

iSeq 100

Guide för sekvenseringssystem



Dokumentet och dess innehåll tillhör Illumina, Inc. och dess dotterbolag ("Illumina") och är endast avsett för användning enligt avtal i samband med kundens bruk av produkterna som beskrivs häri. Allt annat bruk är förbjudet. Dokumentet och dess innehåll får ej användas eller distribueras i något annat syfte och/eller återges, delges eller reproduceras på något vis utan föregående skriftligt tillstånd från Illumina. I och med detta dokument överlåter Illumina inte någon licens som hör till dess patent, varumärke eller upphovsrätt, eller i enlighet med rättspraxis eller liknande tredjepartsrättigheter.

Instruktionerna i detta dokument ska följas till punkt och pricka av kvalificerad och lämpligt utbildad personal för att säkerställa rätt och säker produktanvändning i enlighet med beskrivning häri. Hela innehållet i dokumentet ska läsas och förstås i sin helhet innan produkten (produkterna) används.

UNDERLÅTENHET ATT LÄSA OCH FÖLJA ALLA INSTRUKTIONER HÄRI I SIN HELHET KAN MEDFÖRA SKADA PÅ PRODUKTEN/PRODUKTERNA, PERSONSKADA, INKLUSIVE SKADA PÅ ANVÄNDAREN/ANVÄNDARNA ELLER ANDRA PERSONER SAMT SKADA PÅ ANNAN EGENDOM, OCH LEDER TILL ATT EVENTUELL GARANTI FÖR PRODUKTEN/PRODUKTERNA BLIR OGILTIG.

ILLUMINA KAN INTE ÅLÄGGAS NÅGOT ANSVAR SOM UPPKOMMER GENOM FELAKTIG ANVÄNDNING AV PRODUKTERNA SOM BESKRIVS HÄRI (INKLUSIVE DELAR DÄRI ELLER PROGRAM).

© 2019 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

Alla varumärken tillhör Illumina, Inc. eller respektive ägare. Specifik varumärkesinformation finns på www.illumina.com/company/legal.html.

Revisionshistorik

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000036024 v05	Mars 2019	<p>Programbeskrivningarna av iSeq Control Software v1.4 har uppdaterats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anvisningarna för hur systeminställningarna konfigureras har uppdaterats, inklusive anvisningarna för hur du flyttar och byter namn på vissa gränssnittselement. • Beskrivningar av måtten %Clusters PF (% godkända kluster) och %Occupancy (% mättnad), som visas på skärmen Sequencing (Sekvensering), har lagts till. • Mappade nätverksenhetsplatser för provark och utdatamappar tillåts nu. • Information om att programmet automatiskt byter namn på provark till SampleSheet.csv har lagts till. <p>Länkar har lagts till för följande sidor:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Provarksmallen för manuellt läge för iSeq 100-system. • Hjälpssidorna för konverteringsprogrammet bcl2fast. <p>Volymer har lagts till för bibliotekstyperna 100 % PhiX och AmpliSeq Library PLUS för Illumina.</p> <p>Anvisningar för hur databasen med referensgenom för Local Run Manager kan flyttas till en annan plats än enheten C när systemets fabriksinställningar återställs har lagts till.</p> <p>Det rekommenderade maximala antalet cykler för indexavläsning 1 och indexavläsning 2 har höjts till 10 cykler var.</p> <p>Antalet cykler som patronen stöder har höjts till 322.</p> <p>En referens till <i>Optimeringsguide för kluster (dokumentnr 1000000071511)</i> har lagts till för att ge ytterligare information om hur inläsningskoncentrationen kan optimeras.</p> <p>Det har förtydligats att en patron som ska tinas i ett vattenbad måste förvaras vid -25 °C till -15 °C i minst en dag innan den tinas.</p> <p>AmpliSeq för Illumina Library PLUS har rättats till AmpliSeq Library PLUS för Illumina.</p>

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000036024 v04	Oktober 2018	<p>Rekommenderade inläsningskoncentrationer och utspädningsanvisningar för Nextera DNA Flex for Enrichment-, TruSeq DNA Nano- och TruSeq DNA PCR-Free-bibliotek har lagts till.</p> <p>Information om en noramliseringsmetod som inte generar enkelsträngade bibliotek har lagts till.</p> <p>Beskrivningar av de två körningslägena, Local Run Manager och manuellt läge, har lagts till.</p> <p>En valfri spikning på 5 % PhiX har lagts till och syftet med varje spikningsprocent har definierats.</p> <p>Följande steg har lagts till:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Växla till administratörskontot (sbsadmin) i operativsystemet vid installation av kontrollprogrammet, analysmoduler och andra program. • Utför en kall omstart av instrumentet när det ska återställas till fabriksinställningarna. <p>En hänvisning till <i>Adaptersekvenser för Illumina (dokumentnr 1000000002694)</i> har lagts för fastställande av riktning för Index 2 (i5) på ett provark.</p> <p>Följande har förtydligats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Patroner måste användas direkt efter upptining. • Inläsningskoncentrationerna som anges för Nextera DNA Flex- och Nextera Flex for Enrichment-bibliotek gäller inte för andra Nextera-bibliotekstyper. • SureCell WTA 3' är inte ett kompatibelt bibliotek.
Dokumentnr 1000000036024 v03	Augusti 2018	<p>Programbeskrivningarna av iSeq Control Software v1.3 har uppdaterats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anvisningar för konfiguration av Universal Copy Service har lagts till. • Fliken Network Configuration (Nätverkskonfiguration) har döpts om till Network Access (Nätverksåtkomst). • Anvisningar för hur Local Run Manager öppnas från kontrollprogrammet har lagts till. <p>Utdata-mappens standardplats har ändrats till D:\SequencingRuns.</p> <p>Anvisningar för hur systemet ansluts till en proxyserver har lagts till.</p> <p>Det har lagts till ett villkor för att ange en UNC-sökväg för platserna för utdata-mapp och provark på nätverket.</p> <p>Information har lagts till om kraven som måste uppfyllas för att konfigurera en utdata-mappsplats på en intern enhet, extern enhet eller nätverksplats.</p> <p>Anvisningar har lagts till för hur provark skapas i manuellt läge under det första steget i körningskonfigurationen.</p> <p>Anvisningarna för hur systemsvitens installationsguide används har rättats.</p> <p>Beskrivningen av miniatyrfilerna har rättats.</p>
Dokumentnr 1000000036024 v02	Juni 2018	<p>Rör som används för utspädning av bibliotek har uppdaterats till Fisher Scientific, katalognr 14-222-158, eller liknande rör med låg bindning.</p> <p>Ett avsnitt som beskriver den regionala tillgängligheten för avancerat byte har lagts till.</p> <p>Det har förtydligats att bibliotek som späts ut till en inläsningskoncentration måste sekvenseras samma dag.</p> <p>Det har förtydligats att patronen med reagenser måste avlägsnas från lådan vid upptining.</p>

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000036024 v01	Maj 2018	<p>Programbeskrivningarna av iSeq Control Software v1.2 har uppdaterats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alternativet att gå till ett hämtat installationsprogram från kontrollprogrammet har lagts till. • Anvisningar för hur miniatyrer sparas har lagts till. • Nätverksinställningarna har flyttats till fliken Network Configuration (Nätverkskonfiguration). • Det maximala antalet användningar av de återanvändbara testkomponenterna har höjts till 36 och information om att resterande antal användningar visas på skärmen har lagts till. <p>Information om Local Run Manager har uppdaterats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Steg för att öppna Local Run Manager och konfigurera en körning har lagts till. • RNA Amplicon har lagts till som en förinstallerad analysmodul, och DNA Enrichment och DNA Resequencing har lagts till som andra moduler som stöds. • Referenser till dokumentet <i>Programhandbok för Local Run Manager (dokumentnr 100000002702)</i> har uppdaterats. <p>Anvisningarna för upptining av en patron har uppdaterats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alternativet att tina i rumstemperatur har lagts till. • Mer utförliga anvisningar för vattenbad, inklusive förvaring innan upptining, har lagts till. <p>Anvisningarna för hur bibliotek förbereds inför sekvensering har uppdaterats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inläsningskoncentrationen för Nextera DNA Flex har uppdaterats till 200 pM. • En första inläsningskoncentration för bibliotekstyper som inte finns med i listan har lagts till. • Information om måttet mättnadsprocent har lagts till. • Volymen för en spikning av 1 nM PhiX har höjts till 50 µl. <p>Följande Illumina-katalognummer har uppdaterats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reservdyna till iSeq 100-dropplåda till 20023927. • Reservluftfilter för iSeq 100-system till 20023928. <p>Uppdaterade rekommendationer för pipetter och pipettspetsar.</p>

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000036024 v01	Maj 2018	<p>Följande anvisningar har lagts till:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Utföra valideringskörningar. • Skapa ett provark vid sekvensering i manuellt läge. • Minimera kontrollprogrammet för att få åtkomst till andra program. <p>Följande steg har lagts till i systemkontrollen:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mata ut och förvara återanvändbara testkomponenter. • Avlägsna synligt skräp från den återanvändbara testflödescellen. <p>Följande innehåll omorganiserades för att förbättra kontinuiteten:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anvisningarna för hur en körning med endast PhiX utförs slogs samman med anvisningarna för standardförfarandet vid sekvensering. • Anvisningarna för hur en flödescell förbereds slogs samman med anvisningarna för utspädning av bibliotek. • Anvisningarna för spikning med PhiX slogs samman. • Information om antalet cykler i en körning flyttades. • Real-Time Analysis flyttades och bytte namn till <i>Sequencing Output</i> (Utdata från sekvensering). <p>Diagrammet över arbetsflödet för felmeddelanden förenklades. Information om surfplatteläge och skrivbordsläge togs bort. Operativsystemet körs som standard i skrivbordsläge och surfplatteläge är inte nödvändigt. Kravet på att slutföra och returnera ett dekontamineringsintyg för avancerat byte togs bort. Den genomsnittliga körningsstorleken har rättats till 2 GB.</p>
Dokumentnr 1000000036024 v00	Februari 2018	Första version.

Innehållsförteckning

Kapitel 1 Översikt	1
Inledning	1
Ytterligare resurser	2
Instrumentets delar	3
iSeq 100 i1-reagens	7
Kapitel 2 Komma igång	11
Första installation	11
Minimera kontrollprogrammet	11
Körningsinställningar	12
Anpassa instrumentet	14
Nätverkskonfiguration	16
Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren	17
Kapitel 3 Sekvensering	20
Inledning	20
Tina den förpackade patronen	21
Förbereda flödescellen och bibliotek	22
Föra över förbrukningsmaterial till patronen	24
Konfigurera en sekvenseringskörning (Local Run Manager)	26
Konfigurera en sekvenseringskörning (manuellt läge)	29
Kapitel 4 Underhåll	33
Frigöra utrymme på hårddisken	33
Programuppdateringar	33
Byta ut luftfiltret	35
Flytta instrumentet	36
Principer för begränsning av programvara	38
Bilaga A Utdata från sekvensering	40
Översikt över realtidsanalys	40
Arbetsflöde för Real-Time Analysis	42
Bilaga B Felsökning	46
Åtgärda felmeddelanden	46
Avbryta en påbörjad körning	47
Använda kall omstart på instrumentet	47
Utföra en systemkontroll	48
Begränsning av läckage	50
Återställ till fabriksinställningar	53
Bilaga C Avancerat byte	54

Byta iSeq 100-systemet	54
Ta emot ett ersättningssystem	54
Förbereda originalsystemet för retur	54
Skicka tillbaka originalsystemet	57
Index	61
Teknisk hjälp	67

Kapitel 1 Översikt

Inledning	1
Ytterligare resurser	2
Instrumentets delar	3
iSeq 100 i1-reagens	7

Inledning

Sekvenseringssystemet iSeq™ 100 från Illumina® är inriktat på nästa generations sekvensering (NGS). Det programorienterade systemet kombinerar Illuminas sekvenseringsteknik med ett prisvärt stationärt instrument.

Funktioner

- ▶ **Lättanvänt och driftsäkert** – iSeq 100-systemet har ett litet fotavtryck och är enkelt att installera och använda. Flödestekniken och avbildningskomponenterna är inbyggda i förbrukningsmaterialet, vilket underlättar instrumentets underhåll.
- ▶ **Förbrukningsmaterialet förs över i ett steg** – En patron för engångsbruk innehåller redan alla reagenser som behövs för körningen. Biblioteket och en flödescell med sensor förs in i patronen som sedan förs in i instrumentet. Integrerad identifiering möjliggör noggrann spårning.
- ▶ **Program för iSeq 100-systemet** – En programsvit med inbyggd programvara styr instrumentets drift, bearbetar bilder och genererar base calls. Programsviten kan utföra analyser på instrumentet och använda dataöverföringsverktyg för analyser utanför instrumentet.
 - ▶ **Analys på instrumentet** – Local Run Manager tillhandahåller provinformation och analyserar sedan körningsdata med analysmodulen som angetts för körningen. Programmet har en uppsättning analysmoduler.
 - ▶ **Molnbaserad analys** – Sekvenseringens arbetsflöde är integrerat med BaseSpace Sequence Hub, Illuminas molntjänstmiljö för körningsövervakning, dataanalys, lagring och samarbete. Utdatafiler strömmas i realtid till BaseSpace Sequence Hub för analys.

Från prov till analys

Följande diagram visar det fullständiga sekvenseringsarbetsflödet från experimentell design till analys av data. Det finns verktyg och dokumentation för varje steg. Den här guiden går igenom sekvenseringsprocessen för bibliotek. Ytterligare dokumentation finns på support.illumina.com.

Bild 1 Arbetsflöde från prov till analys



Ytterligare resurser

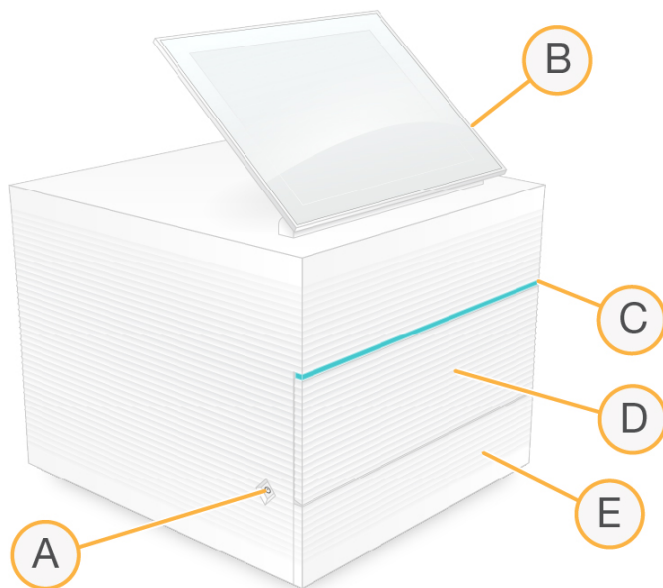
På hjälpsidorna för [iSeq 100-sekvenseringssystem](#) på Illuminas webbplats finns ytterligare resurser för systemet. Resurserna är bland annat programvara, utbildning, kompatibla produkter samt följande dokumentation. Besök alltid hjälpsidorna för att kontrollera vilka de senaste versionerna är.

Resurs	Beskrivning
Anpassad protokollväljare	Ett verktyg som genererar fullständiga anvisningar som är anpassade efter biblioteksprepareringsmetoden, körningsparametrarna och analysmetoden som valts. Har alternativ som kan användas för att anpassa detaljnivå.
<i>Installationsblad för sekvenseringssystemet iSeq 100 (dokumentnr 1000000035963)</i>	Anvisningar för installation och initial konfiguration av instrumentet.
<i>Förberedelseguide för plats för iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr 1000000035337)</i>	Specifikationer för laboratorieutrymme, elektriska krav samt anvisningar för miljö och nätverk.
<i>Säkerhets- och efterlevnadsguide för iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr 1000000035336)</i>	Information om driftssäkerhet, efterlevnad och instrumentmärkning.
<i>Efterlevnadsguide för RFID-läsare (dokumentnr 1000000002699)</i>	Information om RFID-läsaren i instrumentet, inklusive efterlevnadscertifieringar och säkerhetsföreskrifter.

Instrumentets delar

Sekvenseringssystemet iSeq 100 har en på/av-knapp, en bildskärm, ett statusfält, ett fack för förbrukningsmaterial och en dropplåda.

Bild 2 Systemets utvändiga delar



- A **På/av-knapp** – Styr strömtillförseln till instrumentet och indikerar om systemet är påslaget (lyser), avstängt (nedsläckt) eller avstängt men med strömtillförsel (blinkar).
- B **Pekskärm** – Möjliggör konfiguration och inställning på instrumentet med kontrollprogrammets gränssnitt.
- C **Statusfält** – Indikerar systemets status som redo för sekvensering (grönt), bearbetar (blått) och behöver kontrolleras (orange).
- D **Fack för förbrukningsmaterial** – Ett fack för det förbrukningsmaterial som används under en körning.
- E **Dropplådans lucka** – Ger åtkomst till dropplådan som samlar upp läckta vätskor.

Strömanslutning och andra anslutningar

Du kan flytta på instrumentet för att komma åt USB-portarna och andra komponenter på baksidan.

