebrskaj), da poiščete namestitveni program.
- 7 Izberite **Update** (Posodobi), da zaženete namestitev.
Programska oprema za nadzor se zapre in prikaže se čarovnik za namestitev.
- 8 V čarovniku za namestitev izberite **Install** (Namesti).



OPOMBA

Če posodobitev prekličete, preden se dokonča namestitev, se postopek posodobitve ustavi na trenutni točki. Spremembe, ki jih izvedete do točke preklica, so povrnjene v prejšnjo različico oziroma niso nameščene.

- 9 Ko je namestitev dokončana, izberite **Close** (Zapri). Programska oprema za nadzor se samodejno znova zažene. Če sistem znova zaženete, se morebitne posodobitve vdelane programske opreme prikažejo samodejno.

Zamenjava zračnega filtra

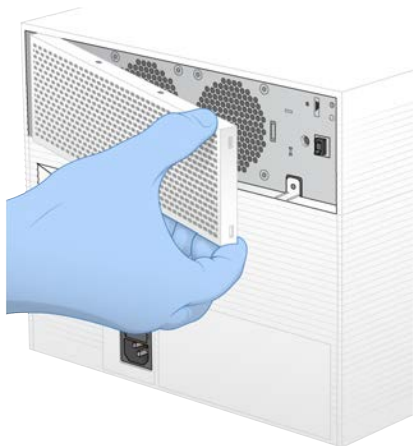
Zračni filter je kos pene za enkratno uporabo, ki pokriva ventilatorja na zadnji strani instrumenta. Zagotavlja ustrezno hlajenje in preprečuje vdor delcev v sistem. Instrument je dobavljen z enim že nameščenim zračnim filtrom, priložen pa je tudi rezervni filter. Dodatni filtri so na voljo kot del garancije, lahko pa jih tudi kupite od družbe Illumina.

Programska oprema vas pozove k menjavi zračnega filtra vsakih šest mesecev od prvotne nastavitve sistema. Pretečeni zračni filter zamenjajte po navodilih v nadaljevanju.

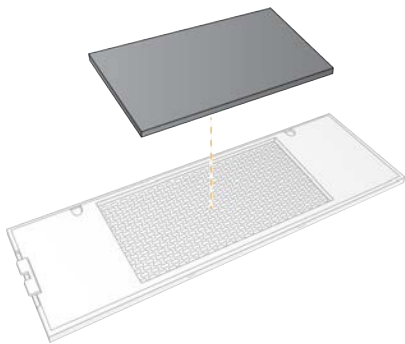
- 1 Instrument premaknite tako, da zlahka dostopate do zadnje strani.
- 2 Na zadnji strani instrumenta pritisnite desno stran zgornje plošče, da se odpre, kot je prikazano na spodnji sliki.



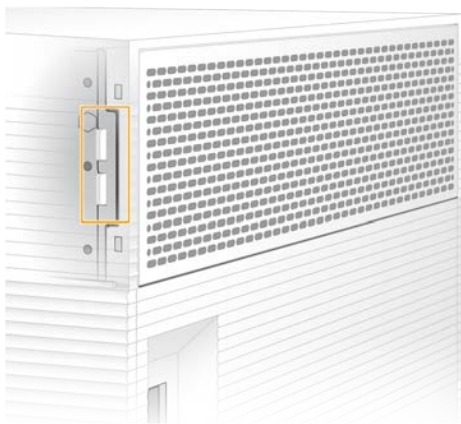
- 3 Odstranite ploščo z instrumenta.



- 4 Odstranite zračni filter s sredine plošče in ga zavržite.



- 5 V ploščo vstavite nov zračni filter in ga pritisnite, da stoji na mestu.
- 6 Kaveljčka na plošči vstavite v luknji na instrumentu in pritisnite ploščo na svoje mesto.



- 7 Instrument znova postavite na prejšnje mesto.
- 8 Izberite **Filter Changed** (Filter zamenjan) in nadaljujte s postopkom.

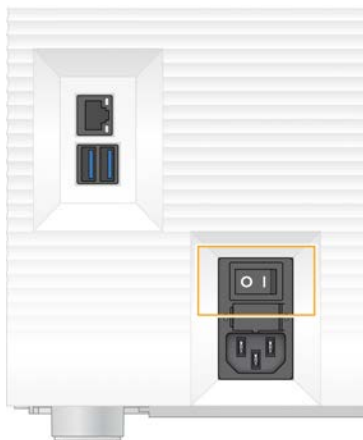
Prestavljanje instrumenta

Če želite premakniti instrument, upoštevajte spodnja navodila. Zagotovite, da je novo mesto v skladu z zahtevami, opisanimi v dokumentu *Navodila za pripravo mesta za uporabo sistema za sekvenciranje iSeq 100* (dokument št. 1000000035337).

Če boste instrument vrnili, preskočite ta razdelek in pojdite na razdelek *Napredna zamenjava na strani 55*.

- 1 V meniju izberite **Shut Down System** (Zaustavitev sistema).
- 2 Če se sistem ne zaustavi, držite gumb za vklop/izklop na levi strani instrumenta, dokler se lučke ne ugasnejo.
- 3 Ko gumb za vklop/izklop utripa, pritisnite stran na izklop (**O**) na preklopnem stikalu na zadnji strani instrumenta.
Gumb za napajanje lahko utripa tudi, ko je instrument izklopljen.

Slika 7 Mesto preklopnega stikala



- 4 Napajalni kabel iztaknite iz zidne električne vtičnice in nato še iz priklopa za električno napajanje na zadnji strani naprave.
- 5 Če uporabljate ethernetni kabel, tudi tega najprej iztaknite iz zidne vtičnice in nato še iz ethernetnih vrat na zadnji strani naprave.
- 6 Spustite zaslon.
- 7 Prestavite instrument na zeleno mesto.
Teža instrumenta je 15,9 kg (35 lb), zato ga morata dvigniti dva človeka.
- 8 Dvignite zaslon.
- 9 Če je instrument povezan z omrežjem, priključite ethernetni kabel v ethernetna vrata.
- 10 Napajalni kabel priključite na vrata za električno napajanje na zadnji strani naprave in nato še na stensko vtičnico.
- 11 Pritisnite preklopno stikalo na strani za vklop (I).

12 Ko gumb za vklop/izklop utripa, ga pritisnite.

Slika 8 Mesto gumba za vklop/izklop



13 Ko se operacijski sistem naloži, se prijavite v Windows.

Programska oprema za nadzor se zažene in inicializira sistem. Ko je inicializacija dokončana, se prikaže začetni zaslon.

Pravilniki z omejitvami programske opreme

Pravilniki z omejitvami programske opreme (SRP) v sistemu Windows imajo pravila, s katerimi dovolijo zagon le določeni programski opremi. Pravila pravilnikov z omejitvami programske opreme za sistem iSeq 100 temeljijo na potrdilih, imenih in priponkah datotek ter mapah.

Pravilniki z omejitvami programske opreme so privzeto vklopljeni, da preprečijo zagon neželene programske opreme v računalniku za nadzor. Strokovnjak za IT ali skrbnik sistema lahko doda ali odstrani pravila in tako prilagodi raven varnosti. Če je sistem dodan v domeno, lahko lokalni predmet pravilnika skupine (GPO) samodejno spremeni pravila in izklopi pravilnik z omejitvami programske opreme.

Dovoljena pravila za pravilnike z omejitvami programske opreme

V sistemu za sekvenciranje iSeq 100 pravilnik z omejitvami programske opreme privzeto omogoča spodaj navedena pravila.

Potrdila

Potrdilo za aplikacijo sistema iSeq

Izvršljive datoteke

Portmon.exe

Procmon.exe

Procmon64.exe

Tcpview.exe

Datotečne pripone

*.cfg

*.lnk

*.png

*.tif

Datotečne pripone

*.txt
*.xml

Imeniki

%HKEY_LOCAL_MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows\CurrentVersion\ProgramFilesDir%
%HKEY_LOCAL_MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows NT\CurrentVersion\SystemRoot%
C:\CrashDumps\
C:\Illumina Maintenance Logs\
C:\Illumina Manufacturing Test Results\
C:\Illumina\
C:\Program Files (x86)\Chromium\Application\
C:\Program Files (x86)\Illumina\
C:\Program Files (x86)\Internet Explorer\
C:\Program Files\Illumina\
C:\Program Files\Internet Explorer\
C:\Program Files\Jenoptik\
C:\Program Files\Ophir Optronics\
C:\ProgramData\Illumina\
C:\ProgramData\Package Cache\
C:\ProgramData\webex\
C:\Users*\AppData\Local\GoToAssist Corporate\
C:\Users*\AppData\Local\Temp\Citrix\
C:\Users*\AppData\Local\Temp\CitrixLogs\
C:\Users*\AppData\Local\Temp\LogMeln\
C:\Users*\AppData\Local\Temp\LogMelnLogs\
D:\Recovery\
GoToAssist Corporate Opener*.exe
Turnover to customer.bat

Dodajanje in odstranjevanje pravil za pravilnike z omejitvami programske opreme

Varnost sistema lahko prilagodite tako, da dodate ali odstranite pravila za pravilnike z omejitvami programske opreme. Če želite spreminjati pravila, morate začasno izklopiti pravilnik z omejitvami programske opreme.



OPOZORILO

Če izklopite pravilnik z omejitvami programske opreme, prepisete privzete zaščite.

- 1 Prijavite se v operacijski sistem s skrbniškimi računom.
Skrbniški račun vključuje pravice, potrebne za spreminjanje pravil pravilnika z omejitvami programske opreme.
- 2 Izklopite pravilnik z omejitvami programske opreme:
 - a Premaknite se do imenika C:\Illumina\Security.
 - b Dvokliknite Disable.reg.
 - c Izberite **Yes** (Da), da potrdite spremembe.

Če uporabljate vmesnik na zaslonu na dotik, namesto klika z desno tipko miške tapnite možnost in jo pridržite približno 2 sekundi.
- 3 Izberite **Start** (Začetek) in nato izberite **Run** (Zaženi).
- 4 V polje »Open« (Odpri) vnesite **secpol.msc**.