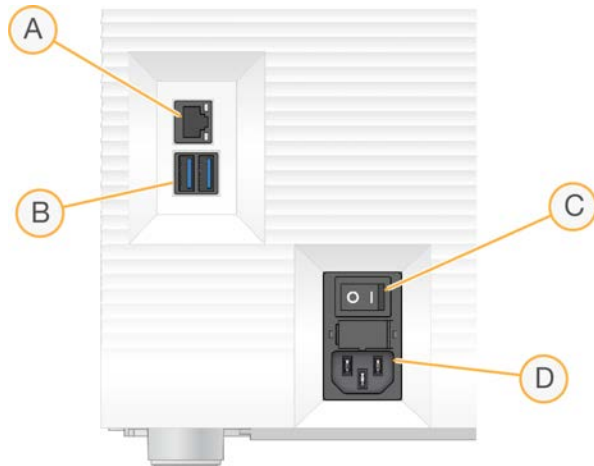
På instrumentets baksida finns på/av-knappen och uttaget som styr strömtillförseln till instrumentet, samt en Ethernet-port för valfri Ethernet-anslutning. Två USB-portar gör det möjligt att ansluta en mus och ett tangentbord, samt att föra över och hämta data med en bärbar enhet.



OBS!

Skärmtangentbordet inaktiveras när ett tangentbord och en mus ansluts till systemet.

Bild 3 Den bakre panelens komponenter

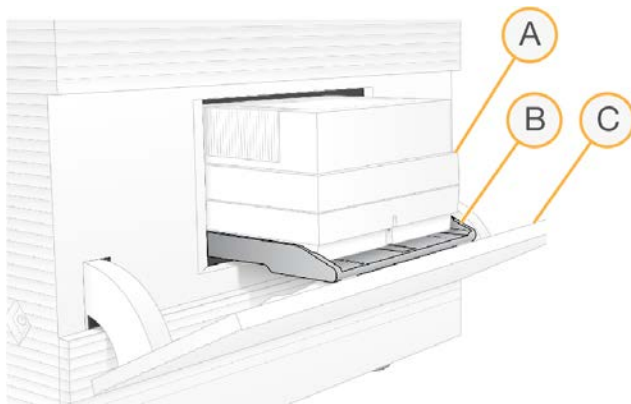


- A **Ethernet-port** – Valfri anslutning av en Ethernet-kabel.
- B **USB-portar** – Två portar för anslutning av tillbehör.
- C **På/av-knapp** – Slår på och av instrumentet.
- D **Eluttag** – För anslutning av strömkabel.

Fack för förbrukningsmaterial

Facket för förbrukningsmaterial är till för patronen som används för en sekvenskörning.

Bild 4 Ett fack som är laddat med förbrukningsmaterial



- A **Patron** – Innehåller flödescellen, biblioteket och reagenserna. Den samlar även in använda reagenser under körningen.
- B **Fack** – Håller patronen på plats under sekvensering.
- C **Lucka** – Öppnas i en vinkel på 60 grader för att ge åtkomst till facket för förbrukningsmaterial.

Programmet öppnar och stänger fackets lucka och positionerar patronen för avbildning. Luckan fälls ned från gångjärnen mot instrumentets bas. Placera aldrig föremål på den öppna luckan. Den är inte avsedd att användas som en hylla.

Återanvändbar testflödescell och patron

Instrumentet levereras med en återanvändbar iSeq 100-testflödescell och en återanvändbar iSeq 100-testpatron för systemkontroller.

- ▶ Förvara dem i originalförpackningarna i rumstemperatur.
- ▶ De håller i fem år från tillverkningsdatumet eller för upp till 36 användningar, beroende på vilket som inträffar först.
 - ▶ Programmet visar resterande antal användningar under systemkontroller.
 - ▶ Ersätt utgångna återanvändbara testkomponenter med testsatsen för iSeq 100-system.

Bild 5 Återanvändbara testkomponenter



- A Återanvändbar testflödescell
- B Återanvändbar testpatron

De återanvändbara testkomponenterna liknar sekvenseringskomponenterna i iSeq 100 i1-reagenser och de förs in på samma sätt. Testpatronen har däremot ingen biblioteksbehållare och ingen av testkomponenterna innehåller de kemikalier som behövs för en körning.

Systemprogramvara

Systemets programsvit innehåller integrerade program som utför sekvenskörningar och analyser på instrumentet.

- ▶ **iSeq Control Software** – Styr instrumentets drift och har ett gränssnitt som du kan använda för att konfigurera systemet och sekvenskörningarna och övervaka körningsstatistiken under sekvenseringens förlopp.
- ▶ **Local Run Manager** – Anger körningsparametrar och analysmetod innan sekvensering. Efter sekvenseringen startar dataanalysen som utförs på instrumentet automatiskt.
 - ▶ Systemet levereras med analysmodulerna DNA Amplicon, RNA Amplicon och Generate FASTQ installerade.
 - ▶ Systemet har även stöd för analysmodulerna DNA Enrichment och DNA Resequencing, som är tillgängliga på [hjälpsidorna för Local Run Manager](#).
 - ▶ Mer information om Local Run Manager och analysmodulerna finns i *Programhandbok för Local Run Manager (dokumentnr 100000002702)*.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA2)** – Utför bildanalys och base calling under körningen. Mer information finns i bilagan *Utdata från sekvensering på sidan 40*.
- ▶ **Universal Copy Service** – Kopierar sekvenseringens utdatafiler från körningsmappen till BaseSpace Sequence Hub (om tillämpligt) och utdatamappen, där du har tillgång till dem.

Real-Time Analysis och Universal Copy Service kör endast bakgrundsprocesser. Local Run Manager och kontrollprogrammet kan kräva indata från användaren.

Systeminformation

I kontrollprogrammets meny finns avsnittet About (Om) där du kan visa Illuminas kontaktinformation och följande systeminformation:

- ▶ Serienummer
- ▶ Datornamn och IP -adress
- ▶ Receptfragmentversion
- ▶ Antal körningar

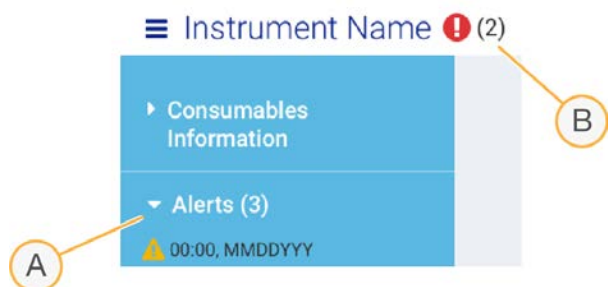
Meddelanden och varningar

En symbol visas bredvid instrumentnamnet för att indikera när det finns nya meddelanden. Tryck på symbolen för att visa en meddelandelista som inkluderar fel och varningar.

- ▶ Varningar bör uppmärksammas, men du bör inte avbryta körningen eller vidta någon annan åtgärd.
- ▶ Fel måste åtgärdas innan en körning startas eller återupptas.

Varningar som är specifika för inmatning av patroner och kontroller före körningar visas i en ruta på vänster sida av fönster för körningskonfiguration.

Bild 6 Placering på skärmen



- A Varningar under körningskonfiguration
- B Andra varningar

Processhantering

Skärmen Process Management (Processhantering) visar hårddiskutrymme (enheten D) och körningsstatus. Varje körning identifieras med namn, ID och datum. Skärmen uppdateras automatiskt var tredje minut.

Statuskolumnen anger som körningen är pågående eller slutförd baserat på bearbetningen av BCL -filer. Process Management (Processhantering) visar även status för bakgrundsprocesserna Universal Copy Service, BaseSpace Sequence Hub och Local Run Manager.

Ej tillämpliga processer visas inte på skärmen. Om en körning till exempel inte är kopplad till BaseSpace Sequence Hub visar Process Management (Processhantering) inte BaseSpace-statusen för den körningen.

- ▶ Information om hur du felsöker statusproblem finns i avsnittet *Processhanteringsstatus* på sidan 46.
- ▶ Information om hur du tar bort körningar och frigör utrymme finns i avsnittet *Frigöra utrymme på hårddisken* på sidan 33.

Status för universell kopieringstjänst

Den universella kopieringstjänsten visar statusen för filer som kopieras till utdatamappen:

- ▶ **In Progress** (Pågående) – Den universella kopieringstjänsten kopierar filer till utdatamappen.
- ▶ **Complete** (Slutförd) – Den universella kopieringstjänsten har kopierat alla filer till utdatamappen.

Status för BaseSpace Sequence Hub

BaseSpace Sequence Hub visar överföringsstatusen:

- ▶ **In Progress** (Pågående) – Kontrollprogrammet överför filer till BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ **Complete** (Slutförd) – Alla filer har överförts till BaseSpace Sequence Hub.

Status för Local Run Manager

Local Run Manager visar analysstatusen i kontrollprogrammet:

- ▶ **Not Started** (Ej påbörjad) – Analysen har placerats i kö eller så väntar Local Run Manager på att Real-Time Analysis ska slutföra åtgärden.
- ▶ **In Progress** (Pågående) – Local Run Manager analyserar filer. En mer detaljerad status visas i programmet Local Run Manager.
- ▶ **Stopped** (Stoppad) – Analysen har stoppats men är ofullständig.
- ▶ **Complete** (Slutförd) – Local Run Manager har slutfört analysen.

Mer information om analysstatus finns i programmet Local Run Manager.

iSeq 100 i1-reagens

Det behövs en sats med iSeq 100 i1-reagens för engångsbruk för att utföra en körning på iSeq 100-systemet. Satsen är tillgänglig i en storlek (300 cykler) och två förpackningsstorlekar:

- ▶ **Enpack** – Innehåller förbrukningsmaterial för en körning.
- ▶ **Fyrpack** – Innehåller förbrukningsmaterial för fyra körningar.

Innehåll och förvaring

Satsen med iSeq 100 i1-reagenser innehåller patronen och flödescellen som behövs för sekvensering. När du tar emot satsen:

- ▶ Öppna inte den vita folieförpackningen innan du uppmanas att göra det under förfarandena då patronen tinas och flödescellen förbereds. Patronen tinas i påsen.
- ▶ Förvara omedelbart komponenterna vid den angivna temperaturen för att säkerställa korrekt prestanda.
- ▶ Förvara patroner med förpackningens etiketter vända uppåt.
- ▶ Förvara patroner i minst en dag innan de tinas i ett vattenbad.

Tabell 1 Satsens innehåll

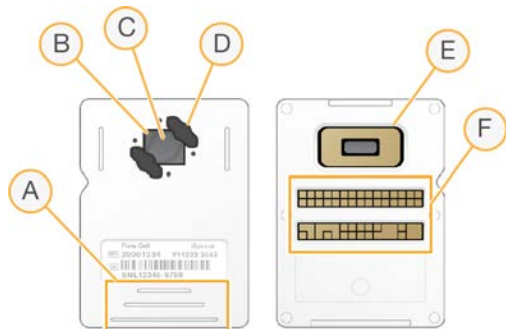
Paket	Förbrukningsmaterial	Antal	Lagringstemperatur
Enpack	Patron	1	-25 °C till -15 °C
	Flödescell	1	2 °C till 8 °C*
Fyrpack	Patron	4	-25 °C till -15 °C
	Flödescell	4	2 °C till 8 °C*

*Levereras vid rumstemperatur.

Båda förbrukningsartiklarna har ID-nummer för spårning och för att säkerställa kompatibilitet. Patronen använder radiofrekvensidentifiering (RFID). Flödescellen använder ett elektriskt gränssnitt: elektriskt raderbart programmerbart read-only-minne (EEPROM).

Flödescell

iSeq 100 i1-flödescellen är en mönstrad, enspårig flödescell som har en optisk sensor i en CMOS -halvledare. Den glasbaserade flödescellen omsluts av en plastkasset. Upphöjda grepppunkter på plastkassetten ger ett säkert grepp.

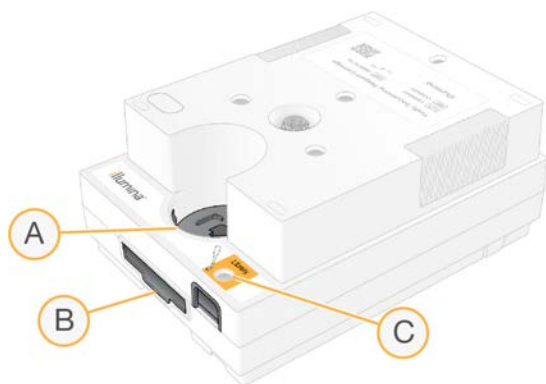


- A Grepppunkter
- B CMOS-sensor (övre)
- C Avbildningsområde
- D Packning (en av två)
- E CMOS-sensor (nedre)
- F Elektriskt gränssnitt

Flödescellens yta är täckt med miljontals nanobrunnar. Det genereras kluster i nanobrunnarna som sedan används för sekvenseringsreaktionen. Nanobrunnarnas placering ökar antalet utdataavläsningar och data. Under sekvensering tar CMOS-sensorn bilder som används för analys.

Patron

iSeq 100 i1-patronen är redan fylld med kluster-, sekvenserings-, paired-end- och indexeringsreagenser. Den har en folieförseglad biblioteksbehållare och ett fack för en flödescell på framsidan. Ljus når flödescellen genom ett fönster ovanpå patronen.



- A Fönster

- B Flödescellsfack
- C Biblioteksbehållare

Patronen innehåller förbrukningsmaterial för en körning: reagenser, bibliotek och flödescell. Biblioteket och flödescellen förs in i den tinade patronen som i sin tur förs in i instrumentet. När körningen startar överförs reagenser och bibliotek automatiskt från patronen till flödescellen.

Använda reagenser samlas in i en behållare på patronens undersida. Patronen innehåller även pumpar, ventiler och övrig fluidik som systemet använder. Instrumenttvättar är inte nödvändiga eftersom patronen kasseras efter en körning.






Antal cykler som stöds




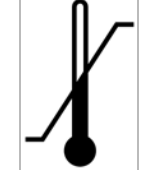
Etiketten 300-cycle (300 cykler) på patronen anger hur många cykler som analyseras, inte hur många cykler som utförs. Flödescellen är kompatibel med flertalet cykler och alla avläsningstyper.

Patronen har tillräckligt med reagens för upp till 322 sekvenseringscykler. I de 322 cyklerna ingår 151 cykler var för Read 1 (Avläsning 1) och Read 2 (Avläsning 2) samt upp till 10 cykler var för Index 1 och Index 2. Information om antalet cykler per sekvensering finns i avsnittet *Rekommenderat antal cykler på sidan 21*.

Symbolförklaring

Följande tabell beskriver symbolerna på förbrukningsmaterialet eller förbrukningsmaterialets förpackningar.

Symbol	Beskrivning
	Datomet som förbrukningsmaterialet går ut. För bästa resultat bör förbrukningsmaterialet användas före det här datomet.
	Anger tillverkaren (Illumina).
	Datomet då förbrukningsmaterialet tillverkades.
	Användningsområde: Endast för forskningsbruk.
	Anger artikelnumret. Gör det möjligt att identifiera förbrukningsmaterialet.*

Symbol	Beskrivning
	<p>Anger batchkoden. Gör det möjligt att identifiera den batch eller det parti som förbrukningsmaterialet tillhör.*</p>
	<p>Indikerar att försiktighet bör iakttas.</p>
	<p>Indikerar hälsofara.</p>
	<p>Tillåtet intervall för lagringstemperatur i grader Celsius. Förvara förbrukningsmaterialet inom det angivna intervallet.</p>

* REF identifierar den enskilda komponenten och LOT identifierar den batch eller det parti som komponenten tillhör.

Kapitel 2 Komma igång

Första installation	11
Minimera kontrollprogrammet	11
Körningsinställningar	12
Anpassa instrumentet	14
Nätverkskonfiguration	16
Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren	17

Första installation

Första gången som systemet slås på startas kontrollprogrammet med en serie fönster som guidar dig genom den första installationen. I den första installationen ingår en systemkontroll för att bekräfta instrumentets funktion och konfigurera systeminställningar.

Välj kommandot System Settings (Systeminställningar) i kontrollprogrammet om du vill ändra systeminställningarna efter den första installationen. Kommandot öppnar flikarna Settings (Inställningar), Network Access (Nätverksåtkomst) och Customization (Anpassning), där du hittar alla inställningar för kontrollprogrammet och nätverksinställningarna i Windows.

Operativsystemskonton

Windows-operativsystemet har två konton: administratör (sbsadmin) och användare (sbsuser).

Administratörskontot ska användas för IT-funktioner, systemuppdateringar samt installation av kontrollprogrammet, Local Run Manager-analysmoduler och andra program. Använd alla andra funktioner, inklusive sekvensering, från användarkontot.

Lösenordskrav

Operativsystemet kräver ett lösenordsbyte för båda kontona (sbsadmin (sbs-administratör) och sbsuser (sbs-användare)) vid första inloggningen. Uppdatera respektive lösenord var 180:e dag. Systemet kommer att meddela när det är dags.

Tabell 2 Standardprinciper för lösenord

Princip	Inställning
Använd lagring av gamla lösenord	Fem lösenord sparas
Utelåsningströskel	Tio ogiltiga inloggningsförsök
Minsta längd på lösenord	Tio tecken
Lösenord måste uppfylla krav på komplexitet	Inaktiverat
Spara lösenord med omvändbar kryptering	Inaktiverat

Valideringskörningar

Du kan välja att utföra en valideringskörning innan experimentella bibliotek sekvenseras för första gången. En valideringskörning sekvenserar 100 % av PhiX, som fungerar som ett kontrollbibliotek, för att bekräfta systemets drift. Mer information finns i avsnittet *Sekvensering på sidan 20*.