- 5 V pogovornem oknu »Local Security Policy« (Lokalni varnostni pravilnik) razširite **Software Restriction Policies** (Pravilniki z omejitvami programske opreme) in nato izberite **Additional Rules** (Dodatna pravila).
- 6 Če želite dodati pravilo:
 - a V meniju »Action« (Dejanje) izberite **New Path Rule** (Pravilo za novo pot).
 - b V polje »Path« (Pot) vnesite potrdilo, ime datoteke, datotečno pripono ali imenik, ki ga želite omogočiti.
 - c Na seznamu »Security level« (Raven varnosti) izberite **Unrestricted** (Neomejeno).
 - d **[Izbirno]** V polje »Description« (Opis) vnesite razlog za ustvarjanje pravila.
 - e Če želite dodati pravilo, izberite **OK** (V redu).
- 7 Če želite izbrisati pravilo:
 - a Izberite pravilo, ki ga želite izbrisati, in nato izberite **Delete** (Izbrisi).
 - b Če želite potrditi brisanje, izberite **Yes** (Da).
- 8 Zaprite pogovorno okno »Local Security Policy« (Lokalni varnostni pravilnik).
- 9 **Takoj** znova vklopite pravilnik z omejitvami programske opreme:
 - a Premaknite se do imenika C:\Illumina\Security.
 - b Dvokliknite Enable.reg.
- 10 Če ste pravila pravilnika z omejitvami programske opreme spremenili prvič, se odjavite in nato znova prijavite, da pravila aktivirate.

Dodatek A Odčitek sekvenciranja

| | |
|--------------------------------------|----|
| Pregled analize v realnem času | 41 |
| Potek analize v realnem času | 43 |

Pregled analize v realnem času

Programska oprema Real-Time Analysis (analiza v realnem času) se izvaja v računalniku za nadzor instrumenta. Med izvedbo sekvenciranja iz slik izračuna jakost in na podlagi tega dodeli baze, nato pa dodelitvi baze določi še oceno kakovosti.

Sistem za sekvenciranje iSeq 100 uporablja analizo v realnem času programske opreme RTA2. RTA2 in programska oprema za nadzor komunicirata prek spletnega vmesnika HTTP in pomnilniških datotek v skupni rabi. Če se RTA2 zapre, se obdelava ne nadaljuje in podatki o izvedbi se ne shranijo.



OPOMBA

Sistem ne izračuna učinkovitosti demultipleksiranja, zato na zavihku »Index« (Indeks) v orodju »Sequencing Analysis Viewer« (Pregledovalnik analize sekvenciranja) ni podatkov.

Vhodne datoteke

Za obdelavo RTA2 potrebuje te vhodne datoteke:

- ▶ Slike ploščic v lokalnem pomnilniku sistema.
- ▶ Konfiguracijska datoteka Real-Time Analysis v obliki zapisa XML.
- ▶ RunInfo.xml, ki jo programska oprema za nadzor ustvari samodejno na začetku izvedbe.

RTA2 prejme ukaze iz programske opreme za nadzor, ki vključujejo informacije o mestu datoteke RunInfo.xml in ali je mapa z odčitki določena. Iz datoteke RunInfo.xml RTA2 odčita ime izvedbe sekvenciranja, število ciklov, ali je odčitek indeksiran in število ploščic na pretočni celici.

Datoteke z odčitki

Naprava prenese slike v spomin programske opreme RTA2 v obliki ploščic; to so majhna območja za zajemanje slik v pretočni celici za posamezen pogled kamere. V pretočni celici i1 sistema iSeq 100 je 16 ploščic.

Iz teh slik RTA2 ustvari nabor datotek za dodelitev baze z oceno kakovosti in datotek s filtri kot primarne odčitke. Primarne odčitke je mogoče generirati tudi iz drugih datotek.

| Vrsta datoteke | Opis datoteke, mesto in ime |
|-------------------------------------|--|
| Datoteke za dodelitev baze | Vsaka analizirana ploščica je vključena v datoteko za dodelitev baze; vse ploščice iz enega cikla so združene v eno datoteko. V tej združeni datoteki je dodelitev baze in z njo povezana ocena kakovosti za posamezno gručo. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [cikel].bcl.bgzf, pri čemer [cikel] predstavlja štirimestno številko cikla. Datoteke za dodelitev baze so stisnjene s sistemom za blokovno stiskanje gzip. |
| Indeksne datoteke za dodelitev baze | V indeksni datoteki za dodelitev baze so ohranjene informacije z originalne ploščice. V indeksni datoteki je navedena številka posamezne ploščice in število gruč. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [cikel].bcl.bgzf.bci |

| Vrsta datoteke | Opis datoteke, mesto in ime |
|-------------------------------|--|
| Datoteka z mesti gruč | V posamezni datoteki z mesti gruč (s.locs) so koordinate X, Y za vsako gručo v pretočni celici. Data\Intensities s.locs |
| Datoteke s filtri | V datotekah s filtri je navedeno, ali so bile gruče uspešno filtrirane. Za vsako ploščico se ustvari ena datoteka s filtri. Sistem ustvari datoteke s filtri v 26. ciklu, in sicer iz podatkov iz 25 ciklov. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[pas].filter |
| Datoteke InterOp | Metrika o kakovosti sekvenciranja v realnem času, ki se posodablja med samo izvedbo sekvenciranja. V teh binarnih datotekah so metrike o ploščici, ciklu in ravni odčitavanja; metrika mora biti prikazana v pregledovalniku Sequencing Analysis Viewer. Mapa InterOp |
| Datoteka s konfiguracijo RTA | V njej so naštetni parametri za izvedbo. Datoteka je ustvarjena na začetku izvedbe. V njej so združene vrednosti iz datoteke za vhodno konfiguracijo in vrednosti, ki jih določa RTA2. [Korenska mapa], RTAConfiguration.xml |
| Datoteka s podatki o izvedbi* | V njej je navedeno ime izvedbe, število ciklov na odčitavanje, ali gre za indeksno odčitavanje ter število pasov in ploščic. Ustvarjena je na začetku izvedbe. [Korenska mapa], RunInfo.xml |
| Datoteke s sličicami | Sličice ploščic pretočne celice. Images\L001\C[X.1] – Datoteke so shranjene v ločenih mapah za posamezne pasove in ločenih podmapah za posamezne cikle. S_[pas]_[ploščica].jpg – Na sliki ploščice je tudi njena številka. |

*Ustvari jo programska oprema za nadzor. Vse ostale datoteke v tabeli ustvari programska oprema RTA2.

Local Run Manager in BaseSpace Sequence Hub samodejno pretvorita datoteke za dodelitev baze v datoteke FASTQ. Za sekvenciranje v ročnem načinu uporabite najnovjšo različico programske opreme za pretvorbo bcl2fastq2, s katero pretvorite datoteke FASTQ. Programsko opremo prenesite s spletnega mesta družbe Illumina na [straneh s podporo za programsko opremo za pretvorbo bcl2fastq](#).

Ime in pot do mape z odčitki

Za vsako izvedbo programska oprema za nadzor samodejno ustvari mapo z odčitki in mapo izvedbe. Do podatkov o izvedbi lahko dostopate prek mape z odčitki, ki je kopija mape izvedbe. Mapa izvedbe je za sistemsko rabo.

Pot do mape z odčitki določi uporabnik, njeno privzeto mesto pa je D:\. Programska oprema za nadzor dodeli imena mapi z odčitki v tej obliki zapisa.

| Oblika zapisa | Primer |
|---|------------------------------------|
| <LLLLMMDD>_<ID instrumenta>_<Številka izvedbe>_<ID pretočne celice> | 20180331_FFSP247_4_BNS417-05-25-12 |

Številka izvedbe se poveča za eno vsakič, ko sistem izvede sekvenciranje. Številki instrumenta in pretočne celice sta njuni serijski številki.

Struktura mape z odčitki

- 📁 **Recipe** (Recept) – Datoteka z receptom za določeno izvedbo.
- 📁 **Logs** (Dnevniki) – Dnevniške datoteke z opisom analitike instrumenta, operacijskih korakov in drugih dogodkov.
- 📁 **Config** (Konfiguracija) – Konfiguracijske nastavitve izvedbe.
- 📄 RunParameters.xml
- 📄 RunInfo.xml
- 📄 CopyComplete.txt
- 📄 RunCompletionStatus.txt
- 📄 RTAComplete.txt
- 📄 RTAConfiguration.xml
- 📁 **Data**
 - 📁 **Intensities**
 - 📁 **BaseCalls**
 - 📁 **L001**
 - 📄 s.locs
- 📁 **InterOp**
- 📁 **Images**
- 📄 SampleSheet.csv (Vzorčni list) – Vzorčni list ali manifest.
- 📁 **RTALogs** (Dnevniki RTA) – Dnevniške datoteke z opisom dogodkov RTA2.

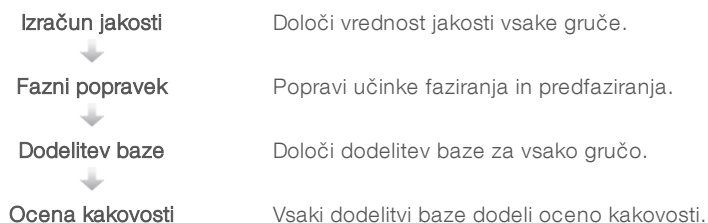
Ravnanje v primeru napak

RTA2 ustvari dnevniške datoteke in jih zapiše v mapo RTALogs. Napake se zabeležijo v datoteki z napako v obliki zapisa datoteke TSV.

Na koncu obdelave se navedeni dnevnik in datoteke z napakami prenesejo do končnega ciljnega mesta z odčitki:

- ▶ V datoteki *GlobalLog*.tsv so povzeti pomembni dogodki v zvezi z izvedbo.
- ▶ V datoteki *Error*.tsv so navedene napake, do katerih je prišlo med izvedbo.
- ▶ V datoteki *WarningLog*.tsv so navedena opozorila, ki so se prikazala med izvedbo.