Minimera kontrollprogrammet

Minimera kontrollprogrammet om du vill få åtkomst till andra program. Till exempel för att gå till utdatamappen i Utforskaren eller hitta ett provark.

- 1 Svep uppåt på pekskärmen för att öppna Aktivitetsfältet i Windows.
- 2 Tryck på ikonen **iSeq 100 System** (iSeq 100-system) eller ett annat program. Kontrollprogrammet minimeras.
- 3 **[Valfritt]** Anslut ett tangentbord och en mus till instrumentet om du vill navigera och skriva utanför kontrollprogrammet.
- 4 Svep uppåt och tryck på **iSeq 100 System** (iSeq 100-system) för att maximera kontrollprogrammet.

Körningsinställningar

Konfigurera inställningarna för körningskonfiguration, körningsövervakning och dataanalys på fliken Settings (Inställningar) under System Settings (Systeminställningar). Rekommenderade standardinställningar visas på den här fliken och du kan tillämpa dem genom att välja standardinställningsalternativet. Du kan även välja det manuella inställningsalternativet om du vill anpassa inställningarna.

Om du väljer standardinställningarna tillämpas följande inställningar och InterOp-filer, loggfiler, instrumentets prestandadata och körningsdata skickas till BaseSpace Sequence Hub:

- ▶ **Illumina Proactive Support** – Den här tjänsten gör det enklare att felsöka och upptäcka potentiella fel, vilket möjliggör förebyggande underhåll och maximerar instrumentets drifttid. Om Illumina Proactive Support är aktiverat skickas instrumentets prestandadata (inte sekvenseringsdata) till BaseSpace Sequence Hub. Mer information finns i *Information om Illumina Proactive (dokumentnr 1000000052503)*.
- ▶ **Local Run Manager** – Använd Local Run Manager för att skapa körningar och analysera körningsdata för ett enkelt och effektivt arbetsflöde. Det behövs inte separata provark och analysprogram.
- ▶ **Fjärrövervakning av körningar** – Använd BaseSpace Sequence Hub för att fjärrövervaka körningar.
- ▶ **Körningsanalyser, samarbete och lagring** – Använd BaseSpace Sequence Hub för att lagra och analysera data och för att samarbeta med kollegor.



OBS!

Local Run Manager startar automatiskt analysen när körningen har slutförts. Det är även möjligt att analysera data i BaseSpace Sequence Hub.

Tillämpa standardinställningar

Standardinställningarna ersätter de aktuella körningsinställningarna med rekommenderade körningsinställningar och lokala inställningar för BaseSpace Sequence Hub. De här inställningarna kräver en internetanslutning och ett BaseSpace Sequence Hub-konto. Anvisningar för kontoinställningar finns i *Onlinehjälp för BaseSpace Sequence Hub (dokumentnr 100000009008)*.

- 1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.
- 2 Välj **Use Express Settings** (Använd standardinställningar) på fliken Settings (Inställningar).
- 3 Välj systemets geografiska plats eller den plats som systemet är närmast i listan Set Region (Ange region). Den här inställningen säkerställer att data lagras på rätt plats för BaseSpace Sequence Hub.
- 4 Om du har en företagsprenumeration ska du ange domännamnet (URL) som används för enkel inloggning på BaseSpace Sequence Hub i fältet Enter Private Domain (Ange egen domän).
Till exempel: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.
- 5 Välj **Next** (nästa).

6 Granska inställningarna. Så här ändrar du en inställning:

- a Välj **Edit** (Redigera) för att öppna inställningen.
- b Ändra inställningen och välj sedan **Next** (Nästa).
- c Välj **Next** (Nästa) för att bläddra igenom de skärmar som eventuellt visas.

En grön bock visar vilka inställningar som är aktiverade på skärmen Settings Review (Granska inställningar).

7 Tryck på **Save** (Spara).

8 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Konfigurera inställningar manuellt

Den manuella konfigurationsguiden guidar dig genom var och en av skärmarna på fliken Settings (Inställningar) för att konfigurera körningsparametrarna, som har följande krav:

- ▶ Det krävs en internetanslutning för att aktivera Illumina Proactive Support och BaseSpace Sequence Hub. Du måste även ha ett konto för att använda BaseSpace Sequence Hub. Anvisningar för kontoinställningar finns i *Onlinehjälp för BaseSpace Sequence Hub (dokumentnr 100000009008)*.
- ▶ Om du använder BaseSpace Sequence Hub för dataanalys när systemet är konfigurerat för manuellt läge måste du använda ett provark. Mer information finns under *Provarkskrav på sidan 14*.

1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.

2 Välj **Set Up Manually** (Konfigurera manuellt).

3 Välj om du vill aktivera tjänsten Illumina Proactive Support:

- ▶ Markera kryssrutan **Turn on Illumina Proactive Support** (Aktivera Illumina Proactive Support) om du vill aktivera den.
- ▶ Avmarkera kryssrutan **Turn on Illumina Proactive Support** (Aktivera Illumina Proactive Support) om du vill inaktivera den.

Tjänsten skickar instrumentets prestandadata, som temperatur och körningstid, till Illumina. Uppgifterna hjälper Illumina att upptäcka potentiella fel och underlättar vid felsökning. Körningsdata skickas inte. Mer information finns i *Information om Illumina Proactive (dokumentnr 1000000052503)*.

4 Välj **Next** (Nästa).

5 Välj om du vill ansluta körningarna till BaseSpace Sequence Hub:

- ▶ Markera en av följande kryssrutor om du vill ansluta körningarna:
 - ▶ **Turn on run monitoring from anywhere only** (Fjärraktivera endast körningsövervakning) – Använd BaseSpace Sequence Hub för fjärrövervakning.
 - ▶ **Turn on run analysis, collaboration, and storage also** (Aktivera även körningsanalys, samarbete och lagring) – Använd BaseSpace Sequence Hub för fjärrövervakning och analys.
- ▶ Avmarkera kryssrutorna **Turn on run monitoring from anywhere only** (Fjärraktivera endast körningsövervakning) och **Turn on run analysis, collaboration, and storage also** (Aktivera även körningsanalys, samarbete och lagring) om du vill koppla från körningarna.

När kontrollprogrammet är anslutet skickar det InterOp- och loggfiler till BaseSpace Sequence Hub. Körningsanalys-, samarbets- och lagringsalternativet skickar också data.

6 Välj systemets geografiska plats eller den plats som systemet är närmast i listan Set Region (Ange region). Den här inställningen säkerställer att data lagras på rätt plats för BaseSpace Sequence Hub.

7 Om du har en företagsprenumeration ska du ange domännamnet (URL) som används för enkel inloggning på BaseSpace Sequence Hub i fältet Enter Private Domain (Ange egen domän).

Till exempel: <https://yourlab.basespace.illumina.com>.

- 8 Välj **Next** (nästa).
- 9 Välj om du vill integrera kontrollprogrammet med Local Run Manager:
 - ▶ Välj **Use Local Run Manager** (Använd Local Run Manager) för att skapa körningar och analysera data i Local Run Manager.
 - ▶ Välj **Use Manual Mode** (Använd manuellt läge) för att skapa körningar i kontrollprogrammet och analysera data med ett annat program.

Local Run Manager har det mest effektiva arbetsflödet, men är inte en funktion i kontrollprogrammet. Det är integrerad programvara som registrerar prov för sekvensering, skapar körningar och analyserar data. Läs *Programhandbok för Local Run Manager (dokumentnr 1000000002702)* innan sekvensering.

- 10 Välj **Next** (nästa).
- 11 Granska inställningarna. Så här ändrar du en inställning:
 - a Välj **Edit** (Redigera) för att öppna inställningen.
 - b Ändra inställningen och välj sedan **Next** (Nästa).
 - c Välj **Next** (Nästa) för att bläddra igenom de skärmar som eventuellt visas.

En grön bock visar vilka inställningar som är aktiverade på skärmen Settings Review (Granska inställningar).

- 12 Tryck på **Save** (Spara).
- 13 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Provarkskrav

När systemet har konfigurerats för manuellt läge och du analyserar data i BaseSpace Sequence Hub måste varje körning ha ett provark. Skapa ett provark genom att redigera *iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode* (Provarksmall för manuellt läge för iSeq 100-system) och sedan importera det till kontrollprogrammet under körningskonfigurationen. Efter import byter programmet automatiskt namn på provarket till SampleSheet.csv.

Ladda ned provarksmallen på hjälpsidorna för sekvenseringssystemet iSeq 100: [iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode](#) (Provarksmall för manuellt läge för iSeq 100-system).



WARNING!

Ange adaptersekvenserna för Index 2 (i5) i rätt riktning för sekvenseringssystemet iSeq 100. Mer information om riktningar för index finns i *Adaptersekvenser för Illumina (dokumentnr 1000000002694)*.

Ett provark måste även användas när systemet har konfigurerats för läget Local Run Manager. Local Run Manager skapar dock provarket åt dig och sparar det på en lämplig plats. Det är valfritt att använda provark under alla andra omständigheter.

Anpassa instrumentet

Namnge instrumentet och konfigurera inställningarna för ljud, miniatyrbilder och programuppdatering på fliken Customization (Anpassning) under System Settings (Systeminställningar).

Namnge instrumentet

- 1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.
- 2 Välj fliken Customization (Anpassning).

- 3 Ange ett önskat namn på instrumentet i fältet Instrument Nickname (Instrumentets smeknamn). Namnet visas högst upp på skärmen.
- 4 Tryck på **Save** (Spara).
- 5 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Slå på eller stänga av ljudet

- 1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.
- 2 Välj fliken Customization (Anpassning).
- 3 Välj om du vill stänga av systemets ljud:
 - ▶ Välj **Off** (Av) om du vill stänga av ljudet.
 - ▶ Välj **On** (På) om du vill slå på ljudet.
- 4 Tryck på **Save** (Spara).
- 5 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Spara miniatyrer

- 1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.
- 2 Välj fliken Customization (Anpassning).
- 3 Ange om miniatyrbilder ska sparas:
 - ▶ Markera kryssrutan **Save all thumbnail images** (Spara alla miniatyrbilder) för att spara alla miniatyrer.
 - ▶ Avmarkera kryssrutan **Save all thumbnail images** (Spara alla miniatyrbilder) för att inte spara några miniatyrer.

Att du sparar miniatyrbilder kan hjälpa vid felsökning, men ökar körningsstorleken minimalt. Som standard sparas alla miniatyrbilder.
- 4 Tryck på **Save** (Spara).
- 5 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Konfigurera programuppdateringar

Systemet kan automatiskt söka efter och ladda ned programuppdateringar som du kan installera eller så kan du söka efter uppdateringar manuellt. Mer information finns under *Programuppdateringar* på sidan 33.

- 1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.
- 2 Välj fliken Customization (Anpassning).
- 3 Välj om systemet ska söka efter programuppdateringar automatiskt:
 - ▶ Markera kryssrutan **Autocheck for software updates** (Sök efter programuppdateringar automatiskt) om du vill att systemet ska söka efter uppdateringar automatiskt.
 - ▶ Avmarkera kryssrutan **Autocheck for software updates** (Sök efter programuppdateringar automatiskt) om du vill söka efter uppdateringar manuellt.

Du behöver en internetanslutning för att söka efter programuppdateringar automatiskt.
- 4 Tryck på **Save** (Spara).
- 5 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Nätverkskonfiguration

Det behövs endast en Ethernet- eller WiFi-anslutning med standardinställningar för nätverk för att det ska vara möjligt att använda systemet och överföra data. Inställningarna behöver inte uppdateras om det inte förekommer särskilda nätverkskrav för platsen som systemet används på. I så fall ska du be den IT-ansvarige om hjälp med att ändra nätverkets standardinställningar.

Det finns riktlinjer för nätverksinställningar och säkerhetsinformation för kontroll datorn i *Förberedelseguide för plats för iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr 100000035337)*.

Ange utdatamappens plats

Universal Copy Service kopierar sekvenseringens utdatafiler från körningsmappen till BaseSpace Sequence Hub (om tillämpligt) och utdatamappen, där du har tillgång till dem.

En utdatamapp är obligatorisk om inte systemet är konfigurerat för körningsövervakning, samarbete och lagring med BaseSpace Sequence Hub. Universal Copy Service kopierar filerna till D:\SequencingRuns om det inte har angetts en utdatamapp.

- 1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.
- 2 Tryck på fliken Network Access (Nätverksåtkomst).
- 3 Ange en standardplats för utdatamappen i fältet Output Folder (Utdatamapp) eller välj **Browse** (Bläddra) och gå till platsen.
 - ▶ **Internal drive** (Intern enhet) – Ange en befintlig plats på enheten D. Enheten C har inte tillräckligt med utrymme.
 - ▶ **External drive** (Extern enhet) – Ange platsen för en USB-enhet som är ansluten till instrumentet.
 - ▶ **Network location** (Nätverksplats) – Ange en nätverksplats.Du kan ändra standardplatsen för enskilda körningar.
- 4 Fortsätt på följande sätt.
 - ▶ Om du har angett en intern eller extern plats för enheten ska du välja **Save** (Spara) och sedan **Exit** (Avsluta) för att spara platsen och stänga systeminställningarna.
 - ▶ Om du angav en specifik nätverksplats ska du använda steg 5–8 för att ansluta Universal Copy Service till ett konto som har åtkomst till den angivna platsen.
- 5 Välj en kontotyp under Universal Copy Service:
 - ▶ **Local System Account** (Lokalt systemkonto) – Utdatamappen ligger i en katalog som är tillgänglig med ett lokalt konto, som har åtkomst till de flesta platser.
 - ▶ **Network Account** (Nätverkskonto) – Utdatamappen ligger i en katalog som kräver autentiseringsuppgifter.Den här inställningen gäller för utdatamappens standardplats och de platser som anges under körningskonfigurationen.
- 6 Om du valde ett nätverkskonto ska du ange användarnamnet och lösenordet för kontot.
- 7 Tryck på **Save** (Spara).
- 8 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Ansluta till internet

Konfigurera en WiFi- eller Ethernet-anslutning med nätverks- och internetinställningarna i Windows, som du kan öppna i kontrollprogrammet. Standardanslutningen är Ethernet, som är den mer tillförlitliga anslutningen vid dataöverföring.

- 1 Välj **System Settings** (Systeminställningar) i kontrollprogrammets meny.
- 2 Tryck på fliken **Network Access** (Nätverksåtkomst).
- 3 Tryck på **Network Configuration** (Nätverkskonfiguration) för att minimera kontrollprogrammet och öppna Windows nätverks- och internetinställning.
- 4 Konfigurera en WiFi- eller Ethernet-anslutning.
 - ▶ Ändra nätverkskortets inställningar till **WiFi** om du konfigurerar en WiFi-anslutning.
 - ▶ Det finns mer information om hur du konfigurerar nätverk på hjälpsidan för Windows 10 på Microsofts webbplats.
- 5 Stäng Windows-inställningarna och maximera kontrollprogrammet när konfigurationen har slutförts.
- 6 Tryck på **Save** (Spara) på fliken **Network Access** (Nätverksåtkomst).
- 7 Tryck på **Exit** (Avsluta) för att stänga systeminställningarna.

Ansluta till en proxyserver

- 1 Minimera kontrollprogrammet.
- 2 Öppna dialogrutan **Run (Kör)** från startmenyn i Windows.
- 3 Ange **cdm** och tryck sedan på **OK**.
- 4 Ange följande kommando:

```
C:\windows\System32\bitsadmin.exe /Util /SetIEProxy LocalSystem Manual_
proxy http://<proxyserver>:<proxy port> NULL
```
- 5 Ersätt `http://<proxyserver>:<proxy port>` med din proxyserveradress och proxyport, och `NULL` med eventuella förbikopplingar.
- 6 Tryck på Retur-tangenten för att köra kommandot.
- 7 Använda kall omstart på instrumentet. Anvisningar finns i avsnittet *Använda kall omstart på instrumentet* på sidan 47.

Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren

Följande förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren används för sekvensering, underhåll och felsökning.

Förbrukningsmaterial för sekvensering

Förbrukningsmaterial	Tillverkare	Användningsområde
Engångshandskar, puderfria	Valfri leverantör av laborieutrustning	Allmänt bruk.
iSeq 100 i1-reagens	llumina, katalognummer: • 20021533 (enpack) • 20021534 (fyrpack)	Reagenser och en flödescell för en körning.
Mikrorör, 1,5 ml	Fisher Scientific, katalognr 14-222-158, eller liknande rör med låg bindning	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
Pappersdukar	Valfri leverantör av laborieutrustning	Torka av patronen efter vattenbad.
Pipettspetsar, 20 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Utspädning och påfyllning av bibliotek.
Pipettspetsar, 100 µl	Valfri leverantör av laborieutrustning	Utspädning och påfyllning av bibliotek.
Resuspensionsbuffert (RSB)	llumina, tillhandahålls med biblioteksprepareringsstatser	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
[Valfritt] 10 mM Tris-HCl, pH 8,5	Valfri leverantör av laborieutrustning	Substitut för RSB för utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
[Valfritt] PhiX Control v3	llumina, katalognr FC-110-3001	Används för att utföra en körning med endast PhiX eller för att berika en PhiX-kontroll.

Förbrukningsmaterial för underhåll och felsökning

Förbrukningsmaterial	Tillverkare	Användningsområde
Blekmedelsservett, 10 %	WWR, katalog nr 16200-218, eller liknande	Dekontaminering av instrumentet och rengöring av arbetsytor.
Engångshandskar, puderfria	Valfri leverantör av laborieutrustning	Allmänt bruk.
Reservdyna till iSeq 100 i1-dropplåda ¹	llumina, katalognr 20023927	Täcker dropplådans insida för att absorbera läckta vätskor.
Reservluftfilter för iSeq 100 i1-system ¹	llumina, katalognr 20023928	Används när luftfiltret byts var sjätte månad.
Testsats för iSeq 100-system ²	llumina, katalognr 20024141	Utför en systemkontroll.
Isopropanolservett, 70 %	WWR, katalognr 95041-714, eller liknande	Rengöring av instrumentet och den återanvändbara testflödescellen.
Laborietrasa, luddfri	WWR, katalog nr 21905-026, eller liknande	Torka dropplådan och den återanvändbara testflödescellen.
Pappersdukar	Valfri leverantör av laborieutrustning	Torka upp vätska runt instrumentet.
[Valfritt] Blekmedelslösning, 10 %	WWR, katalognr 16003-740 (32 oz), 16003-742 (16 oz), eller liknande	Rengöring av arbetsytor efter dekontaminering.
[Valfritt] Etanolservett, 70 %	Fisher Scientific, katalognr 19-037-876, eller liknande	Substitut för isopropanolservetter för rengöring av instrumentet och den återanvändbara testflödescellen.

¹ Instrumentet levereras med en installerad och en extra. Om instrumentets garanti inte gäller ansvarar användaren för byten. Förvara i förpackningarna till dess att de används.

² Byt ut de återanvändbara testkomponenterna som levereras med instrumentet efter 5 år eller 36 användningar.

Utrustning

Artikel	Källa	Användningsområde
Frys, -25 °C till -15 °C	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Förvaring av patronen.
Ishink	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Lägga undan bibliotek.
Pipett, 10 µl	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
Pipett, 20 µl	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
Pipett, 100 µl	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Utspädning av bibliotek till inläsningskoncentration.
Kylskåp, 2 °C till 8 °C	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Förvara flödescellen.
[Valfritt] Tangentbord	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Komplettera skärmtangentbordet.
[Valfritt] Mus	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Komplettera skärmens pekfunktion.
[Valfritt] Vattenbad	Valfri leverantör av laboratorieutrustning	Tina patronen.

Kapitel 3 Sekvensering

Inledning	20
Tina den förpackade patronen	21
Förbereda flödescellen och bibliotek	22
Föra över förbrukningsmaterial till patronen	24
Konfigurera en sekvenseringskörning (Local Run Manager)	26
Konfigurera en sekvenseringskörning (manuellt läge)	29

Inledning

Sekvensering på sekvenseringssystemet iSeq 100 utgörs av klustergenerering, sekvensering och analys. Varje steg utförs automatiskt under en sekvenskörning. Beroende på systemets konfiguration kan ytterligare analyser utföras utanför instrumentet när körningen har slutförts.

- ▶ **Klustergenerering** – Biblioteket denatureras automatiskt till enkla strängar och späds ut ytterligare i instrumentet. Under klustergenerering binds enstaka DNA-molekyler till flödescellens yta och amplifieras för att skapa kluster.
- ▶ **Sekvensering** – Kluster avbildas med enfärgskemi som använder en fluorescerande etikett och två avbildningscykler för att koda data för de fyra nukleotiderna. Den första avbildningscykeln detekterar adenin (A) och tymin (T). A kemicykeln klyver sedan färgämnet från A och lägger samtidigt till ett likande färgämne till cytosinet (C). Den andra avbildningscykeln detekterar C och T. Efter den andra avbildningscykeln utför programmet Real-Time Analysis base calling, filtrering och kvalitetsbedömning. Processen upprepas för varje sekvenseringscykel. Mer information om enfärgskemi finns i avsnittet *Basbestämning* på sidan 43.
- ▶ **Analys** – Kontrollprogrammet överför automatiskt base call-filer (*.bcl) till den angivna utdatamappen för dataanalys under körningen. Vilken metod som används för dataanalysen beror på program och systemkonfiguration.

Inläsningsvolym och -koncentration

Inläsningsvolymen är 20 µl. Inläsningskoncentrationen varierar beroende på bibliotekstyp.

Bibliotekstyp	Inläsningskoncentration (pM)
100 % PhiX	60
AmpliSeq Library PLUS för Illumina	50
Nextera DNA Flex	200
Nextera Flex for Enrichment	100
TruSeq DNA Nano	100
TruSeq DNA PCR-Free	100

För andra bibliotekstyper rekommenderar Illumina 50 pM som en första inläsningskoncentration. Optimera koncentrationen under efterföljande körningar för att identifiera en inläsningskoncentration som konsekvent ger data som uppfyller specifikationerna.

Inläsningskoncentrationer som är för höga eller för låga kan resultera i suboptimala värden för kluster och körningar. Mer information finns i *Optimeringsguide för kluster (dokumentnr 1000000071511)*.

Rekommenderat antal cykler

Att ange ett värde mellan 26 och 151 cykler för varje avläsning hjälper till att säkerställa datakvaliteten. Det exakta antalet cykler beror på experimentet.

Minsta och maximala cykelantalet inkluderar en extra cykel. Lägg alltid till en cykel till den önskade avläsningslängden för att korrigera effekterna av fasning och förfasning. Avläsningslängden är antalet **sekvenseringscykler** i Read 1 (Avläsning 1) och Read 2 (Avläsning 2), vilket inkluderar extracykler och indexcykler.

Exempel på en körningskonfiguration:

- ▶ Ange **37** i fältet Read 1 (Avläsning 1) för en avläsningslängd på 36 (enkel avläsning).
- ▶ Ange **151** i fältet Read 1 (Avläsning 1) och **151** i fältet Read 2 (Avläsning 2) för en avläsningslängd på 150 per avläsning (paired-end).

Bästa praxis

- ▶ Använd skyddsglasögon, laboratorierock och puderfria handskar när du hanterar reagenser och andra kemikalier. Undvik korskontamination genom att byta handskar när du uppmanas till det.
- ▶ Kontrollera att du har det förbrukningsmaterial och den utrustning som behövs innan du startar ett protokoll. Mer information finns i *Förbrukningsmaterial och utrustning som tillhandahålls av användaren på sidan 17*.
- ▶ Följ protokollen i angiven ordning och använd angivna mängder, temperaturer och tidsangivelser.
- ▶ Fortsätt direkt till nästa steg om en stoppunkt inte har specificerats i protokollet.

Tina den förpackade patronen

- 1 Om du vill tina patronen i ett vattenbad ska du förvara patronen vid $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ till $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ i minst en dag innan den tinas.
Att tina patronen i ett vattenbad är den snabbaste av de tre metoderna som beskrivs i steg 5.



VARNING!

Patroner förvaras på kolsyreis under leverans och därför kan det påverka en patrons prestanda negativt om den tinas i ett vattenbad direkt efter att den har tagits emot.

- 2 Använd ett nytt par puderfria handskar.
- 3 Hämta patronen från platsen där den har förvarats i $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ till $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 4 Om patronen ligger i en låda ska du avlägsna den från lådan men **inte öppna den vita foliepåsen**.



- 5 Tina patronen i påsen med en av följande metoder. Använd patronen omedelbart efter upptining, utan att frysa den igen eller förvara den på något annat sätt.

Metod	Tiningstid	Anvisning
Vattenbad, 20 °C till 25 °C	6 timmar, högst 18 timmar	<ul style="list-style-type: none"> • Använd 6 l vatten per patron. • Ställ in ett vattenbad med temperaturstyrning till 25 °C eller blanda varmt och kallt vatten för att uppnå 20 °C till 25 °C. • Vänd etiketten uppåt, sänk ner patronen under ytan och lägg på en vikt på omkring 2 kg för att undvika att den flyter upp. • Stapla inte patroner på varandra i vattenbadet om det inte har temperaturstyrning.
Kylskåp, 2 °C till 8 °C	36 timmar, högst 72 timmar	Placera patronen med etiketten vänd uppåt och kontrollera att luft kan cirkulera på alla sidor, inklusive botten.
Rumstempererad luft (20 °C till 25 °C)	9 timmar, högst 18 timmar	Placera patronen med etiketten vänd uppåt och kontrollera att luft kan cirkulera på alla sidor, inklusive botten.

6 Torka av patronen med pappershanddukar om vattenbad används.

Förbereda flödescellen och bibliotek

Kontrollera att flödescellen har uppnått rumstemperatur, späd ut biblioteken och tillsätt vid behov en valfri spikning av PhiX innan du för in flödescellen och biblioteken i patronen. Bibliotek denatureras automatiskt i instrumentet.

Följande anvisningar för utspädning gäller för de dubbelsträngade Illumina-bibliotek som stöds. Utför alltid en kvalitetskontrollanalys, optimera inläsningskoncentrationen för biblioteket och använd en normaliseringsmetod för att generera dubbelsträngade bibliotek. Pärlbaserad normalisering som genererar enkelsträngade bibliotek är inte kompatibel med denaturering i instrumentet.

Späda ut bibliotek till 1 nM

1 Förbered flödescellen enligt följande.

- Hämta en ny flödescell från platsen där de har förvarats i 2 °C till 8 °C.
- Låt den öppnade förpackningen stå i rumstemperatur i 10–15 minuter för att förhindra kondensering.

Att förbereda flödescellen säkerställer att den uppnår rumstemperatur innan den ska användas.

- Hämta resuspensionsbuffert (RSB) från platsen där den har förvarats i –25 °C till –15 °C. Det går även att använda 10 mM Tris-HCl med pH 8,5 i stället för RSB.
- [Valfritt]** Hämta 10 nM PhiX från förvaring i –25 °C till –15 °C. PhiX behövs endast för en valfri spikning eller en körning med endast PhiX.
- Tina RSB och PhiX (valfritt) i rumstemperatur i 10 minuter.

- 5 Förbered en lämplig volym av 1 nM bibliotek, med RSB som utspädningsmedel, i ett mikrorör med **låg bindning**:

Bibliotekstyp	Volym av 1 nM bibliotek som ska förberedas (µl)
100 % PhiX (för en körning med endast PhiX)	8
AmpliSeq Library PLUS för Illumina	7
Nextera DNA Flex	25
Nextera Flex for Enrichment	12
TruSeq DNA Nano	12
TruSeq DNA PCR-Free	12

Att bibliotek späds ut i mikrorör med låg bindning är avgörande för korrekt sekvensering.

- 6 Vortexblanda kort och centrifugera vid 280 g i en minut.
- 7 **[Valfritt]** Förvara 1 nM bibliotek vid -25 °C till -15 °C i upp till en månad.

Späda ut 1 nM bibliotek till inläsningskoncentration

- 1 Överför följande volymer till ett mikrorör med låg bindning för att preparera 100 µl bibliotek utspätt till lämplig inläsningskoncentration:

Bibliotekstyp*	Inläsningskoncentration (pM)	1 nM biblioteksvolym (µl)	RSB-volym (µl)
100 % PhiX	60	6	94
AmpliSeq Library PLUS för 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

* Börja med en inläsningskoncentration på 50 pM och optimera under efterföljande körningar om bibliotekstypen inte finns med i listan, inklusive andra Nextera-bibliotek.

Tabellen ger exempel på inläsningskoncentrationer. iSeq 100-systemet är kompatibelt med alla biblioteksprepareringssatser från Illumina, förutom SureCell WTA 3', men den optimala inläsningskoncentrationen kan variera.

- 2 Vortexblanda kort och centrifugera vid 280 g i en minut.
- 3 Förvara det utspädda biblioteket på is inför sekvenseringen. Bibliotek som har späts ut till inläsningskoncentration ska sekvenseras samma dag som de späds ut.
- 4 Om du **inte** lägger till PhiX eller om körningen endast innehåller PhiX, ska du koppa över nästa avsnitt och gå vidare till [Föra över förbrukningsmaterial till patronen på sidan 24](#).

Lägga till en PhiX-kontroll (valfritt)

PhiX är ett litet Illumina-bibliotek med balanserad nukleotidrepresentation som är färdigt att användas. En spikning på 2 % PhiX i biblioteket genererar ytterligare mätvärden. För bibliotek med låg mångfald rekommenderas en spikning på 5 % för att öka basmångfalden.

**OBS!**

En spikning på så lite som 1 % ger ytterligare mätvärden men gör det svårt att pippetera biblioteket.

- Överför följande volymer till ett mikrorör med låg bindning för att förbereda 50 µl 1 nM PhiX:
 - ▶ 10 nM PhiX (5 µl)
 - ▶ RSB (45 µl)
- Vortexblanda kort och centrifugera vid 280 g i en minut.
- [Valfritt]** Förvara 1 nM PhiX i –25 °C till –15 °C i upp till en månad.
- Överför följande volymer till ett mikrorör med låg bindning för att späda ut PhiX till samma inläsningskoncentration som biblioteket. Till exempel:

PhiX-inläsningskoncentration (pM)	1 nM PhiX-volymer (µl)	RSB-volymer (µl)
50	5	95
100	10	90
200	20	80

- Blanda PhiX och bibliotek:
 - ▶ Lägg till 2 µl utspädd PhiX till 100 µl utspädd bibliotek för en spikning på 2 %.
 - ▶ Lägg till 5 µl utspädd PhiX till 100 µl utspädd bibliotek för en spikning på 5 %.
 Den faktiska procentsatsen av PhiX varierar beroende på bibliotekets kvalitet och kvantitet.
- Vortexblanda kort och centrifugera vid 280 g i en minut.
- Förvara biblioteket med spikningen av PhiX på is.

Föra över förbrukningsmaterial till patronen

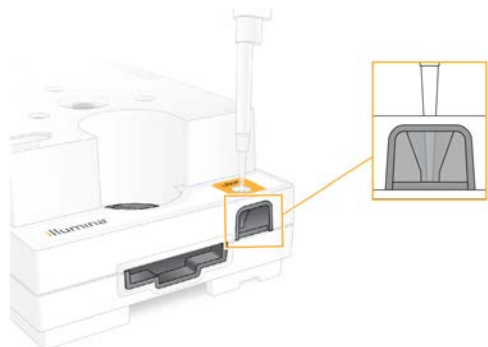
- [Valfritt]** Tryck på **Sequence** (Sekvens) om du vill se en instruktionsvideo som visar hur du förbereder och för in en patron.
- Öppna patronens påse genom att dra i påsen vid inskärningarna.
- Avlägsna patronen från påsen och undvik att röra vid fönstret på patronens ovansida. Kassera påsen.
- Blanda reagenserna genom att vända på patronen fem gånger. Patronens invändiga delar kan skramla när du vänder på den, vilket är normalt.
- Säkerställ korrekt aspiration av reagenser genom att knacka patronen (med etiketten vänd uppåt) mot bänken eller någon annan hård yta fem gånger.

Föra över bibliotek

- Använd en ny pipettspets för att sticka hål på biblioteksbehållaren och trycka upp folien mot kanterna för att göra hålet större.



- Kassera pipettspetsen för att förhindra kontamination.
- Överför 20 µl utspädd bibliotek till behållarens **botten**. Undvik att röra vid folien.

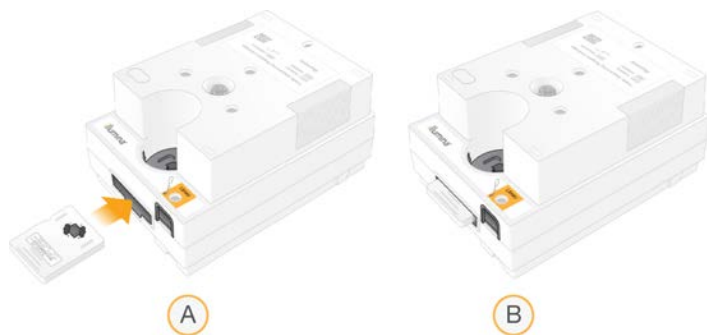


Föra in flödescellen

- 1 Öppna den vita folieförpackningen genom att dra vid inskärningarna. Använd inom 24 timmar från det att förpackningen öppnats.
- 2 Dra ut flödescellen ur förpackningen.
Rör endast vid plasten när du hanterar flödescellen. Undvik att röra vid det elektriska gränssnittet, CMOS-sensorerna, glaset och packningarna på vardera sidan av glaset.



- 3 Håll flödescellen vid grepppunkterna med etiketten vänd uppåt.
- 4 För in flödescellen i facket på patronens framsida.
Ett hörbart klick indikerar att flödescellen är på plats. Om flödescellen har förts in korrekt ska dess greppbara del sticka ut från patronen och glaset ska synas i fönstret.



- A Föra in flödescellen
B Flödescellen på plats

- 5 Kassera förpackningen enligt följande:
 - a Avlägsna fodralet från folieförpackningen.
 - b Avlägsna torkmedelspåsen från fodralet.
 - c Återanvänd fodralet och kassera folieförpackningen och torkmedelspåsen.
- 6 Nästa steg är beroende av om systemet är integrerat med Local Run Manager eller inte:
 - ▶ Om du använder Local Run Manager ska du följa anvisningarna i avsnittet *Konfigurera en sekvenseringskörning (Local Run Manager)* på sidan 26.
 - ▶ Om du inte använder Local Run Manager ska du följa anvisningarna i avsnittet *Konfigurera en sekvenseringskörning (manuellt läge)* på sidan 29.