Potek analize v realnem času



Izračun jakosti

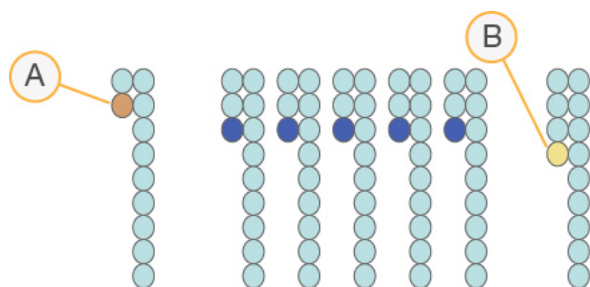
Z izračunom jakosti se dobi vrednost jakosti za vsako posamezno nano vdolbinico na navedeni sliki.

Fazni popravek

Med reakcijo sekvenciranja se vsaka veriga DNK v gruči razširi za eno bazo v vsakem ciklu. Do faziranja in predfaziranja pride, ko veriga ni več skladna s fazo trenutnega cikla sestavljanja.

- ▶ Do faziranja pride, ko baza zaostaja.
- ▶ Do predfaziranja pride, ko baza prehiteva.

Slika 9 Faziranje in predfaziranje



- A Odčitek z bazo, za katero poteka faziranje.
- B Odčitek z bazo, za katero poteka predfaziranje

RTA2 popravi učinke faziranja in predfaziranja, pri čemer se maksimira kakovost podatkov v vsakem ciklu med izvedbo sekvenciranja.

Dodelitev baze

Z dodelitvijo baze se določi baza (A, C, G ali T) za vsako gručo določene ploščice v določenem ciklu. Sistem iSeq 100 za šifriranje podatkov za štiri baze uporablja enobarvno sekvenciranje, za kar so potrebne ena barva in dve sliki.

Rezultat jakosti, pridobljenih z ene slike, v primerjavi z drugo sliko, so štiri različne populacije, od katerih vsaka ustreza nukleotidu. Dodelitev baze določa, kateri populaciji pripada posamezna gruča.

Slika 10 Vizualizacija jakosti gruče

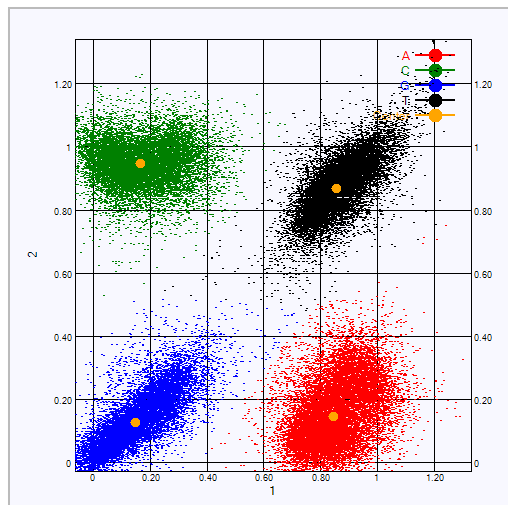


Tabela 3 Dodelitve baze v enobarvnem sekvenciranju

| Baza | Barva na prvi sliki | Barva na drugi sliki | Sklep na osnovi primerjanih slik |
|------|---------------------|----------------------|---|
| T | Vklopljeno | Vklopljeno | Gruče, katerih jakost je prikazana na obeh slikah, pripadajo bazi T. |
| A | Vklopljeno | Izklopljeno | Gruče, katerih jakost je prikazana le na prvi sliki, pripadajo bazi A. |
| C | Izklopljeno | Vklopljeno | Gruče, katerih jakost je prikazana le na drugi sliki, pripadajo bazi C. |
| G | Izklopljeno | Izklopljeno | Gruče, katerih jakost ni prikazana na nobeni sliki, pripadajo bazi G. |

Gruče, ki so uspešno filtrirane

Med izvedbo sekvenciranja RTA2 filtrira neobdelane podatke, da odstrani odčitke, ki ne izpolnjujejo praga kakovosti podatkov. Gruče, ki se prekrivajo, in tiste slabe kakovosti, so odstranjene.

Za sekvenciranje z eno barvo RTA2 uporablja sistem, ki temelji na populaciji, da določi čistost (meritev čistosti intenzitete) dodelitve baze. Filtriranje gruč je uspešno (PF), ko ima čistost pod pragom kakovosti v prvih 25 ciklih nič več kot ena dodelitev baze.

Usklajevanje s kontrolnikom PhiX se izvede v 26. ciklu za podniz ploščic, in sicer za gruče, ki so bile uspešno filtrirane. Gruče, ki niso bile uspešno filtrirane, niso dodeljene bazi in usklajene.

Indeksna odčitavanja

Postopek indeksnega odčitavanja za dodelitev baz se razlikuje od odčitavanja sekvenciranja za dodelitev baz. Prvih dveh ciklov indeksnega odčitavanja ni mogoče začeti z dvema bazama G, sicer se ne ustvari intenziteta. Če želite zagotoviti učinkovitost demultipleksiranja, mora biti prisotna intenziteta v obeh prvih dveh ciklih.

Prepričajte se, da se **vsaj** ena sekvenca vmesnika indeksa v knjižnični zbirki ne začne z dvema bazama G. Izberite uravnotežene sekvenke vmesnika indeksa, tako da je signal prisoten vsaj na eni sliki (priporočamo, da je na obeh) za vsak posamezen cikel. Postavitev plošče in sekvenke, ki so na voljo v indeksih IDT for Illumina TruSeq UD, so ustrezno uravnotežene.

Če želite več informacij o indeksiranju in združevanju, glejte *Navodila za združevanje – prilagojevalnik indeksiranja (dokument št. 1000000041074)*.

Ocena kakovosti

Ocena kakovosti ali »Q-score« je predvidena verjetnost, da ne bo dodeljena pravilna baza. Višja ocena kakovosti pomeni višjo kakovost dodelitve baze, kar pomeni, da je večja verjetnost, da je baza pravilno dodeljena.

Z oceno kakovosti sistem sporoči verjetnost majhnih napak. »Q(X)« predstavlja ocene kakovosti, pri čemer je X ocena. V spodnji tabeli je prikazan odnos med oceno kakovosti in verjetnostjo napake.

| Ocena kakovosti Q (X) | Verjetnost napake |
|-----------------------|----------------------|
| Q40 | 0,0001 (1 od 10.000) |
| Q30 | 0,001 (1 od 1.000) |
| Q20 | 0,01 (1 od 100) |
| Q10 | 0,1 (1 od 10) |



OPOMBA

Ocena kakovosti temelji na prilagojeni različici algoritma Phred.

Funkcija ocene kakovosti izračuna nabor napovedi za vsako dodelitev baze in nato na podlagi vrednosti teh napovedi poišče oceno kakovosti v tabeli. S tabelami kakovosti dobimo optimalno točne napovedi kakovosti za izvedbo sekvenciranja, ki se izvedejo z določeno konfiguracijo platforme za sekvenciranje in različico kemične mešanice.

Ko je določena ocena kakovosti, se rezultati zabeležijo v datoteke za dodelitev baze.

Dodatek B Odpravljanje težav

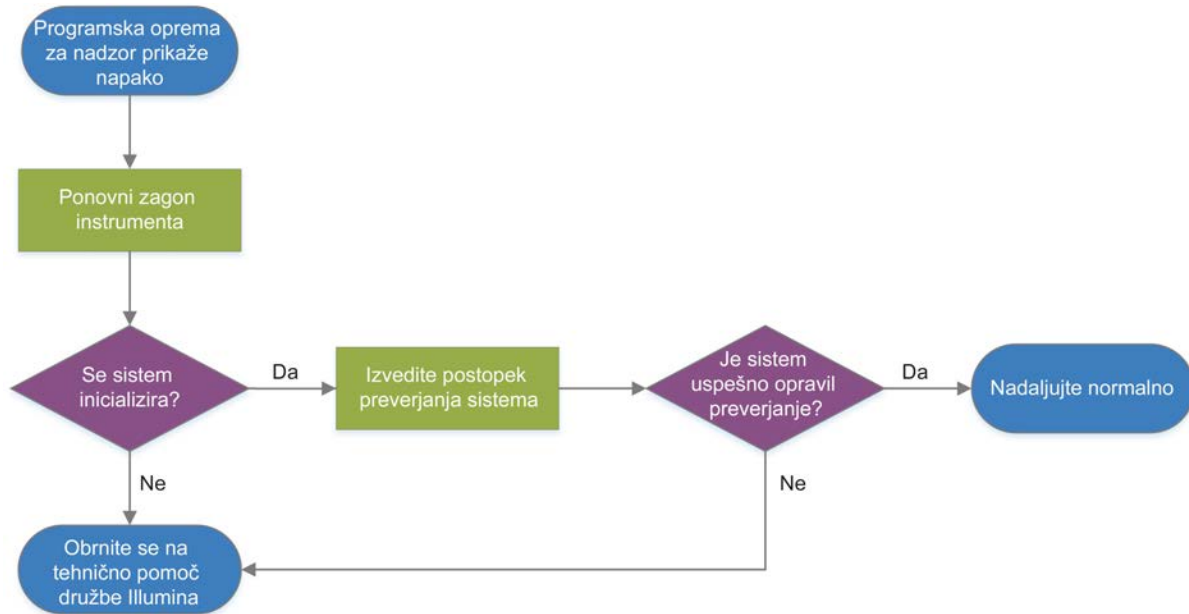
| | |
|--|----|
| Odpravljanje sporočil o napakah | 47 |
| Preklic začete izvedbe sekvenciranja | 48 |
| Ponovni zagon instrumenta | 48 |
| Preverjanje sistema | 49 |
| Ukrepi pri puščanju | 51 |
| Povrnitev na tovarniške nastavitve | 53 |

Odpravljanje sporočil o napakah

V tem dodatku so na voljo podrobna navodila s postopki za odpravljanje različnih napak. V spodnjem diagramu poteka je prikazan potek odpravljanja sporočil o napakah, ki se prikažejo med inicializacijo, nastavitvijo izvedbe, preverjanji pred izvedbo sekvenciranja ali sekvenciranjem in jih ni mogoče odpraviti s ponovnim poskusom.

Številne napake lahko odpravite tako, da instrument znova zaženete: ga izklopite in znova vklopite. Druge pa lahko diagnosticirate in odpravite s preverjanjem sistema.