Konfigurera en sekvenseringskörning (Local Run Manager)

När du konfigurerar en körning med Local Run Manager måste du skapa och spara körningen i Local Run Manager innan du återvänder till kontrollprogrammet för att ladda förbrukningsmaterialet och välja körningen. Data sparas i den angivna utdatamappen för analys. Local Run Manager utför analysen automatiskt när körningen har slutförts.

- 1 Öppna Local Run Manager lokalt på instrumentets bildskärm eller via fjärråtkomst från en annan dator:

Åtkomst	Öppna Local Run Manager
Lokal	Öppna kontrollprogrammets meny och tryck på Local Run Manager och sedan på Open Local Run Manager (Öppna Local Run Manager).
Fjärråtkomst	Öppna kontrollprogrammets meny och tryck på About (Om) för att visa systemets IP-adress. Öppna Local Run Manager i Chromium på en dator på samma nätverk som instrumentet. Använd systemets IP-adress för att ansluta.

- 2 Använd kall omstart av instrumentet och starta om körningskonfigurationen om Chromium visar en tom sida på instrumentets bildskärm. Anvisningar finns under *Använda kall omstart på instrumentet* på sidan 47.
- 3 Skapa och spara en körning i Local Run Manager.
 - ▶ Anvisningar finns i *Programhandbok för Local Run Manager (dokumentnr 1000000002702)*.
 - ▶ Konfigurera en körning med endast PhiX så att den inte indexeras. Local Run Manager skickar automatiskt sparade körningar till kontrollprogrammet.
- 4 Välj **Sequence** (Sekvens) i kontrollprogrammet. Programmet öppnar luckan i en vinkel, matar ut facket och initierar en serie fönster för körningskonfiguration.
- 5 **[Valfritt]** Tryck på **Help** (Hjälp) för att visa en anvisning på skärmen. Hjälpmeddelanden som ger ytterligare anvisningar visas på skärmen.

Mata in patronen i instrumenten

- 1 Kontrollera att patronen har tinat och innehåller flödescellen och det utspädda biblioteket.

- 2 Placera patronen i facket med fönstret vänt uppåt och flödescellen är inuti instrumentet. Tryck inte in patronen eller facket i instrumentet.



- 3 Tryck på **Close Door** (Stäng lucka) för att mata in patronen och stänga luckan.
Ett fönster öppnas på vänster sida av skärmen som visar information om det skannade förbrukningsmaterialet.

Logga in i BaseSpace Sequence Hub

BaseSpace Sequence Hub-skärmen visas när systemet är konfigurerat för att övervaka körningar eller för att övervaka och lagra körningar.

- 1 Tryck på **Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In** (Hoppa över inloggning på BaseSpace Sequence Hub) om du vill koppla från den aktuella körningen från BaseSpace Sequence Hub.
Instrumentets prestandadata skickas fortfarande till Illumina.
- 2 Väl ett konfigurationsalternativ om du vill ändra anslutningen för den aktuella körningen:
 - ▶ **Run Monitoring Only** (Endast övervakning av körning) – Skicka endast InterOp-filer till BaseSpace Sequence Hub för fjärrövervakning.
 - ▶ **Run Monitoring and Storage** (Övervakning och lagring av körning) – Skicka körningsdata till BaseSpace Sequence Hub för fjärrövervakning och analys.
- 3 Ange autentiseringsuppgifterna för BaseSpace Sequence Hub (e-postadress och lösenord) och välj **Sign In** (Logga in).
- 4 Om listan Available Workgroups (Tillgängliga arbetsgrupper) visas ska du välja en arbetsgrupp att överföra körningsdata till.
Listan visas när du tillhör flera arbetsgrupper.
- 5 Tryck på **Run Setup** (Konfiguration av körning).

Välja en körning

- 1 Om inloggningsskärmen för Local Run Manager visas ska du ange ditt användarnamn och lösenord, och sedan trycka på **Log In** (Logga in).
Skärmen visas om Local Run Manager är konfigurerat för att begära inloggning. Som standard krävs inte inloggning.
- 2 Välj en körning från listan Run Name (Körningsnamn). Den visar listor som har sparats i Local Run Manager.
 - ▶ Tryck på **Refresh** (Uppdatera) om du vill uppdatera listan.
 - ▶ Tryck på **Open Local Run Manager** (Öppna Local Run Manager) för att skapa en körning om listan är tom.

När du trycker på Open Local Run Manager (Öppna Local Run Manager) minimeras kontrollprogrammet och Local Run Manager öppnas i Chromium.

- 3 Om du lämnade kontrollprogrammet för att skapa en körning ska du öppna det och välja körningen. Klicka på **Refresh** (Uppdatera) för att visa en uppdaterad lista.
- 4 **[Valfritt]** Tryck på **Edit** (Redigera) och ändra körningsparametrarna:
 - a Ändra Read Type (Avläsningstyp) genom att välja **Single Read** (Enkel avläsning) eller **Paired End**.
 - b Ändra Read Cycle (Avläsningscykel) genom att ange **26–151** cykler var för Read 1 (Avläsning 1) och Read 2 (Avläsning 2). Lägg till en cykel till det önskade antalet cykler.
 - c Om du vill ändra utdatamappen för den aktuella körningen ska du antingen ange sökvägen till platsen eller välja **Browse** (Bläddra) och gå till den.
 - d Tryck på **Save** (Spara) för att uppdatera körningen i både kontrollprogrammet och Local Run Manager.
- 5 Tryck på **Start Run** (Starta körning) för att initiera kontrollen före körning.

Förhandsgranska kontroller före körning

Kontrollerna före körning inkluderar en instrumentkontroll och en flödeskontroll. Flödeskontrollen sticker hål på patronens förseglingar och driver reagens genom flödescellen. Därför kan inte förbrukningsmaterial återanvändas efter att flödeskontrollen har påbörjats.

- 1 Det tar cirka 15 minuter för kontrollerna före körning att slutföras. Om kontrollerna slutförs korrekt startar körningen automatiskt. Ett ljud indikerar att en körning har startat om inte systemets ljud har stängts av.



WARNING!

Om luckan öppnas under kontrollen före körning eller under körningen kan det orsaka körningsfel.

- 2 Om ett fel uppstår under instrumentkontrollen ska du trycka på **Retry** (Försök igen) för att göra om kontrollen. Instrumentkontrollen utförs före flödeskontrollen. När en kontroll pågår animeras respektive kontrollfält.
- 3 Felsök med hjälp av [Åtgärda felmeddelanden på sidan 46](#) om ett fel återkommer.

Övervaka körningsförloppet

- 1 Du kan övervaka körningens förlopp och mått i realtid på skärmen Sequencing (Sekvensering) efter cykel 26.

Mått	Beskrivning
%Q30 Read 1 (%Q30 Avläsning 1)	Procentsatsen av base calls från Read 1 (Avläsning 1) med ett Q-resultat ≥ 30 .
%Q30 Read 2 (%Q30 Avläsning 2)	Procentsatsen av base calls från Read 2 (Avläsning 2) med ett Q-resultat ≥ 30 .
% Clusters PF (% godkända kluster)	Procentsatsen av kluster som passerar kvalitetsfilter.
%Occupancy (% mättnad)	Procentsatsen av flödesceller som innehåller kluster.
Projected Total Yield (Förväntat totalt utbyte)	Förväntat antal base calls för körningen.

- 2 Om du vill övervaka kopiering av filer och andra körningsprocesser, ska du först trycka på kontrollprogrammets meny och sedan på **Process Management** (Processhantering).

Mata ut förbrukningsmaterial

- 1 Välj **Eject Cartridge** (Mata ut patron) när sekvenseringen har slutförts. Programmet matar ut den använda patronen från instrumentet.
- 2 Ta bort patronen från facket.
- 3 Avlägsna flödescellen från patronen.
- 4 Kassera flödescellen, som innehåller elektroniska delar, i enlighet med lokala bestämmelser.
- 5 Kassera patronen, som innehåller använda reagenser, i enlighet med lokala bestämmelser. Det är inte nödvändigt att utföra en tvätt efter körningen eftersom flödestekniken kasseras med patronen.



WARNING!

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laborierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

- 6 Tryck på **Close Door** (Stäng lucka) för att mata in facket och återgå till startskärmen. Programmet matar automatiskt in facket igen och sensorer bekräftar att patronen har avlägsnats.

Konfigurera en sekvenseringskörning (manuellt läge)

När du konfigurerar en körning i det manuella läget måste du ange körningsparametrar i kontrollprogrammet och utföra analys utanför instrumentet med ett valfritt program. Programmet sparar data till den angivna utdatamappen för analys. Om du vill skapa FASTQ-filer behövs ytterligare ett steg.

- 1 Skapa ett provark för körningen om systemet är konfigurerat för att använda BaseSpace Sequence Hub för körningsanalyser, samarbete och lagring:
 - a Hämta *iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode* (Provarksmall för manuellt läge för iSeq 100-system) från [hjälpsidorna för sekvenseringssystemet iSeq 100](#).
 - b Redigera mallen efter behov och spara den i filformatet CSV. Kontrollera att:
 - ▶ Adaptersekvenserna för Index 2 (i5) är i rätt riktning. Mer information om riktningar finns i *Adaptersekvenser för Illumina (dokumentnr 1000000002694)*.
 - ▶ Provarksvärdena matchar kontrollprogrammets värden. Ange till exempel 151 i fältet Read 1 (Avläsning 1) både på provarket och skärmen Run Setup (Körningskonfiguration).
- 2 Välj **Sequence** (Sekvens) i kontrollprogrammet. Programmet öppnar luckan i en vinkel, matar ut facket och initierar en serie fönster för körningskonfiguration.
- 3 **[Valfritt]** Tryck på **Help** (Hjälp) för att visa en anvisning på skärmen. Hjälpmeddelanden som ger ytterligare anvisningar visas på skärmen.

Mata in patronen i instrumenten

- 1 Kontrollera att patronen har tinat och innehåller flödescellen och det utspädda biblioteket.

- 2 Placera patronen i facket med fönstret vänt uppåt och flödescellen är inuti instrumentet. Tryck inte in patronen eller facket i instrumentet.



- 3 Tryck på **Close Door** (Stäng lucka) för att mata in patronen och stänga luckan.
Ett fönster öppnas på vänster sida av skärmen som visar information om det skannade förbrukningsmaterialet.

Logga in i BaseSpace Sequence Hub

BaseSpace Sequence Hub-skärmen visas när systemet är konfigurerat för att övervaka körningar eller för att övervaka och lagra körningar.

- 1 Tryck på **Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In** (Hoppa över inloggning på BaseSpace Sequence Hub) om du vill koppla från den aktuella körningen från BaseSpace Sequence Hub.
Instrumentets prestandadata skickas fortfarande till Illumina.
- 2 Välj ett konfigurationsalternativ om du vill ändra anslutningen för den aktuella körningen:
 - ▶ **Run Monitoring Only** (Endast övervakning av körning) – Skicka endast InterOp-filer till BaseSpace Sequence Hub för fjärrövervakning.
 - ▶ **Run Monitoring and Storage** (Övervakning och lagring av körning) – Skicka körningsdata till BaseSpace Sequence Hub för fjärrövervakning och lagring (kräver ett provark).
- 3 Ange autentiseringsuppgifterna för BaseSpace Sequence Hub (e-postadress och lösenord) och välj **Sign In** (Logga in).
- 4 Om listan Available Workgroups (Tillgängliga arbetsgrupper) visas ska du välja en arbetsgrupp att överföra körningsdata till.
Listan visas när du tillhör flera arbetsgrupper.
- 5 Tryck på **Run Setup** (Konfiguration av körning).

Ange körningsparametrar

- 1 Ange ett unikt namn i fältet Run Name (Körningsnamn) för att identifiera den aktuella körningen.
Körningsnamnet får innehålla alfanumeriska tecken, bindestreck och understreck.
- 2 Välj ett av följande alternativ som avläsningstyp:
 - ▶ **Single Read** (Enkel avläsning) – Utför en sekvenseringsavläsning. Det här är det enklare och snabbare alternativet.
 - ▶ **Paired End** (Paired-end) – Utför två sekvenseringsavläsningar. Genererar data av högre kvalitet och en mer exakt inpassning.
- 3 Ange antalet cykler för varje avläsning under Read Cycle (Avläsningscykel).
 - ▶ Lägg till en cykel till det önskade antalet cykler för Read 1 (Avläsning 1) och Read 2 (Avläsning 2).
 - ▶ Ange **0** i båda indexfälten för en körning med endast PhiX.

Avläsning	Antal cykler
Read 1 (Avläsning 1)	26–151
Index 1	Upp till 10
Index 2	Upp till 10
Read 2 (Avläsning 2)	26–151

Read 2 (Avläsning 2) har vanligtvis samma värde som Read 1 (Avläsning 1) inklusive den extra cykeln. Index 1 sekvenserar indexadaptern i7 och Index 2 sekvenserar indexadaptern i5.

- Välj **Advanced** (Avancerat) om du vill ange en utdatamapp för den aktuella körningen eller föra över ett provark:
 - ▶ Ange antingen sökvägen till utdatamappen i fältet Output Folder (Utdatamapp) eller välj **Browse** (Bläddra) och gå till den.
 - ▶ Ange antingen sökvägen till provarket i fältet Output Folder (Utdatamapp) eller välj **Browse** (Bläddra) och gå till den.
- Tryck på **Start Run** (Starta körning) för att initiera kontrollen före körning.

Förhandsgranska kontroller före körning

Kontrollerna före körning inkluderar en instrumentkontroll och en flödeskontroll. Flödeskontrollen sticker hål på patronens förseglingar och driver reagens genom flödescellen. Därför kan inte förbrukningsmaterial återanvändas efter att flödeskontrollen har påbörjats.

- Det tar cirka 15 minuter för kontrollerna före körning att slutföras. Om kontrollerna slutförs korrekt startar körningen automatiskt. Ett ljud indikerar att en körning har startat om inte systemets ljud har stängts av.



VARNING!

Om luckan öppnas under kontrollen före körning eller under körningen kan det orsaka körningsfel.

- Om ett fel uppstår under instrumentkontrollen ska du trycka på **Retry** (Försök igen) för att göra om kontrollen. Instrumentkontrollen utförs före flödeskontrollen. När en kontroll pågår animeras respektive kontrollfält.
- Felsök med hjälp av [Åtgärda felmeddelanden på sidan 46](#) om ett fel återkommer.

Övervaka körningsförloppet

- Du kan övervaka körningens förlopp och mått i realtid på skärmen Sequencing (Sekvensering) efter cykel 26.

Mått	Beskrivning
%Q30 Read 1 (%Q30 Avläsning 1)	Procentsatsen av base calls från Read 1 (Avläsning 1) med ett Q-resultat ≥ 30 .
%Q30 Read 2 (%Q30 Avläsning 2)	Procentsatsen av base calls från Read 2 (Avläsning 2) med ett Q-resultat ≥ 30 .
% Clusters PF (% godkända kluster)	Procentsatsen av kluster som passerar kvalitetsfilter.
%Occupancy (% mättnad)	Procentsatsen av flödesceller som innehåller kluster.
Projected Total Yield (Förväntat totalt utbyte)	Förväntat antal base calls för körningen.

- Om du vill övervaka kopiering av filer och andra körningsprocesser, ska du först trycka på kontrollprogrammets meny och sedan på **Process Management** (Processhantering).

Mata ut förbrukningsmaterial

- Välj **Eject Cartridge** (Mata ut patron) när sekvenseringen har slutförts. Programmet matar ut den använda patronen från instrumentet.
- Ta bort patronen från facket.
- Avlägsna flödescellen från patronen.
- Kassera flödescellen, som innehåller elektroniska delar, i enlighet med lokala bestämmelser.
- Kassera patronen, som innehåller använda reagenser, i enlighet med lokala bestämmelser. Det är inte nödvändigt att utföra en tvätt efter körningen eftersom flödestekniken kasseras med patronen.



VARNING!

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

- Tryck på **Close Door** (Stäng lucka) för att mata in facket och återgå till startskärmen. Programmet matar automatiskt in facket igen och sensorer bekräftar att patronen har avlägsnats.

Kapitel 4 Underhåll

Frigöra utrymme på hårddisken	33
Programuppdateringar	33
Byta ut luftfiltret	35
Flytta instrumentet	36
Principer för begränsning av programvara	38

Frigöra utrymme på hårddisken

En sekvenskörning kräver omkring 2 GB hårddiskutrymme. Använd följande anvisningar för att ta bort slutförda körningar och frigöra utrymme när det är lågt.

- 1 Välj **Process Management** (Processhantering) i kontrollprogrammets meny. Skärmen Process Management (Processhantering) öppnas och visar en lista över körningar som är sparade på disken.
- 2 Tryck på **Delete** (Ta bort) vid den körning du vill ta bort. När en körning tas bort tas även den lokala körningsmappen bort. Utdatamappen, som är en kopia av körningsmappen, finns kvar.
- 3 Tryck på **Yes** (Ja) i dialogrutan för att bekräfta borttagningen av körningen.
- 4 Upprepa steg 2 och 3 för varje körning som du vill ta bort.
- 5 Stäng skärmen Process Management (Processhantering) och återvänd till skärmen Sequence (Sekvens) när du är klar.

Programuppdateringar

När programmet är uppdaterat försäkras det att systemet har de senaste funktionerna och korrigeringarna. Programuppdateringar finns samlade i en programsvit, som innehåller följande program:

- ▶ iSeq Control Software
- ▶ iSeq 100 System recipes
- ▶ Universal Copy Service
- ▶ Real-Time Analysis
- ▶ Local Run Manager (endast ramverket)



OBS!

Local Run Manager ingår i systemsviten, analysmodulerna ingår däremot inte. Använd administratörskontot (sbsadmin) för att installera dem separat vid behov. Du har tillgång till analysmodulernas programvara via hjälpsidorna för Local Run Manager.

Systemet är konfigurerat för att hämta programuppdateringar automatiskt eller manuellt:

- ▶ **Automatic updates** (Automatiska uppdateringar) – Installerbara uppdateringar hämtas automatiskt från BaseSpace Sequence Hub. För det här alternativet behövs en internetanslutning men inte ett BaseSpace Sequence Hub-konto.
- ▶ **Manual updates** (Manuella uppdateringar) – Uppdateringar hämtas manuellt från webben, sparas lokalt eller på en bärbar enhet, och installeras från den sparade platsen. Det här alternativet kräver ingen internetanslutning.

Installera en automatisk programuppdatering

- 1 Växla till administratörskontot (sbsadmin) i operativsystemet.
- 2 Tryck på kontrollprogrammets meny och sedan på **Software Update** (Programuppdatering) för att öppna dialogrutan Software Update (Programuppdatering).
System som är konfigurerade för automatiska uppdateringar visar en avisering när en programuppdatering är tillgänglig.
- 3 Välj ett av följande alternativ om du vill kontrollera om det finns en ny uppdatering:
 - ▶ **Check for Update** (Sök efter uppdatering) – Sök efter en programuppdatering.
 - ▶ **Autocheck for Updates** (Sök efter uppdateringar automatiskt) – Sök efter en programuppdatering och konfigurera systemet så att det automatiskt söker efter framtida programuppdateringar.De här alternativen visas på system som är anslutna till internet men inte är konfigurerade för automatiska uppdateringar.
- 4 Tryck på **Update** (Uppdatera) för att hämta den senaste versionen av programmet.
När nedladdningen är klar stängs kontrollprogrammet och installationsguiden öppnas.
- 5 Tryck på **Install** (Installera) i installationsguiden.



OBS!

Om en uppdatering avbryts innan installationen har slutförts stoppas uppdateringen vid den aktuella punkten. Ändringar som gjorts fram till den punkten återgår till den tidigare versionen eller installeras inte.

- 6 Tryck på **Close** (Stäng) när uppdateringen har slutförts.
Kontrollprogrammet startar om automatiskt. Eventuell uppdatering av inbyggd programvara sker automatiskt efter omstarten.

Installera en manuell programuppdatering

- 1 Växla till administratörskontot (sbsadmin) i operativsystemet.
- 2 När en programuppdatering är tillgänglig kan du hämta installationsprogrammet (*.exe) på [hjälpsidan för sekvenseringssystemet iSeq 100](#). Spara installationsprogrammet på en lokal eller bärbar enhet.
- 3 Om du väljer att spara installationsprogrammet på en bärbar enhet ska du ansluta den till en USB-port på instrumentets baksida. Flytta på instrumentet om du behöver komma åt baksidan.
- 4 Tryck på **Software Update** (Programuppdatering) i kontrollprogrammet.
- 5 Utöka **Install from local or portable drive** (Installera från en lokal eller bärbar enhet) i dialogrutan Software Update (Programuppdatering)
- 6 Gå till installationsprogrammet genom att trycka på **Browse** (Bläddra).
- 7 Tryck på **Update** (Uppdatera) för att starta installationen.
Kontrollprogrammet stängs och installationsguiden öppnas.
- 8 Tryck på **Install** (Installera) i installationsguiden.



OBS!

Om en uppdatering avbryts innan installationen har slutförts stoppas uppdateringen vid den aktuella punkten. Ändringar som gjorts fram till den punkten återgår till den tidigare versionen eller installeras inte.

- Tryck på **Close** (Stäng) när uppdateringen har slutförts.
Kontrollprogrammet startar om automatiskt. Eventuell uppdatering av inbyggd programvara sker automatiskt efter omstarten.

Byta ut luftfiltret

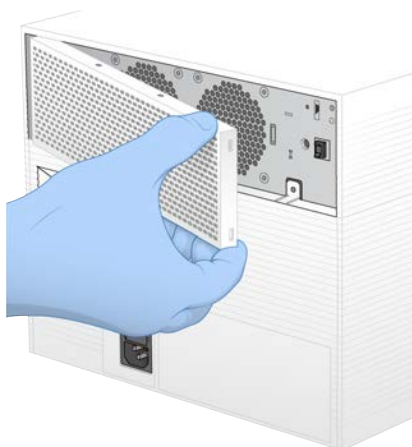
Luftfiltret är en engångsprodukt av skumplast som täcker de två fläktarna på instrumentets baksida. Det säkerställer att korrekt temperatur bibehålls och förhindrar att skräp kommer in i systemet. Instrumentet levereras med ett luftfilter installerat och ett reservfilter. Reservfilter ingår i garantin och kan även köpas från Illumina.

Programmet kommer att uppmana till ett byte av luftfilter var sjätte månad från det att den första installationen startades. Använd följande anvisningar för att byta ett gammalt luftfilter.

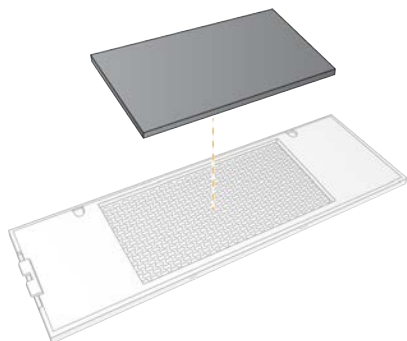
- Placera instrumentet så att du enkelt kan komma åt dess baksida.
- Tryck på den högra sidan av den övre panelen på instrumentets baksida för att lossa panelen enligt bilden nedan.



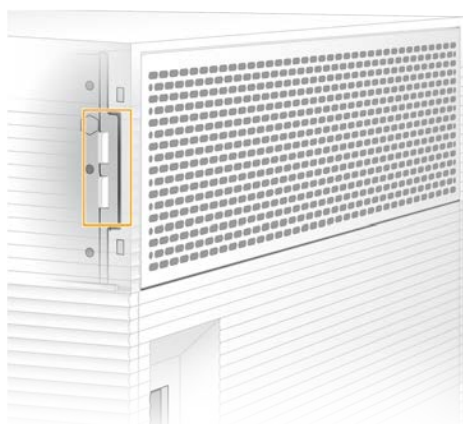
- Ta bort panelen från instrumentet.



- 4 Ta bort luftfiltret i skumplast från mitten av panelen och kassera det.



- 5 Placera ett nytt luftfilter i panelen och tryck på det för att säkra.
- 6 För in panelens två hakar i hålen på instrumentet och tryck fast panelen.



- 7 Ställ tillbaka instrumentet på sin vanliga plats.
- 8 Tryck på **Filter Changed** (Filter har bytts) för att gå vidare.

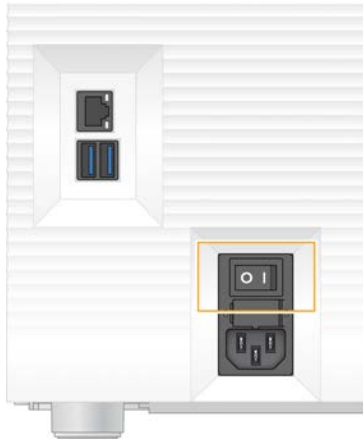
Flytta instrumentet

Använd följande anvisningar för att flytta instrumentet på ett säkert sätt. Kontrollera att den nya platsen uppfyller kraven i *Förberedelseguide för plats för iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr 1000000035337)*.

Om du ska skicka tillbaka ett instrument ska du läsa avsnittet *Avancerat byte på sidan 54*.

- 1 Tryck på **Shut Down System** (Stäng av systemet) i menyn.
- 2 Om systemet inte stängs av ska du hålla ned strömbrytaren på instrumentets vänstra sida tills det att lamporna tonas ned.
- 3 Växla på/av-knappen på den bakre panelen till läget Av (**O**) när strömbrytaren blinkar. På/av-knappen kan fortsätta att blinka efter det att strömmen kopplats från.

Bild 7 På/av-knappens placering



- 4 Koppla från strömkabeln från vägguttaget och sedan från eluttaget på den bakre panelen.
- 5 Koppla från Ethernet-kabeln från vägguttaget och sedan från Ethernet-porten på den bakre panelen i förekommande fall.
- 6 Fäll ned bildskärmen.
- 7 Flytta instrumentet till önskad plats.
Instrumentet väger 15,9 kg (35 lbs) och behöver lyftas av två personer.
- 8 Fäll upp bildskärmen.
- 9 Om instrumentet är anslutet till ett nätverk ska du ansluta Ethernet-kabeln till en Ethernet-port.
- 10 Anslut strömkabeln till uttaget på enhetens baksida och sedan till ett eluttag.
- 11 Växla på/av-knappen till läget På (I).
- 12 Tryck på strömbrytaren när den blinkar.

Bild 8 Strömbrytarens placering



- 13 Logga in i Windows när operativsystemet har lästs in.
Kontrollprogrammet startar och initierar systemet. Startskärmen visas när initieringen har slutförts.

Principer för begränsning av programvara

Windows principer för begränsning av programvara (SRP) använder regler som endast tillåter att angivna program körs. För iSeq 100-systemet baseras SRP-reglerna på certifikat, filnamn och filändelser eller kataloger.

SRP är som standard aktiverat för att förhindra att oönskade program körs på kontroll datorn. En IT-ansvarig eller systemadministratör kan lägga till och ta bort regler för att anpassa säkerhetsnivån. Om systemet läggs till i en domän kan det lokala gruppprincipobjektet (GPO) ändra reglerna automatiskt och inaktivera SRP.

Tillåtna SRP-regler

På sekvenseringssystemet iSeq 100 är standardreglerna för SRP följande.

Certifikat

Programcertifikat för iSeq

Körbara filer

Portmon.exe

Procmon.exe

Procmon64.exe

Tcpview.exe

Filändelse

*.cfg

*.lnk

*.png

*.tif

*.txt

*.xml

Kataloger

%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

Lägga till och ta bort SRP-regler

Anpassa systemsäkerheten genom att lägga till och ta bort SRP-regler. SRP måste inaktiveras om reglerna ska ändras.



VARNING!

Om SRP inaktiveras åsidosätts standardskydden.

- 1 Logga in i operativsystemet med administratörskontot.
Administratörskontot har behörighet att ändra SRP-regler.
- 2 Stänga av SRP:
 - a Gå till katalogen C:\Illumina\Security.
 - b Dubbelklicka på Disable.reg.
 - c Tryck på **Yes** (Ja) för att bekräfta ändringarna.

När du använder skärmens pekfunktion högerklickar du genom att trycka på och hålla nere knappen i ungefär två sekunder.
- 3 Tryck på **Start** och sedan på **Run** (Kör).
- 4 Ange **secpol.msc** i det öppna fältet.
- 5 Utöka **Software Restriction Policies** (Principer som begränsar programvaran) i dialogrutan Local Security Policy (Lokal säkerhetsprincip) och tryck sedan **Additional Rules** (Ytterligare regler).
- 6 Lägga till en regel:
 - a Tryck på **New Path Rule** (Ny sökvägsregel) i menyn Action (Åtgärd).
 - b Ange certifikatnamnet, filnamnet, filändelsen eller katalogen som du vill tillåta i sökvägsfältet.
 - c Tryck på **Unrestricted** (Obegränsad) i listan Security level (Säkerhetsnivå).
 - d **[Valfritt]** Ange varför regeln skapas i beskrivningsfältet.
 - e Tryck på **OK** för att lägga till regeln.
- 7 Ta bort en regel:
 - a Välj den regel som du vill ta bort och tryck sedan på **Delete** (Ta bort).
 - b Tryck på **Yes** (Ja) för att bekräfta borttagningen.
- 8 Stäng dialogrutan Local Security Policy (Lokal säkerhetsprincip).
- 9 Återaktivera SRP **direkt**:
 - a Gå till katalogen C:\Illumina\Security.
 - b Dubbelklicka på Enable.reg.
- 10 Om SRP -reglerna ändrades för första gången måste du logga ut och sedan logga in igen för att ändringarna ska börja gälla.

Bilaga A Utdata från sekvensering

Översikt över realtidsanalys	40
Arbetsflöde för Real-Time Analysis	42

Översikt över realtidsanalys

Real-Time Analysis-programmet körs på instrumentets kontroll dator. Under en sekvenskörning extraherar det intensiteter från bilder för att utföra base calling och tilldelar sedan varje base call ett kvalitetsresultat.

Sekvenseringssystemet iSeq 100 använder RTA2-versionen av Real-Time Analysis. RTA2 och kontrollprogrammet kommunicerar via ett webbgränssnitt och delade minnesfiler. Om RTA2 avslutas går det inte att återuppta bearbetningen eller att spara körningsdata.



OBS!

Filen Index i Sequencing Analysis Viewer fylls inte i eftersom demultiplexeringsprestanda inte beräknas.

Indatafiler

RTA2 behöver följande indatafiler för bearbetning:

- ▶ Plattbilder från det lokala systemets minne.
- ▶ En Real-Time Analysis-konfigurationsfil i XML-format.
- ▶ RunInfo.xml som skapas automatiskt av kontrollprogrammet när körningen påbörjas.

RTA2 tar emot kommandon från kontrollprogrammet som inkluderar information om sökvägen till RunInfo.xml och om det har angetts en utdatamapp. Det är från RunInfo.xml som RTA2 läser körningsnamn, antal cykler, om en avläsning är indexerad och antalet plattor på flödescellen.

Utdatafiler

Bilder överförs till RTA2 som plattor, som är små avbildningsområden på flödescellen som definieras av en kameravy. iSeq 100 i1-flödescellen har 16 plattor.

RTA2 använder bilderna för att generera en uppsättning kvalitetsbestämda base call-filer och filterfiler som primära utdata. Andra filer stöder genereringen av primära utdata.

Filtyp	Filbeskrivning, plats och namn
Base call-filer	Varje platta som analyseras ingår i en base call-fil, samlade i en fil per cykel. Den sammanslagna filen innehåller base calls och åtföljande kvalitetsresultat för varje kluster. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [cykel].bcl.bgzf, där [cykel] representerar cykelnumret med fyra siffror. Base call-filer komprimeras till gzip-format.
Base call-indexfiler	En base call-indexfil behåller den ursprungliga informationen om plattan. Indexfilen innehåller plattnumret och klusterantal för vare platta. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [cykel].bcl.bgzf.bci
Klusterplaceringsfil	Klusterplaceringsfil (s.locs) innehåller X- och Y-koordinater för varje kluster på en flödescell. Data\Intensities s.locs
Filterfiler	Filterfiler anger om kluster passerar filtret. En filterfil genereras för varje platta. Filterfiler genereras under cykel 26 med data från de föregående 25 cyklerna. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[spår].filter

Filtyp	Filbeskrivning, plats och namn
InterOp-filer	Realtidsmått på körningskvalitet som uppdateras under körningen. De här binära filerna innehåller mått för plattor, cykler och avläsningsnivå, och behövs för att visa mått i Sequencing Analysis Viewer. InterOp-mapp
RTA -konfigurationsfil	Listar körningens parametrar. Filen skapas när körningen påbörjas och kombinerar värden från konfigurationsfilen för indata och värden som RTA2 anger. [rotmapp], RTAConfiguration.xml
Körningsinformationsfil*	Listar körningsnamnet, antalet cykler per avläsning, om avläsningen är en indexavläsning och antalet områden och plattor. Skapas i början av körningen. [rotmapp], RunInfo.xml
Miniatyrfiler	Miniatyrbilder eller flödescellsplattor. images\L001\C[X.1] – Filer lagras i en mapp per spår och en undermapp för varje cykel. S_[spår]_[platta].jpg – Miniatyrbilden innehåller plattans nummer.

*Skapas av kontrollprogrammet. RTA2 skapar alla andra filer som listas i tabellen.

Local Run Manager och BaseSpace Sequence Hub konverterar automatiskt base call-filerna till FASTQ-filer. Använd den senaste versionen av bcl2fastq2-konverteringsprogrammet för att konvertera FASTQ-filer. Du kan ladda ned programmet på [hjälpsidorna för bcl2fastq-konverteringsprogrammet](#) på Illuminas webbplats.

Namn och sökväg för utdatamappar

Kontrollprogrammet skapar automatiskt en utdatamapp och en körningsmapp för varje körning. Du har tillgång till körningsdata från utdatamappen som är en kopia av körningsmappen. Körningsmappen används av systemet.

Utdatamappens sökväg kan anges av användaren men är som standard D:\. Kontrollprogrammet namnger utdatamappen enligt följande format.

Format	Exempel
<YYYYMMDD>_<Instrument ID>_<Run Number>_<Flow Cell ID> (ÅÅÅÅMMDD_Instrument-ID_Körningsnummer_Flödescell-ID)	20180331_FFSP247_4_BNS417-05-25-12

Körningsnumret ökar med en varje gång systemet utför en körning. Instrumentet och flödescellen kan identifieras med serienummer.