Slika 11 Pregled sporočil o napakah



Stanje funkcije »Process Management« (Upravljanje postopka)

Če se na zaslonu funkcije »Process Management« (Upravljanje postopka) prikaže težava s stanjem, jo odpravite tako:

- ▶ Če trenutno poteka sekvenciranje, zaprite okno »Process Management« (Upravljanje postopka), počakajte približno pet minut in ga znova odprite.
- ▶ Če ne poteka sekvenciranje, znova zaženite instrument in nato znova odprite okno »Process Management« (Upravljanje postopka). Glejte razdelek *Ponovni zagon instrumenta* na strani 48.

Preklic začete izvedbe sekvenciranja

Ko zaženete izvedbo sekvenciranja, jo lahko prekličete tako, da jo končate, izvržete kartušo in se vrnete na zaslon za sekvenciranje.



OPOZORILO

Preklic izvedbe sekvenciranja je **dokončno dejanje**. Programska oprema ne more nadaljevati izvedbe sekvenciranja in potrošnega materiala ne morete znova uporabiti po preverjanju instrumenta, ki je del preverjanj pred izvedbo sekvenciranja.

- 1 Izberite **Stop Run** (Ustavi izvedbo), nato pa izberite **Yes, cancel** (Da, prekliči). Prikaže se okno za preklicano sekvenciranje s časovnimi žigi za datum in uro ustavitve izvedbe sekvenciranja.
- 2 Izberite **Eject Cartridge** (Izvrzi kartušo), da odprete vrata in izvržete pladenj.
- 3 Odstranite kartušo s pladnja.
- 4 Shranite ali zavrzite kartušo, odvisno od tega, kdaj ste preklicali izvedbo:

| Okoliščina | Navodilo |
|--|---|
| Preklicali ste pred ali med izvedbo preverjanja instrumenta in želite znova uporabiti potrošni material. | Pretočno celico in knjižnico pustite v kartuši ter pustite stati na sobni temperaturi približno 1 uro. |
| Druge okoliščine. | Vzemite pretočno celico iz kartuše. Oba sestavna dela zavrzite v skladu z veljavnimi standardi, ki veljajo v vaši regiji. <ul style="list-style-type: none"> • Pretočna celica ima elektronske komponente. • Kartuša vsebuje uporabljene reagente in knjižnico. |

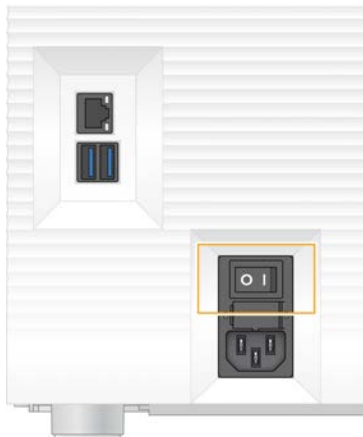
- 5 Izberite **Close Door** (Zapri vrata), da znova naložite pladenj in se vrnete na zaslon za sekvenciranje. Senzorji potrdijo odstranitev kartuše.

Ponovni zagon instrumenta

Ko izvedete ponovni zagon instrumenta, se sistem varno zaustavi in ponovno zažene ter s tem znova vzpostavi izgubljeno povezavo, uskladi specifikacije ali reši neuspešno inicializacijo. Sporočila programske opreme označujejo, kdaj morate znova zagnati instrument, da odpravite težavo ali opozorilo.

- 1 V meniju izberite **Shut Down System** (Zaustavitev sistema).
- 2 Če se sistem ne zaustavi, držite gumb za vklop/izklop na levi strani instrumenta, dokler se lučke ne ugasnejo.
- 3 Ko gumb za vklop/izklop utripa, pritisnite stran na izklop (O) na preklopnem stikalu na zadnji strani instrumenta.
Gumb za napajanje lahko utripa tudi, ko je instrument izklopljen.

Slika 12 Mesto preklopnega stikala



- 4 Počakajte 30 sekund.
- 5 Pritisnite preklopno stikalo na strani za vklop (I).
- 6 Ko gumb za vklop/izklop utripa, ga pritisnite.

Slika 13 Mesto gumba za vklop/izklop



- 7 Ko se operacijski sistem naloži, se prijavite v Windows.
Programska oprema za nadzor se zažene in inicializira sistem. Ko je inicializacija dokončana, se prikaže začetni zaslon.

Preverjanje sistema

Pri postopku preverjanja sistema, ki se izvaja približno 45 minut, so s testno pretočno celico za večkratno uporabo in testno kartušo za večkratno uporabo odpravljene napake in druge težave, do katerih pride v postopkih preverjanja pred izvedbo sekvenciranja. Štirje testi podsistema potrdijo, ali so komponente ustrezno usklajene in delujoče.

Pri normalnem delovanju in vzdrževanju ni treba opraviti preverjanja sistema.

- 1 Testno pretočno celico in kartušo za večkratno uporabo prinesite iz prostora, kjer ste ju imeli shranjeni pri sobni temperaturi.
- 2 V programski opreми za nadzor izberite **System Check** (Preverjanje sistema).
Odpre se pogovorno okno »System Check« (Preverjanje sistema), kjer so izbrani mehanski, termalni, optični in senzorični preskusi.
- 3 Izberite **Unload** (Odstrani), da se odprejo vrata razdelka s kartušo in pladenj.
- 4 Če je na pladnju vstavljena kartuša, jo odstranite.
- 5 Preglejte stekleno površino pretočne celice za večkratno uporabo in se prepričajte, da ni vidnih ostankov delcev. Če vidite delce, jih očistite tako, da upoštevate spodnja navodila.
 - a Stekleno površino obrišite z alkoholnim robčkom.
 - b Posušite s čistilno krpo, ki ne pušča nitk.
 - c Zagotovite, da na pretočni celici ni kakršnih koli nitk ali vlaken.

V normalnih okoliščinah testne pretočne celice za večkratno uporabo ni treba čistiti.

- 6 Testno pretočno celico za večkratno uporabo držite za držalo, pri tem naj bo nalepka obrnjena navzgor.
- 7 Testno pretočno celico za večkratno uporabo vstavite v režo na sprednjem delu testne kartuše za večkratno uporabo.
Ko zaslišite klik, je pretočna celica na svojem mestu. Ko je celica na pravem mestu, držalo gleda iz kartuše, v oknu za dostop pa je vidno steklo.



- a Vstavljanje testne pretočne celice za večkratno uporabo
 - b Vstavljena testna pretočna celica za večkratno uporabo
- 8 Vstavite testno kartušo za večkratno uporabo na pladenj, da je okno za dostop obrnjeno navzgor in je pretočna celica znotraj instrumenta.



- 9 Izberite **Load** (Vstavi) ter vstavite testno kartušo za večkratno uporabo in zaprite vrata.

- 10 Če želite zagnati preverjanje sistema, izberite **Start** (Začni).
Med preverjanjem sistema programska oprema enkrat izvrže in nazaj povleče kartušo.

**OPOMBA**

Testno pretočno celico in kartušo za večkratno uporabo lahko uporabite za 36 uporabnikov ali za obdobje 5 let od datuma proizvodnje, kar nastopi prej. Preostalo število uporabnikov je prikazano na zaslonu.

- 11 Ko je preverjanje sistema zaključeno, preverite, ali so posamezni testi uspešno ali neuspešno opravljeni.

| Rezultat | Pomen | Ukrep |
|--|---|--|
| Vsi štiri testi so uspešno opravljeni | Instrument pravilno deluje in težava, do katere prihaja, je verjetno povezana s potrošnimi materiali ali knjižnico. | Nastavite novo izvedbo sekvenciranja. Če ste shranili potrošne materiale iz prejšnjega sekvenciranja, jih uporabite za novo sekvenciranje. |
| Najmanj en test ni bil uspešno opravljen | V instrumentu je morda prišlo do napake v strojni opremi. | Obrnite se na tehnično pomoč družbe Illumina. |

- 12 Izberite **Unload** (Odstrani), da odstranite testno kartušo za večkratno uporabo.
- 13 Odstranite testno kartušo za večkratno uporabo s pladnja.
- 14 Vzemite testno pretočno celico za večkratno uporabo iz kartuše.
- 15 Testne komponente za večkratno uporabo položite nazaj v originalno embalažo in jih shranite pri sobni temperaturi.
- 16 Zaprite pogovorno okno »System Check« (Preverjanje sistema).

Ukrepi pri puščanju

Če med preverjanjem pred izvedbo sekvenciranja ali med samo izvedbo sekvenciranja sistem zazna napako v pretočnem sistemu, napako v kartuši ali puščanje, programska oprema dokonča sekvenciranje in vas obvesti o tem. Ko ocenite resnost puščanja in očistite instrument, postopek preverjanja sistema preveri, ali lahko instrument normalno deluje.

Posoda za zbiranje tekočine na dnu instrumenta prestreže tekočino, ki pušča iz kartuše. Vendar tekočina, ki pušča iz naprave, lahko zaide v druge dele sistema. Če vse deluje pravilno, je posoda za zbiranje tekočine suha.

Ocenitev puščanja

- 1 Nadenite si nov par rokavic brez prahu.

**OPOZORILO**

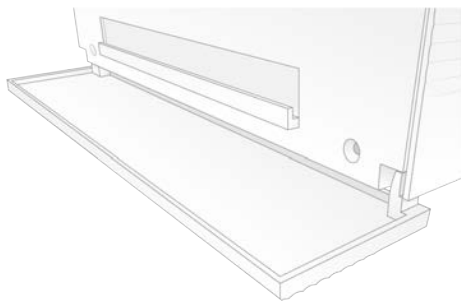
Ta nabor reagentov vsebuje kemikalije, ki so lahko nevarne. Do telesnih poškodb lahko pride zaradi vdihavanja, zaužitja, stika s kožo in z očmi. Uporabljajte zaščitno opremo, vključno z zaščito za oči, rokavicami in laboratorijsko haljo, glede na tveganje izpostavljenosti. Uporabljene reagente obravnavajte kot kemične odpadke in jih zavrzite v skladu z veljavnimi regijskimi, nacionalnimi in lokalnimi zakoni in uredbami. Če želite dodatne informacije o varovanju okolja in zdravja ter zagotavljanju varnosti, glejte »SDS« na spletnem mestu support.illumina.com/sds.html.

- 2 Upoštevajte zaslonska navodila za izmet kartuše.
- 3 Preglejte kartušo in preverite prisotnost morebitnih tekočin.
Majna količina tekočine (< 500 µl) na stekleni površini pretočne celice je sprejemljiva.

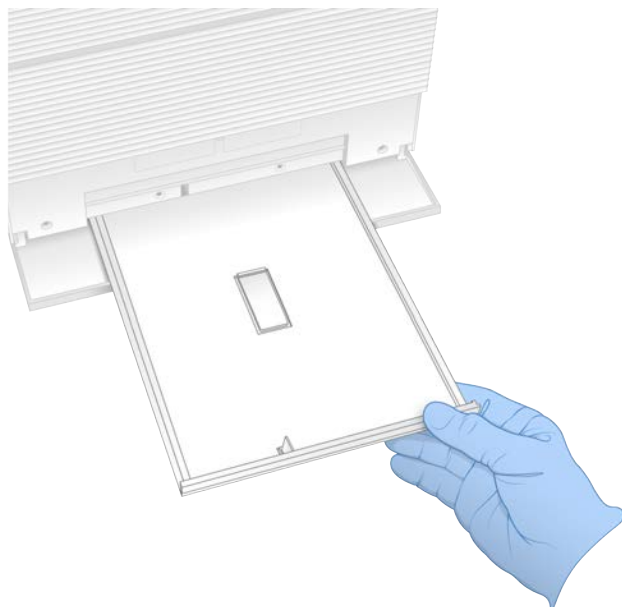
- 4 Če tekočine (ali sprejemljive volumne tekočine) ne opazite, nadaljujte s poglavjem *Čiščenje instrumenta*. Po čiščenju postopek preverjanja sistema potrdi normalno delovanje.
- 5 Če na pretočni celici, kartuši ali instrumentu opazite večjo količino tekočine, zaustavite sistem in ga izključite iz napajanja v skladu z navodili spodaj ter se obrnite na tehnično podporo družbe Illumina.
 - a V meniju izberite **Shut Down System** (Zaustavitev sistema).
 - b Če se ukaz za zaustavitev ne odziva, pritisnite in držite gumb za vklop/izklop na levi strani instrumenta, dokler se lučke ne ugasnejo.
 - c Ko gumb za vklop/izklop utripa, pritisnite stran na izklop (O) na preklopnem stikalu na zadnji strani instrumenta.
 - d Počakajte 30 sekund.
 - e Napajalni kabel iztaknite iz zidne električne vtičnice in nato še iz priklopa za električno napajanje na zadnji strani naprave.
 - f Če uporabljate ethernetni kabel, tudi tega najprej iztaknite iz zidne vtičnice in nato še iz ethernetnih vrat na zadnji strani naprave.

Čiščenje instrumenta

- 1 Zaradi varnosti instrument izklopite in izvlecite napajalni kabel iz vtičnice:
 - a V meniju izberite **Shut Down System** (Zaustavitev sistema).
 - b Če se ukaz za zaustavitev ne odziva, pritisnite in držite gumb za vklop/izklop na levi strani instrumenta, dokler se lučke ne ugasnejo.
 - c Ko gumb za vklop/izklop utripa, pritisnite stran na izklop (O) na preklopnem stikalu na zadnji strani instrumenta.
 - d Počakajte 30 sekund.
 - e Napajalni kabel iztaknite iz zidne električne vtičnice in nato še iz priklopa za električno napajanje na zadnji strani naprave.
 - f Če uporabljate ethernetni kabel, tudi tega najprej iztaknite iz zidne vtičnice in nato še iz ethernetnih vrat na zadnji strani naprave.
- 2 Poiščite vrata posode za zbiranje tekočine pod razdelkom za kartušo na sprednji strani instrumenta in jih spustite.



- 3 Odprite posodo za zbiranje tekočine in iz nje odstranite blazinico.



- 4 S papirnatimi brisačami obrišite morebitne ostanke tekočine na dnu posode.
- 5 Blazinico in druge potrošne materiale odvrzite skladno z veljavno zakonodajo, ki velja na vašem območju. Več informacij poiščite na varnostnem listu (SDS) na spletni strani support.illumina.com/sds.html.
- 6 V posodo za zbiranje tekočine položite novo blazinico.
- 7 Zaprite posodo za zbiranje tekočine in nato zaprite še pokrov posode za zbiranje tekočine.
- 8 S papirnatimi brisačami do suhega obrišite morebitne ostanke tekočine na instrumentu ali okoli njega.
- 9 Vključite instrument in ga priključite, kot je navedeno.
- a Na ethernetna vrata po potrebi priključite ethernetni kabel.
 - b Napajalni kabel priključite na vrata za električno napajanje na zadnji strani naprave in nato še na stensko vtičnico.
 - c Na zadnji strani naprave pritisnite preklopno stikalo na strani za vklop (I).
 - d Ko gumb za vklop/izklop utripa, ga pritisnite.
 - e Ko se operacijski sistem naloži, se prijavite v Windows.

Programska oprema za nadzor se zažene in inicializira sistem. Ko je inicializacija dokončana, se prikaže začetni zaslon.

- 10 Izvedite postopek preverjanja sistema, da potrdite normalno delovanje sistema. Uspešno opravljen postopek preverjanja sistema pomeni, da lahko nadaljujete z normalno uporabo instrumenta. Navodila najdete v poglavju *Preverjanje sistema na strani 49*.

Povrnitev na tovarniške nastavitve

Sistem povrnite na tovarniške nastavitve, ko želite programsko opremo zamenjati s starejšo različico, ne želite več uporabljati izbrane konfiguracije ali ko želite izbrisati uporabniške podatke, preden instrument vrnete družbi Illumina. Če sistem povrnete na tovarniške nastavitve, se pri tem odstrani vsa programska oprema, izbrisejo pa se tudi podatki s pogona C.

- 1 Če je shramba vzorčnih genomov za Local Run Manager na pogonu C:
 - a Shrambo premaknite v D:\Illumina\Genomes ali drugo lokalno oz. omrežno mapo, ki ni na pogonu C.
 - b V programski opremi Local Run Manager ponastavite pot do shrambe na D:\Illumina\Genomes ali drugo lokalno oz. omrežno mapo, ki ni na pogonu C. Za navodila glejte *Navodila za programsko opremo Local Run Manager (dokument št. 1000000002702)*.
- 2 Znova zaženite Windows.
- 3 Ko morate izbrati operacijski sistem, izberite **Restore to Factory Settings** (Povrni na tovarniške nastavitve). Za kratek čas se prikažejo možnosti operacijskega sistema, preden se samodejno namesti programska oprema za nadzor iSeq.
- 4 Postopek povrnitve traja približno 30 minut.
Med postopkom se sistem večkrat znova zažene. Ko je postopek dokončan, se sistem znova zažene s prvotnimi tovarniškimi nastavitvami, vendar brez programske opreme za nadzor.
- 5 Namestite programsko opremo za nadzor:
 - c Prenesite orodje za namestitev programske opreme na straneh s podporo za sistem za sekvenciranje iSeq 100. Orodje shranite na omrežno mesto ali prenosni pogon USB.
 - d Orodje za namestitev kopirajte na mesto C:\Illumina.
 - e Odprite iSeqSuiteInstaller.exe in sledite pozivom za namestitev.
 - f Ko je posodobitev dokončana, izberite **Finish** (Končaj).
 - g Znova zaženite instrument. Navodila so na voljo v razdelku *Ponovni zagon instrumenta na strani 48*.
- 6 Sledite pozivom na zaslonu, da nastavite sistem ter ga testirate s testno kartušo za večkratno uporabo in testno pretočno celico za večkratno uporabo.
- 7 Namestite kateri koli modul za analizo Local Run Manager:
 - a Preklopite v račun sbsadmin v operacijskem sistemu.
 - b Prenesite orodja za namestitev programske opreme na straneh za podporo za Local Run Manager. Orodja shranite na omrežno mesto ali prenosni pogon USB.
 - c Orodje za namestitev kopirajte na mesto C:\Illumina.
 - d Odprite orodje za namestitev (*.exe) in upoštevajte ukaze, da izvedete namestitev.
 - e Ko je posodobitev dokončana, izberite **Finish** (Končaj).

Dodatek C Napredna zamenjava

| | |
|--|----|
| Zamenjava sistema iSeq 100 | 55 |
| Prejem nadomestnega sistema | 55 |
| Priprava originalnega sistema na vračilo | 55 |
| Vračilo originalnega sistema | 58 |

Zamenjava sistema iSeq 100

V okviru sistema iSeq 100 so blazinice za zračni filter in posodo za zbiranje tekočine edini deli, ki jih je mogoče servisirati, zato Illumina za odpravljanje težav, ki jih ni mogoče rešiti oddaljeno, uporablja napredno zamenjavo.

V okviru napredne zamenjave se poškodovan ali okvarjen sistem zamenja s prenovljenim sistemom. Pred vrnitvijo originalnega sistema prejmete nadomestni sistem, da je čas zastoja kar najkrajši.

Regionalna razpoložljivost

Napredna izmenjava je na voljo v večini regij. V drugih regijah pomoč nudijo terenski inženirji. Pri tehnični podpori družbe Illumina se pozanimajte, kateri podprti modeli so na voljo v vaši regiji.

Prejem nadomestnega sistema

- 1 Če preverjanje sistema in drugi ukrepi za odpravljanje napak ne delujejo, se obrnite na tehnično podporo družbe Illumina.
 - ▶ Če je mogoče, izvedite še eno preverjanje sistema z drugo testno kartušo za večkratno uporabo in drugo testno celico za večkratno uporabo.
 - ▶ Rezultate preverjanja sistema posredujte tehnični podpori.

Če osebje iz tehnične podpore ne more odpraviti težave na daljavo, je sprožen postopek vrnitve in oddano naročilo za nadomestni sistem.
- 2 Ko prejmete nadomestni sistem:
 - ▶ Vzemite ga iz embalaže in ga namestite v skladu navodili v dokumentu *Plakat za nastavitev sistema za sekvenciranje iSeq 100 (dokument št. 1000000035963)*.
 - ▶ **Shranite vso embalažo**, saj jo boste potrebovali za pakiranje in vrnitev originalnega sistema in testnih komponent za večkratno uporabo.
 - ▶ Shranite dokumente o vračilu, ki vključujejo nalepko za vračilo službe UPS in carinsko izjavo (za mednarodne pošiljke).