Mappstruktur för utdata

- 📁 **Recipe** (Recept) – Körningsspecifik receptfil.
- 📁 **Logs** (Loggar) – Loggfiler för instrumentanalys, operativa steg och andra händelser.
- 📁 **Config** (Konfiguration) – Konfigurationsinställningar för körningen.
- 📄 RunParameters.xml
- 📄 RunInfo.xml
- 📄 CopyComplete.txt
- 📄 RunCompletionStatus.txt
- 📄 RTAComplete.txt
- 📄 RTAConfiguration.xml
- 📁 **Data**
 - 📁 **Intensities** (Intensiteter)
 - 📁 **BaseCalls**
 - 📁 **L001**
 - 📄 s.locs
- 📁 **InterOp**
- 📁 **Images** (Bilder)
- 📄 SampleSheet.csv – Provarket eller provets manifestfil.
- 📁 **RTALogs** – Loggar för RTA2-händelser.

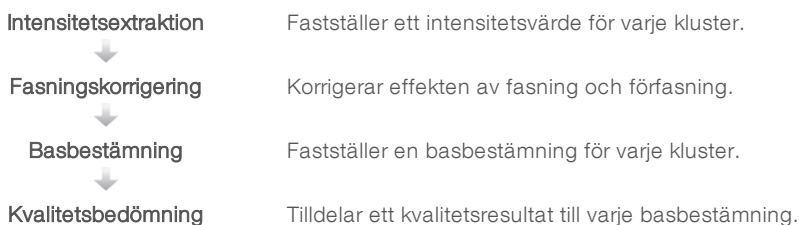
Felhantering

RTA2 skapar loggfiler och skriver dem till mappen RTALogs (RTA-loggar). Fel registreras i en felbil i filformatet TSV.

Följande logg- och felbil överförs till den slutgiltiga utdatadestinationen när bearbetningen har slutförts:

- ▶ *GlobalLog*.tsv sammanfattar viktiga körningshändelser.
- ▶ *Error*.tsv listar fel som inträffat under en körning.
- ▶ *WarningLog*.tsv listar varningar som inträffat under en körning.

Arbetsflöde för Real-Time Analysis



Intensitetsextraktion

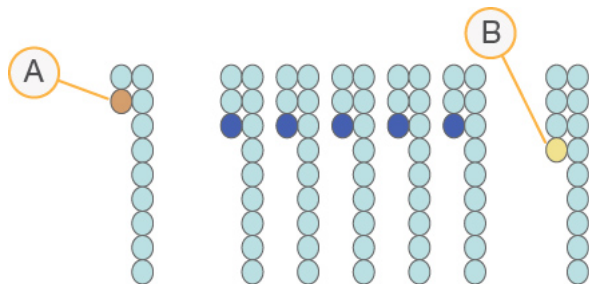
Intensitetsextraktion beräknar ett intensitetsvärde för varje nanobrunn i en specifik bild.

Fasningskorrigerering

Under sekvenseringsreaktionen förlängs varje DNA-sträng i ett kluster med en bas per cykel. Fasning och förfasning inträffar när en sträng hamnar ur fas med den aktuella inkorporeringscykeln.

- ▶ Fasning inträffar när en bas hamnar efter.
- ▶ Förfasning inträffar när en bas hamnar före.

Bild 9 Fasning och förfasning



- A Avläsning med en bas som är ett exempel på fasning.
- B Avläsning med en bas som är ett exempel på förfasning

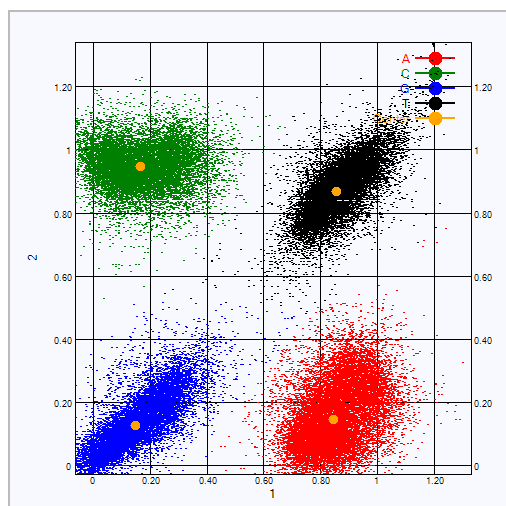
RTA2 korrigerar effekterna av fasning och förfasning så att datakvaliteten maximeras för varje cykel i körningen.

Basbestämning

I basbestämning bestäms en bas (A, C, G eller T) för alla kluster på en specifik platta i en specifik cykel. iSeq 100-systemet använder sekvensering med ett färgämne. Det betyder att data för de fyra baserna kodas med ett färgämne och två bilder.

Resultatet av de intensiteter som extraheras från en bild och jämförs mot en annan bild är fyra distinkta populationer som var och en motsvarar en nukleotid. Base calling bestämmer vilken population varje kluster tillhör.

Bild 10 Visualisering av klusterintensiteter



Tabell 3 Base calls i sekvensering med ett färgämne

Bas	Färgämne i första bild	Färgämne i andra bild	Slutsats från jämförda bilder
T	På	På	Kluster som visar intensitet i båda bilderna är T-baser.
A	På	Av	Kluster som endast visar intensitet i den första bilden är A-baser.
C	Av	På	Kluster som endast visar intensitet i den andra bilden är C-baser.
G	Av	Av	Kluster som inte visar intensitet i någon av bilderna är G-baser.

Passerfilter för kluster

Under körningen filtrerar RTA2 alla rådata och tar bort läsningar som inte håller kvalitetsmålet. Överlappande kluster eller kluster av låg kvalitet tas bort.

För sekvensering med ett färgämne använder RTA2 ett populationsbaserat system för att bestämma ett base calls renhet (mått på intensitetsrenhet). Kluster passerar filtret (PF) när inte mer än ett base call har en renhet under ett angivet tröskelvärde under de första 25 cyklerna.

PhiX-inpassning utförs under cykel 26 på en underuppsättning av plattor för kluster som passerade filtret. Kluster som inte passerar filtret har inte basbestämts och är inte inpassade.

Indexavläsningar

Processen vid base calling för indexavläsningar skiljer sig från base calling för sekvenseringsavläsningar. De två första cyklerna i en indexavläsning får inte börja med två G-baser, annars kan inte intensiteten genereras. Intensitet måste förekomma i en av de två första cyklerna för att demultiplexeringsprestandan ska kunna säkerställas.

Kontrollera att *minst* en indexadaptersekvens i en biblioteksuppsättning inte börjar med två G-baser. Välj balanserade indexadaptersekvenser för att säkerställa att signalen är närvarande i åtminstone en bild (helst båda bilderna) i varje cykel. Plattlayouten och sekvenserna i Illumina TruSeq UD-index, framtagna av IDT, är utformade för att ha rätt balans.

Mer information om indexering och uppsättningsprocessen finns i *Uppsättningsguide för indexadapter* (dokumentnr 1000000041074).

Kvalitetsbedömning

Ett kvalitetsresultat, eller ett Q-resultat, mäter sannolikheten för ett felaktigt base call. Ett högt Q-resultat indikerar att en basbestämning är av bra kvalitet och sannolikt är korrekt.

Q-resultatet är ett praktiskt sätt att mäta sannolikheten för små fel. Q(X) representerar kvalitetsresultat, där X är resultatet. Följande tabell visar relationen mellan kvalitetsresultatet och sannolikheten för fel.

Q-resultat Q(X)	Felsannolikhet
Q40	0,0001 (1 på 10 000)
Q30	0,001 (1 på 1 000)
Q20	0,01 (1 på 100)
Q10	0,1 (1 på 10)



OBS!

Kvalitetsresultat baseras på en anpassad version av Phred-algoritmen.

Metoden beräknar en uppsättning variabler för varje basbestämning och använder sedan variablernas värden för att hitta Q-resultatet i en kvalitetstabell. Kvalitetstabeller skapas för att ge optimalt noggranna kvalitetsprognoser för körningar som skapas av en specifik konfiguration av sekvenseringsplattform och uppsättning av kemikalier.

När Q-resultatet har fastställts registreras resultatet i base call-filerna.

Bilaga B Felsökning

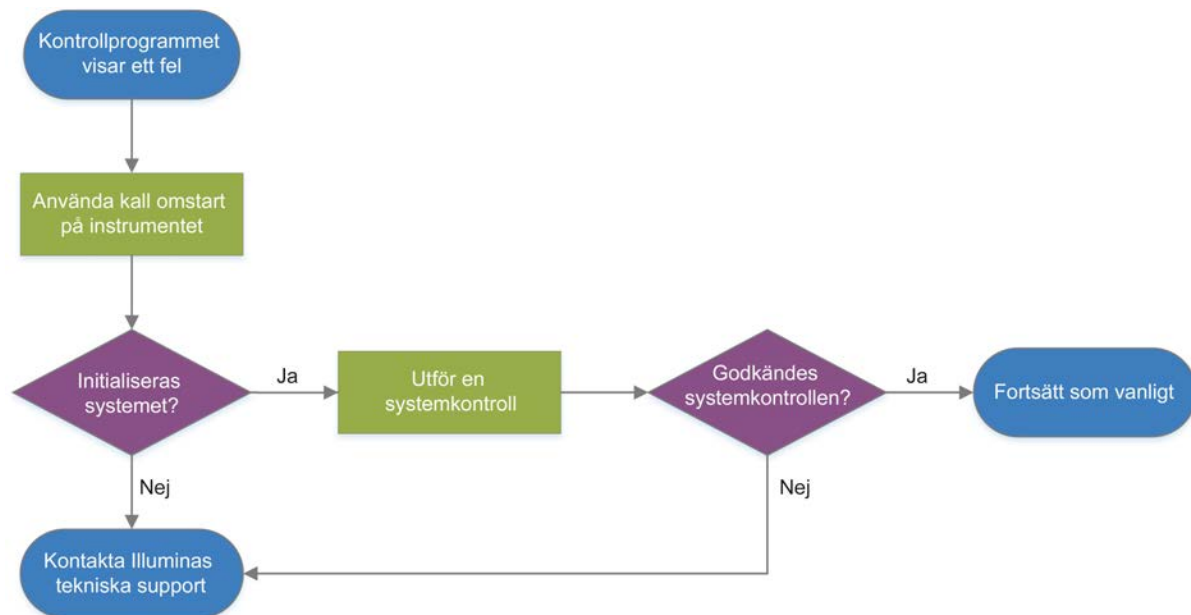
Åtgärda felmeddelanden	46
Avbryta en påbörjad körning	47
Använda kall omstart på instrumentet	47
Utföra en systemkontroll	48
Begränsning av läckage	50
Återställ till fabriksinställningar	53

Åtgärda felmeddelanden

Den här bilagan innehåller detaljerade anvisningar för olika felsökningsrutiner. Följande flödesschema visar arbetsflödet för felsökning av felmeddelanden som visas under initiering, körningskonfiguration, kontroller före körning eller sekvensering som inte åtgärdas med ett nytt försök.

Många fel kan lösas genom en kall omstart, det vill säga att systemet stängs av och startas om. Under vissa omständigheter kan en systemkontroll behövas för att diagnostisera och åtgärda felet.

Bild 11 Översikt över felmeddelanden



Processhanteringsstatus

Gör så här för att felsöka ett statusproblem på skärmen Process Management (Processhantering).

- ▶ Om körningen pågår ska du stänga skärmen Process Management (Processhantering), vänta i fem minuter och sedan öppna den igen.
- ▶ Om körningen inte är igång ska du utföra en kall omstart på instrumentet och därefter öppna skärmen Process Management (Processhantering). Mer information finns i avsnittet *Använda kall omstart på instrumentet* på sidan 47.

Avbryta en påbörjad körning

Efter att en körning har startats kan du avbryta den, mata ut patronen och återvända till skärmen Sequence (Sekvens).



VARNING!

Att avbryta en körning är en *definitiv* handling. Programmet kan inte återuppta körningen och förbrukningsmaterialet kan inte återanvändas efter att instrumentkontrolldelen av kontrollen före körning har slutförts.

- 1 Tryck på **Stop Run** (Avbryt körning) och sedan på **Yes, cancel** (Ja, avbryt). Skärmen Sequencing Canceled (Avbruten sekvensering) visas med tidsstämplar för det datum och den tid som körningen avbröts.
- 2 Tryck på **Eject Cartridge** (Mata ut patron) för att öppna luckan och mata ut facket.
- 3 Ta bort patronen från facket.
- 4 Förvara eller kassera patronen beroende på när körningen avbröts:

Omständighet	Anvisning
Du avbröt körningen innan eller under instrumentkontrollen och vill använda förbrukningsmaterialet igen.	Låt flödescellen och biblioteket vara kvar i patronen och förvara den i rumstemperatur i upp till en timme.
Alla andra omständigheter.	Avlägsna flödescellen från patronen. Kassera båda komponenterna i enlighet med lokala bestämmelser. <ul style="list-style-type: none"> • Flödescellen har elektroniska delar. • Patronen innehåller använda reagenser och bibliotek.

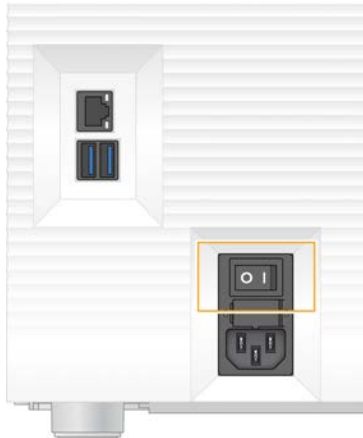
- 5 Tryck på **Close Door** (Stäng lucka) för att mata in facket och återgå till skärmen Sequencing (Sekvensering). Sensorer bekräftar att patronen har avlägsnats.

Använda kall omstart på instrumentet

Kall omstart av instrumentet är ett säkert sätt att stänga av och starta om systemet för att återställa en förlorad anslutning, anpassa en specifikation eller åtgärda ett initieringsfel. Programmeddelanden indikerar när en kall omstart kan var lösningen på ett fel eller en varning.

- 1 Tryck på **Shut Down System** (Stäng av systemet) i menyn.
- 2 Om systemet inte stängs av ska du hålla ned strömbrytaren på instrumentets vänstra sida tills det att lamporna tonas ned.
- 3 Växla på/av-knappen på den bakre panelen till läget Av (O) när strömbrytaren blinkar. På/av-knappen kan fortsätta att blinka efter det att strömmen kopplats från.

Bild 12 På/av-knappens placering



- 4 Vänta i 30 sekunder.
- 5 Växla på/av-knappen till läget På (I).
- 6 Tryck på strömbrytaren när den blinkar.

Bild 13 Strömbrytarens placering



- 7 Logga in i Windows när operativsystemet har lästs in.
Kontrollprogrammet startar och initierar systemet. Startskärmen visas när initieringen har slutförts.

Utföra en systemkontroll

En systemkontroll tar cirka 45 minuter och använder den återanvändbara testpatronen och den återanvändbara testflödescellen för att diagnostisera fel och problem som påträffats under kontrollerna före körning. Fyra tester av undersystem bekräftar om komponenterna är korrekt placerade och funktionella.

Vid normal drift och normalt underhåll behövs ingen systemkontroll.

- 1 Hämta den återanvändbara testpatronen och den återanvändbara testflödescellen från den plats där de förvaras i rumstemperatur.

- 2 Välj **System Check** (Systemkontroll) i kontrollprogrammets meny.
Dialogrutan System Check (Systemkontroll) visas där mekaniska, termiska, optiska och sensoriska tester har markerats.
- 3 Tryck på **Unload** (Mata ut) för att öppna luckan till patronens fack och mata ut facket.
- 4 Om det finns en använd patron i facket ska den avlägsnas.
- 5 Kontrollera om de förekommer synligt skräp på flödescellens glasyta. Rengör enligt följande om det förekommer skräp.
 - a Rengör glasytan med en alkoholservett.
 - b Torka av den med en luddfri servett för laboratoriebruk.
 - c Kontrollera att flödescellen är fri från ludd och fibrer.

Under vanliga omständigheter måste inte den återanvändbara testflödescellen rengöras.

- 6 Håll den återanvändbara testflödescellen vid grepppunkterna med etiketten vänd uppåt.
- 7 För in den återanvändbara testflödescellen i facket på den återanvändbara testpatronens framsida. Ett hörbart klick indikerar att flödescellen är på plats. Om flödescellen har förts in korrekt ska dess greppbara del sticka ut från patronen och glaset ska synas i fönstret.



- a För in den återanvändbara testflödescellen
 - b Den återanvändbara testflödescellen på plats
- 8 Placera den återanvändbara testpatronen i facket med fönstret vänt uppåt och flödescellen vänd mot instrumentets insida.



- 9 Tryck på **Load** (Ladda) för att mata in den återanvändbara testpatronen och stänga luckan.
- 10 Välj **Start** för att starta systemkontrollen.
Under systemkontrollen matar programmet ut och in patronen en gång.

**OBS!**

Den återanvändbara flödescellen och den återanvändbara testpatronen håller i fem år från tillverkningsdatumet eller för upp till 36 användningar, beroende på vilket som inträffar först. Resterande antal användningar visas på skärmen.

- 11 När systemkontrollen har slutförts ska du kontrollera om testerna godkändes eller underkändes.