Priprava originalnega sistema na vračilo

Originalni sistem, testno kartušo za večkratno uporabo in testno celico za večkratno uporabo vrnite družbi Illumina v roku 30 dni od prejetja nadomestka.

Zaustavitev in odklop

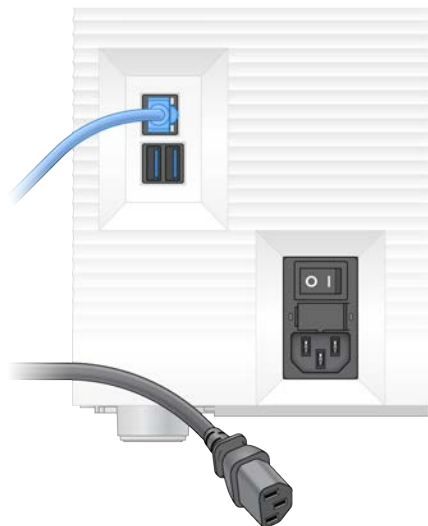
Če je sistem vklopljen, upoštevajte korake 1–3, da shranite in počistite podatke, preden varno zaustavite sistem. Izvedite preostale korake, da odstranite kartušo (po potrebi) in odklopite kable.

- 1 V Raziskovalcu kopirajte datoteke in mape, ki jih želite shraniti v prenosni pogon USB. Uporabnik sam izbere mesto za shranjevanje podatkov o sekvenciranju, privzeto mesto pa je pogon D.
- 2 Izbrišite datoteke in mape, v katere ne želite dovoliti vpogleda družbi Illumina.

- 3 Sistem zaustavite tako, da upoštevate spodnja navodila.
 - a V meniju izberite **Shut Down System** (Zaustavitev sistema).
 - b Če se ukaz za zaustavitev ne odziva, pritisnite in držite gumb za vklop/izklop na levi strani instrumenta, dokler se lučke ne ugasnejo.
 - c Ko gumb za vklop/izklop utripa, pritisnite stran na izklop (**O**) na preklopnem stikalu na zadnji strani instrumenta.
- 4 Če je kartuša v instrumentu, znova zaženite sistem in odstranite kartušo po navodilih v nadaljevanju.
 - a Na zadnji strani naprave pritisnite preklopno stikalo na strani za vklop (**I**).
 - b Ko gumb za vklop/izklop utripa, ga pritisnite.
 - c Ko se operacijski sistem naloži, se prijavite v Windows.
 - d V programski opremi za nadzor izberite **System Check** (Preverjanje sistema).
 - e Izberite **Unload** (Odstrani), da se odpre razdelek s kartušo, in odstranite kartušo s pladnja.
 - f Če se razdelek s kartušo ne odpre, se za nadaljnja navodila obrnite na tehnično podporo družbe Illumina.
 - g Izberite **Load** (Vstavi), da naprava nazaj povleče prazen pladenj in zapre vrata.
 - h Zaprite pogovorno okno »System Check« (Preverjanje sistema) in zaustavite sistem.

Sistem morate nujno zaustaviti in znova zagnati, če želite odstraniti kartušo.

- 5 Napajalni kabel iztaknite iz zidne električne vtičnice in nato še iz priklopa za električno napajanje na zadnji strani naprave.



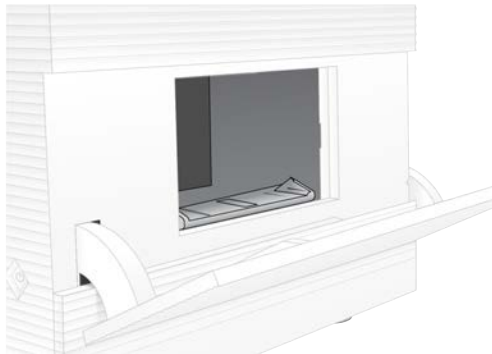
- 6 Po potrebi odklopite:
 - ▶ Ethernetni kabel iztaknite iz zidne vtičnice in nato še iz ethernetnih vrat na zadnji strani naprave.
 - ▶ Tipkovnico in miško iztaknite iz vrat USB na zadnji strani naprave.

Dekontaminacija instrumenta

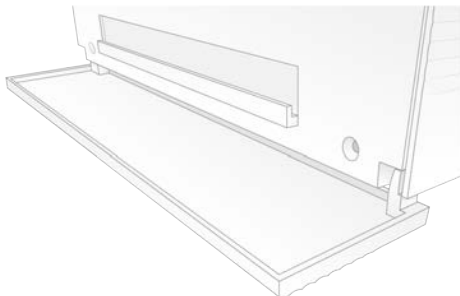
Pred pošiljanjem instrumenta je treba izvesti postopek dekontaminacije, ki ga mora potrditi Illumina. Zaradi nevarnosti, ki se lahko pojavijo na določenem mestu, je lahko potrebna dodatna dekontaminacija.

Dekontaminacija z belilom

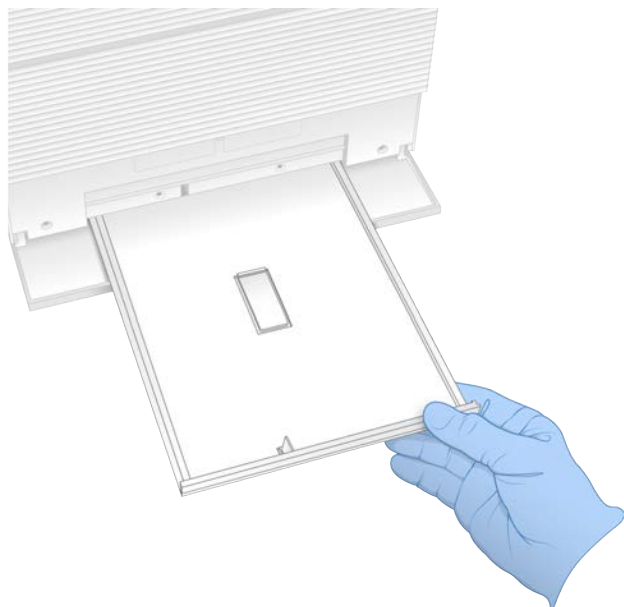
- 1 Nadenite si nov par rokavic brez prahu.
- 2 Spustite monitor instrumenta.
- 3 Na stranskih robovih pazljivo povlecite vrata razdelka s kartušo proti sebi, da jih odprete.



- 4 Z blazinico z belilom v celoti počistite vrata razdelka:
 - ▶ Notranji del vrat
 - ▶ Zunanji del vrat
 - ▶ Tečajji vrat
- 5 Zaprite vrata razdelka za kartušo.
- 6 Poiščite vrata posode za zbiranje tekočine pod razdelkom za kartušo na sprednji strani instrumenta in jih spustite.



- 7 Odprite posodo za zbiranje tekočine in iz nje odstranite blazinico.



- 8 S papirnatimi brisačami obrišite morebitne ostanke tekočine na dnu posode.
- 9 Blazinico in druge potrošne materiale odvrzite skladno z veljavno zakonodajo, ki velja na vašem območju. Več informacij poiščite na varnostnem listu (SDS) na spletni strani support.illumina.com/sds.html.
- 10 Z blazinico z belilom očistite posodo za zbiranje tekočine.
- 11 Počakajte 15 minut, da začne belilo učinkovati.

Nevtralizacija z alkoholom

- 1 Krpo ali papirnato brisačo navlažite z vodo. Sprejemljiva je vsakršna voda, tudi iz pipe.
- 2 Z vlažno krpo ali papirnatimi brisačami obrišite te komponente:
 - ▶ Posodo za zbiranje tekočine
 - ▶ Vrata razdelka s kartušo (notranjost in zunanost ter tečaje)Voda prepreči mešanje belila in alkohola.
- 3 Z alkoholnimi robčki znova obrišite te komponente:
 - ▶ Posodo za zbiranje tekočine
 - ▶ Vrata razdelka s kartušo (notranjost in zunanost ter tečaje)Alkohol odstrani ostanke belila, zaradi katerega lahko pride do korozije.
- 4 Vrata posode za zbiranje tekočine in vrata razdelka za kartušo naj bodo zaprta.
- 5 Laboratorijsko mizo okrog instrumenta očistite z robčki z belilom ali čistilom z belilom.

Vračilo originalnega sistema

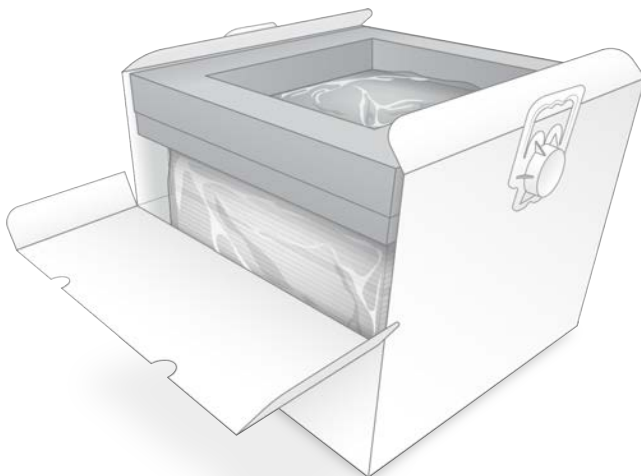
Pakiranje instrumenta

- 1 Naredite prostor v laboratoriju za instrument in embalažo.

- 2 Blazinico iz pene vstavite med spuščeni zaslon in instrument.
- 3 Instrument pokrijte s sivo plastično vrečko.



- 4 Odprite sprednji zavihek bele škatle.
- 5 Instrument položite v belo škatlo tako, da je sprednja stran obrnjena proti vam.
- 6 Kvadratni kos pene položite čez instrument, tako da tanjši strani pene pokrivata sprednjo in zadnjo stran instrumenta. Pena naj ne gleda iz vrha škatle.



- 7 Zaprite sprednji zavihek in nato še vrh škatle.

Pakiranje testne opreme za večkratno uporabo

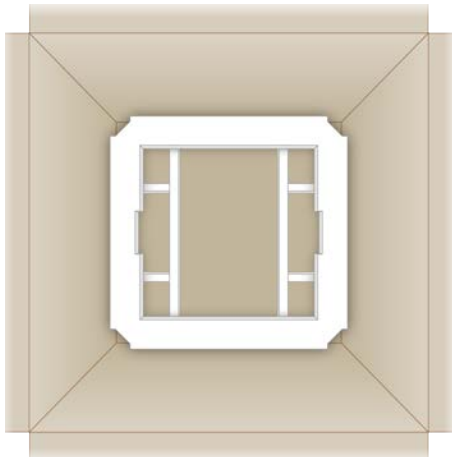
- 1 Testno kartušo za večkratno uporabo i1 za iSeq 100 vstavite v večjo vrečko in jo zaprite.
- 2 Testno pretočno celico za večkratno uporabo i1 za iSeq 100 vstavite v škatlo na preklop.
- 3 Škatlo na preklop vstavite v manjšo vrečko in jo zaprite.
- 4 Obe vrečki položite v škatlo s pripomočki sistema za sekvenciranje iSeq 100.



- 5 Zaprite škatlo s pripomočki.

Odprema sistema

- 1 Če ste z dna rjave škatle za pošiljanje odstranili zaščitno blazinico, jo položite nazaj vanjo.



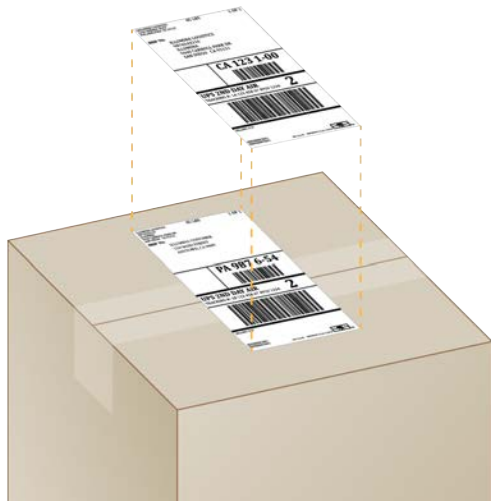
- 2 Belo škatlo primite za ročaje in jo dvignite (svetujemo, da to naredita dva človeka) ter jo nato vstavite v rjavo škatlo. Obrnjena je lahko poljubno.



OPOZORILO

Belo škatlo morate poslati znotraj rjave škatle. Bela škatla ni namenjena ali označena za pošiljanje.

- 3 Na vrh bele škatle položite zaščitno peno.
- 4 Škatlo s pripomočki postavite na sredino zaščitne pene.
- 5 Na vrh škatle s pripomočki položite črno blazinico.
- 6 **[Neobvezno]** Kamor koli v rjavo škatlo položite ethernetni in napajalni kabel.
- 7 Zaprite rjavo škatlo in jo zaščitite z lepilnim trakom.
- 8 Nalepko za vračilo nalepite čez originalno nalepko ali pa odstranite originalno nalepko.



- 9 **[Mednarodna pošiljka]** Na škatlo pošiljke prilepite carinsko izjavo.
- 10 Instrument pošljite nazaj družbi Illumina prek dostavne službe UPS.
 - ▶ Če služba UPS redno dostavlja pošiljke v vaš laboratorij, vozniku dajte škatlo s pošiljko.
 - ▶ Če služba UPS ne dostavlja pošiljk v vaš laboratorij, obvestite podporo za stranke družbe Illumina, da se dogovori za vračilo vaše pošiljke.

Kazalo

%

%Clusters PF 28, 31
%Occupancy 20, 28, 31
%PF 20, 28, 31, 45

A

algoritem Phred 46
alkoholni robčki 18
AmpliSeq Library PLUS for Illumina 20
analiza
 izven instrumenta 20
 metode 5, 20
 načini 20
 stanje 7
analiza izven instrumenta 20
analiza slike 5
analiza v oblaku 1

B

BaseSpace Sequence Hub 1
 hitre nastavitve 12
 prenos datoteke 7
 zahteve za vzorčni list 14
baze G 45
baze, šifriranje podatkov 44
bela škatla 58
beliseznam, pravilnik z omejitvami programske
 opreme 38
blazinice 18, 52, 57
brisanje izvedb 6, 33
brisanje podatkov 55

C

carinska izjava 60
Chromium
 odpiranje 26
 prazen zaslon 26
cikli odčitavanj 30
cikli zamrzovanja in odmrzovanja 21

Č

čiščenje pretočnih celic 49

D

datoteke BCL 6, 41
datoteke FASTQ 29, 41
datoteke InterOp 41
datoteke za dodelitev baze 20, 41
datum poteka 9, 35
delci recepta 6
deli, ki jih je mogoče servisirati 55
delovne skupine 27, 30
denaturiranje 20
denaturiranje knjižnic 20, 22
DesignStudio 1
diagnostika 49
disk D 6, 33
dnevniške datoteke 43
dodatni cikli 21
dodelitev baze 5, 20, 45
dokumentacija 1, 68
določitev kemične sestave snovi
 kontrolnik 23
 načrtovanje 1
dolžine odčitavanja 21
domene 13

E

EEPROM 7
električna vtičnica 3
električni kabel 3, 52
električni vmesnik 8, 25
električno napajanje
 izhod 52
 priklop 37, 55
elektronski odpadki 29, 32, 48
embalaža
 odpiranje 22
 odstranjevanje 25
 pretočna celica 22, 25
 vračilo pošiljke 55
 zavrženje 22
eno odčitavanje 27, 30
enobarvno sekvenciranje 44-45
epruvete, nizka vezava 22
ethernet 3, 37
ethernet, vklop 17
ethernetna vrata 52, 55
ethernetni kabel 52, 55

F

- faziranje 44
- faziranje in predfaziranje 21
- filtriranje datotek 41
- filtriranje gruč 45
- formamid 29, 32

G

- garancija 18
- gesla
 - privzeti pravilniki 11
 - spreminjanje 11
- gostujoče lokacije 12-13
- GPO 38
- gruče
 - filtriranje 45
 - lokacije 41
 - optimiziranje 20
- gumb za vklop/izklop 37, 48
- Gumb za vklop/izklop 3

H

- hitre nastavitve 12

I

- ikona pomoči 29
- ikona za pomoč 26
- ikone 6, 9
- Illumina Proactive Support 12-13
- ime izvedbe 30
- imena računalnika 6
- indeksi
 - cikli 9, 21
 - odčitavanja 30
 - sekvence vmesnika 45
- indeksi IDT for Illumina TruSeq UD 45
- inicializacija 37, 49, 53
 - neuspela 48
- instrument
 - namestitve 55
 - teža 37
- iReagent i1 za Seq 100 7
- iSeq 100 System Test Kit 49
- izbirnik protokola po meri 2
- izgubljene povezave 48
- izključiti 52

- izklop 52, 56
- izvedbe
 - nadzor v središču BaseSpace Sequence Hub 12-13
 - shranjevanje v središču BaseSpace Sequence Hub 12-13
 - stanje preverjanja 6, 28, 31
 - število 6, 42
 - urejanje parametrov 27
 - velikost 15, 33

J

- jakosti 44

K

- kartuša
 - embalaža 21-22
 - odstranjevanje 29, 32, 48
 - shranjevanje 7, 48
 - smer vstavljanja 26, 29
 - videoposnetek priprave 22
 - zatakajena v instrumentu 55
- knjižnice 1, 8
 - denaturiranje 20
 - shranjevanje 1 nM 22
 - začetne koncentracije 22
 - združljivo 23
- knjižnice kontrolnika 11, 23
- knjižnice z dvema verigama 22
- koda paketa 9
- komplet za testiranje 18
- komplet za testiranje sistema iSeq 100
 - System 18
- kompleti 7, 18
- Kompleti
 - kataloške številke 18
- kompleti z reagenti 7
- kompleti za pripravo knjižnic 20
- kompleti za pripravo knjižnice 1
- koncentracije ob vstavljanju 20
- Koncentracije ob vstavljanju 23
- končanje izvedb sekvenciranja 48
- konfiguracijske datoteke 41
- konvertiranje datotek 41
- koraki v instrumentu 20
- Korozija, preprečevanje 58

L

- laboratorijske halje 21
- Local Run Manager 5
 - dokumentacija 1, 27
 - hitre nastavitve 12
 - moduli 33
 - navodila za poteke dela 27
 - oddaljeni dostop 26
 - prenosi 33
 - stanje 7
 - ustvarjanje izvedb 26
 - vzorčni listi
 - ustvarjanje 14
- lokalizirane nastavitve 12-13
- lokalna analiza 1

M

- Maksimiranje programske opreme za nadzor 12
- mapa izvedbe 33, 42
- mapa z odčitki 7, 16, 27, 30, 33, 41
 - dostopanje 12
 - privzeto mesto 16, 42
- mednarodne pošiljke 60
- meritve čistosti 45
- metrika donosa 28, 31
- metrika projiciranega skupnega donosa 28, 31
- mikroeprovete z nizko vezavo 22
- miška 3, 12
- monitor 3
- možnosti analize podatkov 12-13
- možnosti vmesnika, WiFi 17

N

- način Local Run Manager, vizitka 26
- načini normalizacije 22
- nadaljevanje izvedb sekvenciranja 48
- nadomestni RSB 18
- nadzor kakovosti, knjižnice 22
- nadzor na daljavo 27, 30
- najmanjše število ciklov 21
- največje število ciklov 21
- nalepke za pošiljanje 60
- namestitev programske opreme 33
- nano vdolbinice 44
- napajalni kabel 37, 55
- napake 6, 43, 48
 - sporočila 47

- verjetnost 46
- napake v postopkih preverjanja pred izvedbo 49
- naročnine za podjetja 13
- naslovi IP 6
- nastavitev izvedbe
 - konfiguriranje možnosti 12-13
 - okna 26
 - zasloni 29
- nastavitve
 - urejanje 12-13
 - začetno nastavljanje 11
- nastavitve konfiguracije 43
- Nastavitve sistema 11, 15
- nastavitve zvoka 15
- navodila za združevanje 45
- nedokončan postopek 47
- neuspešno opravljeno preverjanje sistema 49
- nevarne kemikalije 9, 29, 32
- Nextera DNA Flex 20
- Nextera Flex for Enrichment 20
- notranji pogoni 16
- nukleotidi 20, 44

O

- oblika zapisa datoteke TSV 43
- ocene kakovosti 20, 28, 31, 46
- odčitavanje v paru 27, 30
- oddaljeni dostop 26
- odpiranje embalaže 55
- odstotek polnosti 20, 28, 31
- okno za dostop, kartuša 8
- omrežje
 - navodila 16
 - privzete nastavitve 16
- operacijski sistem 37, 49, 53
- opozorila 6, 33-34, 43, 48
- opravilna vrstica Windows 12
- oprijemalne točke 8, 25
- optični senzor 8
- optimiziranje koncentracije ob vstavljanju 20
- orodje za namestitev zbirke sistema 33
- osebna varovalna oprema 21
- osvetljevalnik 8

P

- pakiranje 60
 - kartuša 21
- pas, pretočna celica 8
- PF 45

- PhiX 11, 18, 23
 - Pladenj 4
 - pladenj za kartušo 4
 - plakat za nastavitve 2, 55
 - ploščice 41
 - podatki o učinkovitosti 27, 30
 - podpora strankam 68
 - podprti modeli 55
 - podsystemi 49
 - pogoji shranjevanja 7, 9
 - pogon C 16, 53
 - pogon D 16, 55
 - poimenovanje
 - ime računalnika 6
 - vzdevek instrumenta 15
 - vzorčni listi 14
 - pomnožitev 20
 - pomoč za Windows 10 17
 - pomoč, tehnična 68
 - ponoven zagon 47
 - ponovni zagon 17, 28, 31, 47, 53
 - posoda za zbiranje tekočine 51
 - blazinice 18, 55
 - mesto 52, 57
 - vrata 52, 57
 - posodobitve vdelane programske opreme 34
 - potrošna oprema
 - odstranjevanje 29, 32
 - skeniranje 26, 29
 - potrošni material
 - sledenje 7
 - spremljanje 1
 - potrošni materiali
 - embalaža 9
 - ponovna uporaba 28, 31
 - pragi kakovosti 45
 - pranja 8
 - pravice, skrbniški račun 39
 - prazen zaslon, Chromium 26
 - predal za potrošni material 3
 - predfaziranje 44
 - predloga, vzorčni list 14, 29
 - predmet pravilnika skupine 38
 - preklopno stikalo 3, 37, 48
 - premikanje 3, 37
 - prenovitev 55
 - pretočne celice
 - odstranjevanje 29, 32
 - shranjevanje 7
 - število ciklov 9
 - vrstice 8
 - pretvorba datotek 41
 - preverjanja sistema 51, 53
 - preverjanje instrumenta 28, 31
 - preverjanje pretoka 28, 31
 - preverjanje sistema 47
 - rezultati 49
 - trajanje 49
 - priprava mesta 16, 37, 58
 - Priprava mesta 2
 - privzeta mapa z odčitki 16, 27
 - privzete nastavitve pravilnika z omejitvami
 - programske opreme 38
 - programska oprema
 - namestitve 33
 - nastavitve posodabljanja 15-16
 - opozorila o posodobitvah 34
 - zamenjava s starejšo različico 53
 - združljivost reagentov 7
 - programska oprema za pretvorbo bcl2fastq2 41
 - proizvajalec 9
 - prostor na disku 6, 33
 - pufer za resuspendiranje 18, 22
 - puščanje 51
- ## Q
- Q30 28, 31
- ## R
- raznolikost baze 45
 - raznolikost osnove 23
 - reagenti 7-8
 - mešanje 22
 - odstranjevanje 29, 32, 48
 - shranjevanje 7
 - združljivost programske opreme 7
 - reagenti i1 za iSeq 100 18
 - recepti, programska oprema 33
 - redčenje knjižnic 20
 - rezervni deli 35
 - rezervoar knjižnice 24
 - RFID 2, 7
 - robčki z belilom 18
 - ročne posodobitve programske opreme 33
 - ročni način
 - datoteke FASTQ 29
 - vizitka 29
 - Ročni način
 - datoteke FASTQ 41
 - RunInfo.xml 41

S

- samodejne posodobitve 33
- samodejni začetek izvedbe 28, 31
- sbsadmin vs. sbsuser 11
- SDS 52, 57
- sekvence vmesnika 14, 29
- sekvenciranje
 - cikli 9
 - odčitavanje 9
 - potek dela 1
- Sekvenciranje naslednje generacije 1
- sekvenciranje z eno barvo 20
- senzorji 48
- senzorji CMOS 8, 25, 42
- Sequencing Analysis Viewer (Pregledovalnik analize sekvenciranja) 41
- serijske številke 6, 9, 42
- shranjevanje
 - komplet z reagenti 7
 - razredčene knjižnice 22
- Shranjevanje
 - odmrznjene kartuše 21
- skrbniški račun 11, 39
- sledenje potrošnega materiala 7
- sličice 15
- sličice, shranjevanje 15
- slike 15, 41, 43-44
- smeri za i5 29
- smeri za indeks 2 29
- specifikacije hladilnika 19
- specifikacije zamrzovalnika 19
- spremljanje potrošnega materiala 1
- strani s podporo, spletno mesto 33
- substituent za RSB 22
- suhi led 21

Š

- škafli s pripomočki 59
- številke delov 9
- številke katalogov 18

T

- tabele kakovosti 46
- tehnična pomoč 68
- tekočine, puščanje 51
- tekočinski elementi 8
- terenski inženirji 55

- tesna pretočna celica za večkratno uporabo 55
- tesnilo 25
- testna kartuša za večkratno uporabo 49, 55
- testna pretočna celica za večkratno uporabo 49
- teža 37
- tipkovnice 3, 12
- tovarniške nastavitve 53
- trdi disk 6, 33
- TruSeq DNA Nano 20
- TruSeq DNA PCR-Free 20

U

- učinkovitost demultipleksiranja 45
- ukazne vrstice 17
- Universal Copy Service 5, 7, 16, 33
- uporaba belila 57
- uporabljeni reagenti 4, 8
- uporabniški račun 11
- upravljanje postopka 28, 31, 33
- UPS 60
- urejanje parametrov izvedbe 27
- uskladitev PhiX 45
- uskladitev specifikacij 48
- uspešno filtrirano 20, 28, 31
- uspešno opravljeno preverjanje sistema 49
- ustavitev izvedb sekvenciranja 48
- ustavljen postopek 47
- Utišanje 15

V

- varnost 38
 - prilagajanje 39
- varnost in skladnost s predpisi 2
- varnostni list 29, 32, 51
- varnostni listi 52, 57
- ventilatorji 35
- vmesniki indeksa i5 30
- vmesniki indeksa i7 30
- vnovična priključitev 53
- vodne kopeli 21
- vračanje sistemov 55
- vračila
 - dokumenti 55
 - nalepke 60
 - roki 55
- vrata
 - ročno odpiranje 57
 - zapiranje 26, 29
 - zasnova 4

- vrata USB 3, 34
- vrste odčitavanj 21, 30
- vrste računov 11
- vrstica stanja 3
- vrstica z lučkami 3
- vzdevek 15
- vzorčne pretočne celice 8
- vzorčni listi 27, 29-30, 43
 - poimenovanje 14
 - predloge 14, 29
- vzorčni manifest 43

W

- WiFi, vklop 17
- Windows
 - nastavitve 17
 - prijava 37, 49, 53
 - računi 11
 - varnost 38

Z

- začetne koncentracije 22
- začetno nastavljanje 35, 53
- zajemanje slike 20
- zamenjava programske opreme s starejšo različico 53
- zasebne domene 13
- zaščitna očala 21
- zataknjena kartuša 55
- zaustavitev 37, 48, 52, 56
- zavihek Nastavitve 11-12
- zavihek Omrežni dostop 11, 16
- zavihek Prilagoditev 11, 15
- zbirka programske opreme 1, 5
- združljive knjižnice 23
- zidna vtičnica 52, 55
- zračni filtri 55
 - dodatni filtri 18
 - položaj 35
- zunanjji pogoni 16
- zvočne nastavitve 15

Tehnična pomoč

Če želite tehnično pomoč, se obrnite na tehnično podporo družbe Illumina.

Spletno mesto: www.illumina.com
E-pošta: techsupport@illumina.com

Telefonske številke tehnične podpore družbe Illumina

| Regija | Brezplačna št. | Regionalna št. |
|---------------------|------------------|-----------------|
| Severna Amerika | +1 800 809 4566 | |
| Avstralija | +1 800 775 688 | |
| Avstrija | +43 800006249 | +43 19286540 |
| Belgija | +32 80077160 | +32 34002973 |
| Kitajska | 400 066 5835 | |
| Danska | +45 80820183 | +45 89871156 |
| Finska | +358 800918363 | +358 974790110 |
| Francija | +33 805102193 | +33 170770446 |
| Nemčija | +49 8001014940 | +49 8938035677 |
| Hongkong | 800960230 | |
| Irska | +353 1800936608 | +353 016950506 |
| Italija | +39 800985513 | +39 236003759 |
| Japonska | 0800.111.5011 | |
| Nizozemska | +31 800 022 2493 | +31 207 132 960 |
| Nova Zelandija | 0800 451 650 | |
| Norveška | +47 800 16836 | +47 21939693 |
| Singapur | +1 800 579 2745 | |
| Španija | +34 911899417 | +34 800300143 |
| Švedska | +46 850619671 | +46 200883979 |
| Švica | +41 565800000 | +41 800200442 |
| Tajvan | 00806651752 | |
| Združeno kraljestvo | +44 8000126019 | +44 2073057197 |
| Druge države | +44 1799 534000 | |

Varnostni listi – na voljo na spletnem mestu družbe Illumina na naslovu support.illumina.com/sds.html.

Dokumentacija izdelka – na voljo za prenos v obliki zapisa PDF na spletnem mestu družbe Illumina. Pojdite na support.illumina.com, izberite izdelek, nato pa izberite razdelek **Dokumentacija in literatura**.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (zunaj Severne Amerike)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Samo za raziskave. Ni namenjeno uporabi v diagnostičnih postopkih.

© 2019 Illumina, Inc. Vse pravice pridržane.

illumina[®]