Resultat	Indikation	Åtgärd
Alla fyra tester godkändes.	Instrumentet fungerar korrekt och problemet berör antagligen förbrukningsmaterialet eller biblioteket.	Konfigurera en ny körning. Om förbrukningsmaterialet för den föregående körningen sparades kan det användas för den nya körningen.
Minst ett av testen underkändes.	Instrumentet kan ha ett maskinvarufel.	Kontakta Illuminas tekniska support.

- 12 Tryck på **Unload** (Mata ut) för att mata ut den återanvändbara testpatronen.
- 13 Ta bort den återanvändbara testpatronen från facket.
- 14 Ta bort den återanvändbara testflödescellen från patronen.
- 15 Packa ner de återanvändbara teskomponenterna i originalförpackningarna och förvara dem i rumstemperatur.
- 16 Stäng dialogrutan System Check (Systemkontroll).

Begränsning av läckage

Om problem med flödestekniken, patronfel eller läckage upptäcks under en kontroll före körning eller sekvensering kommer programmet att avsluta körningen och meddela dig. När läckan har bedömts och instrumentet har rengjorts bekräftar en systemkontroll om instrumentet kan återgå till normal drift.

En dropplåda längst ned i instrumentet samlar upp vätskor som läcker från patronen. Läckta vätskor kan dock nå andra delar av systemet. Under vanliga omständigheter ska dropplådan vara torr.

Bedöma läckaget

- 1 Använd ett nytt par puderfria handskar.

**WARNING!**

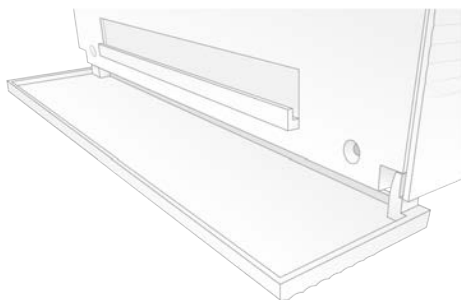
Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

- 2 Mata ut patronen genom att följa anvisningarna på skärmen.
- 3 Kontrollera om det förekommer spår av vätska på patronen.
En liten mängd vätska (< 500 µl) på flödescellens glasyta är godtagbar.
- 4 Gå vidare till *Rengöra instrumentet* om du inte kan se någon vätska (eller en tillåten mängd vätska).
En systemkontroll bekräftar normal drift efter rengöring.

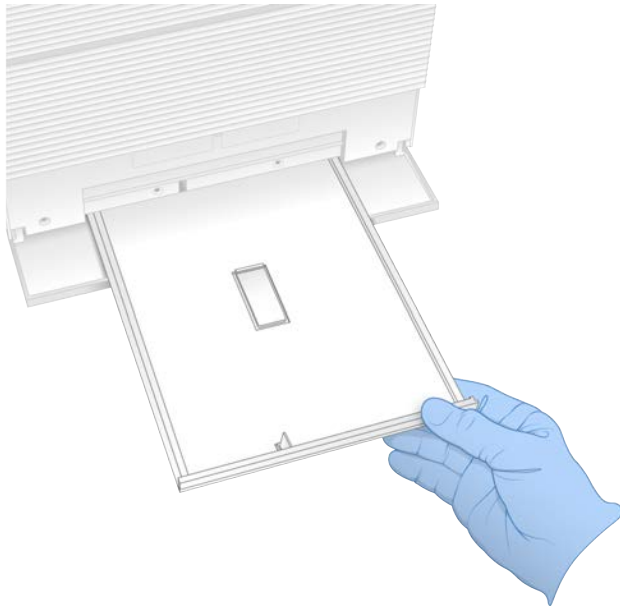
- 5 Om det förekommer en betydande mängd vätska på flödescellen, patronen eller instrumentet ska du kontakta Illuminas tekniska support samt stänga av och koppla från instrumentet enligt följande.
 - a Tryck på **Shut Down System** (Stäng av systemet) i menyn.
 - b Om avstängningskommandot inte svarar ska du hålla ned strömbrytaren på instrumentets vänstra sida tills det att lamporna tonas ned.
 - c Växla på/av-knappen på instrumentets baksida till läget Av (O) när strömbrytaren blinkar.
 - d Vänta i 30 sekunder.
 - e Koppla från strömkabeln från vägguttaget och sedan från eluttaget på den bakre panelen.
 - f Koppla från Ethernet-kabeln från vägguttaget och sedan från Ethernet-porten på den bakre panelen i förekommande fall.

Rengöra instrumentet

- 1 Av säkerhetsskäl ska du stänga av och koppla från instrumentet.
 - a Tryck på **Shut Down System** (Stäng av systemet) i menyn.
 - b Om avstängningskommandot inte svarar ska du hålla ned strömbrytaren på instrumentets vänstra sida tills det att lamporna tonas ned.
 - c Växla på/av-knappen på instrumentets baksida till läget Av (O) när strömbrytaren blinkar.
 - d Vänta i 30 sekunder.
 - e Koppla från strömkabeln från vägguttaget och sedan från eluttaget på den bakre panelen.
 - f Koppla från Ethernet-kabeln från vägguttaget och sedan från Ethernet-porten på den bakre panelen i förekommande fall.
- 2 Hitta dropplådans lucka under patronfacket på instrumentets framsida och öppna luckan.



- 3 Öppna dropplådan och ta bort dynan.



- 4 Torka bort överbliven vätska från lådans botten med pappershanddukar.
- 5 Kassera dynan och annat förbrukningsmaterial i enlighet med lokala bestämmelser. Mer information finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.
- 6 Lägg en ny dyna i dropplådan.
- 7 Stäng dropplådan och stäng sedan luckan till dropplådan.
- 8 Torka vid behov upp vätska på eller runt instrumentet med pappershanddukar.
- 9 Så här aktiverar och återansluter du instrumentet:
- a Anslut Ethernet-kabeln till en Ethernet-port i förekommande fall.
 - b Anslut strömkabeln till uttaget på enhetens baksida och sedan till ett eluttag.
 - c Växla på/av-knappen på instrumentets baksida till läget På (I).
 - d Tryck på strömbrytaren när den blinkar.
 - e Logga in i Windows när operativsystemet har lästs in.

Kontrollprogrammet startar och initierar systemet. Startskärmen visas när initieringen har slutförts.

- 10 Utför en systemkontroll för att bekräfta att systemet fungerar normalt. Om instrumentet klarar systemkontrollen indikerar det att instrumentet kan återuppta normal drift. Anvisningar finns i avsnittet *Utföra en systemkontroll* på sidan 48.

Återställ till fabriksinställningar

Återställ systemet till fabriksinställningarna för att nedgradera programmet, åtgärda en oönskad konfiguration eller ta bort användardata innan instrumentet skickas tillbaka till Illumina. När systemet återställs avinstalleras kontrollprogrammet och enheten C rensas.

- 1 Om databasen med referensgenom för Local Run Manager finns på enhet C:
 - a Flytta databasen till D:\Illumina\Genomes eller en annan lokal mapp eller nätverksmapp som inte finns på enhet C.
 - b Återställ sökvägen för databasen i Local Run Manager till D:\Illumina\Genomes eller en annan lokal mapp eller nätverksmapp som inte finns på enhet C. Anvisningar finns i *Programhandbok för Local Run Manager (dokumentnr 100000002702)*.
- 2 Starta om Windows.
- 3 Välj **Restore to Factory Settings** (Återställ till fabriksinställningar) när du uppmanas att välja ett operativsystem.
Operativsystemsalternativen visas kort innan återställningen automatiskt går vidare med iSeq Control Software.
- 4 Det tar omkring 30 minuter för återställningen att slutföras.
Systemet kan starta om flera gånger under återställningen. När den har slutförts startar systemet om med fabriksinställningarna och utan kontrollprogrammet.
- 5 Installera kontrollprogrammet:
 - c Hämta installationsprogrammet på hjälpsidorna för sekvenseringssystemet iSeq 100. Spara installationsprogrammet på en nätverksplats eller en bärbar USB-enhet.
 - d Kopiera installationsprogrammet till C:\Illumina.
 - e Öppna iSeqSuiteInstaller.exe och följ sedan anvisningarna för att utföra installationen.
 - f Tryck på **Finish** (Slutför) när uppdateringen har slutförts.
 - g Använda kall omstart på instrumentet. Anvisningar finns i avsnittet *Använda kall omstart på instrumentet på sidan 47*.
- 6 Följ anvisningarna på skärmen för att utföra den första installationen, inklusive systemkontrollen med den återanvändbara testpatronen och den återanvändbara testflödescellen.
- 7 Installera en Local Run Manager-analysmodul:
 - a Växla till administratörskontot (sbsadmin) i operativsystemet.
 - b Hämta installationsprogrammet på hjälpsidorna för Local Run Manager. Spara installationsprogrammet på en nätverksplats eller en bärbar USB-enhet.
 - c Kopiera installationsprogrammet till C:\Illumina.
 - d Öppna installationsprogrammet (*.exe) och följ sedan anvisningarna för att utföra installationen.
 - e Tryck på **Finish** (Slutför) när uppdateringen har slutförts.

Bilaga C Avancerat byte

Byta iSeq 100-systemet	54
Ta emot ett ersättningsystem	54
Förbereda originalsystemet för retur	54
Skicka tillbaka originalsystemet	57

Byta iSeq 100-systemet

Eftersom iSeq 100-systemet inte har några utbytbara delar förutom luftfiltret och dynan till dropplådan, använder Illumina avancerat byte för att åtgärda problem som inte kan lösas på distans.

Vid ett avancerat byte byts ett skadat eller defekt system ut mot ett fungerande system. Du får ersättningsystemet innan du skickar tillbaka originalet för att minimera avbrottstiden.

Regional tillgänglighet

Avancerat byte är tillgängligt i de flesta regioner. Andra regioner har fortsatt stöd av fältservicetekniker. Kontakta Illuminas tekniska support om du vill veta vilka supportalternativ som är tillgängliga i din region.

Ta emot ett ersättningsystem

- 1 Om en systemkontroll eller andra felsökningsmetoder inte åtgärdar problemet ska du kontakta Illuminas tekniska support.
 - ▶ Om möjligt, kan du utföra en till systemkontroll med en annan återanvändbar testpatron och återanvändbar testflödescell.
 - ▶ Spara resultaten från systemkontrollerna så att de kan vidarebefordras till den tekniska supporten. Om den tekniska supporten inte kan lösa problemet på distans startas en returprocess och en order läggs för ett ersättningsystem.
- 2 Gör följande när du har tagit emot ett ersättningsystem:
 - ▶ Packa upp och installera det enligt *Installationsblad för sekvenseringssystemet iSeq 100 (dokumentnr 1000000035963)*.
 - ▶ **Spara allt förpackningsmaterial.** Det används om systemet och de återanvändbara testkomponenterna ska returneras.
 - ▶ Spara returdokumenten, som inkluderar en UPS-returetikett och en kommersiell faktura (för internationella försändelser).

Förbereda originalsystemet för retur

Skicka tillbaka originalsystemet, den återanvändbara testpatronen och den återanvändbara testflödescellen till Illumina inom 30 dagar från det att ersättningsinstrumentet togs emot.

Stänga av och koppla från

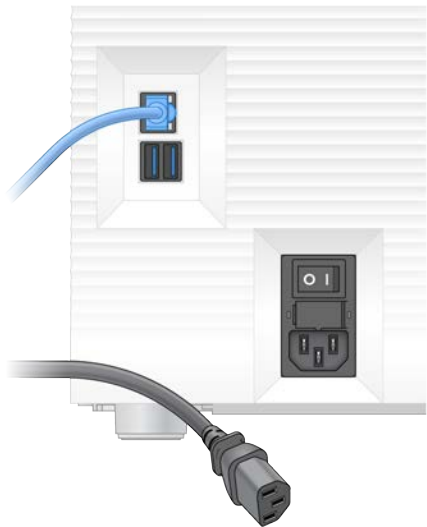
Om systemet är på ska du följa steg 1–3 för att spara och rensa data innan du stänger av systemet på ett säkert sätt. Följ de återstående stegen för att avlägsna en patron (om tillämpligt) och koppla från sladdar och kablar.

- 1 Kopiera filer och mappar som du vill spara till en bärbar USB-enhet från Utforskaren .
Platsen för sekvenseringsdata kan anges av användaren men enheten D används som standardplats.
- 2 Ta bort filer och mappar som du inte vill dela med Illumina.

- 3 Stäng av systemet enligt följande.
 - a Tryck på **Shut Down System** (Stäng av systemet) i menyn.
 - b Om avstängningskommandot inte svarar ska du hålla ned strömbrytaren på instrumentets vänstra sida tills det att lamporna tonas ned.
 - c Växla på/av-knappen på instrumentets baksida till läget Av (O) när strömbrytaren blinkar.
- 4 Om det finns en patron i instrumentet gör du så här för att starta om systemet och avlägsna patronen:
 - a Växla på/av-knappen på instrumentets baksida till läget På (I).
 - b Tryck på strömbrytaren när den blinkar.
 - c Logga in i Windows när operativsystemet har lästs in.
 - d Välj **System Check** (Systemkontroll) i kontrollprogrammets meny.
 - e Tryck på **Unload** (Mata ut) för att mata ut patronen. Avlägsna sedan patronen från facket.
 - f Om utmatningen misslyckas ska du kontakta Illuminas tekniska support för vidare instruktioner.
 - g Tryck på **Load** (Ladda) för att mata in det tomma facket och stänga luckan.
 - h Stäng dialogrutan System Check (Systemkontroll) och stäng sedan av systemet.

Det är nödvändigt att stänga av och starta om systemet för att patronen ska hamna i rätt position för borttagning.

- 5 Koppla från strömkabeln från vägguttaget och sedan från eluttaget på den bakre panelen.



- 6 I förekommande fall, koppla från:
 - ▶ Ethernet-kabeln från vägguttaget och sedan från Ethernet-porten på den bakre panelen.
 - ▶ Tangentbordet och musen från USB-portarna på den bakre panelen.

Dekontaminera instrumentet

När ett instrument ska transporteras måste följande dekontamineringsprocedur utföras. Illumina bekräftar att den har slutförts. Ytterligare dekontaminering kan behövas vid platsspecifika faror.

Dekontaminera med blekmedel

- 1 Använd ett nytt par puderfria handskar.
- 2 Fäll ned instrumentets bildskärm.

- 3 Öppna luckan till patronfacket genom att försiktigt dra i luckans kanter.

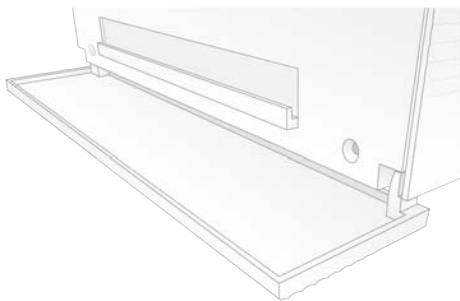


- 4 Rengör hela luckan med en blekmedelsservett:

- ▶ Luckans insida
- ▶ Luckans utsida
- ▶ Luckans gångjärn

- 5 Stäng luckan till patronfacket.

- 6 Hitta dropplådans lucka under patronfacket på instrumentets framsida och öppna luckan.



- 7 Öppna dropplådan och ta bort dynan.



- 8 Torka bort överbliven vätska från lådans botten med pappershanddukar.
- 9 Kassera dynan och annat förbrukningsmaterial i enlighet med lokala bestämmelser. Mer information finns i säkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.
- 10 Rengör dropplådan med en blekmedelsservett.
- 11 Låt blekmedlet verka i 15 minuter.

Neutralisera med alkohol

- 1 Fukta en trasa eller pappershandduk med vatten. Alla renhetsgrader är lämpliga, inklusive kranvatten.
- 2 Torka följande delar med den fuktiga trasan eller pappershanddukar:
 - ▶ Dropplådan
 - ▶ Luckan till patronfacketVattnet förhindrar att blekmedlet och alkoholen blandas.
- 3 Torka av följande delar igen med en alkoholservett:
 - ▶ Dropplådan
 - ▶ Luckan till patronfacketAlkoholen tar bort blekmedelsrester som kan orsaka korrosion.
- 4 Kontrollera att luckorna till dropplådans fack och patronens fack är stängda.
- 5 Rengör laboratoriebänken runt instrumentet med blekmedelsservetter eller blekmedelslösning.

Skicka tillbaka originalsystemet

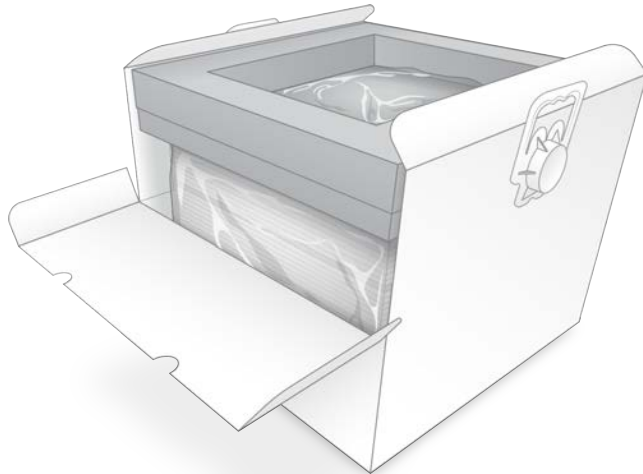
Packa in instrumentet

- 1 Kontrollera att det finns tillräckligt med utrymme i laboratoriet för instrumentet och dess förpackningsmaterial.
- 2 För in den lilla skumplastdynan mellan den nedfällda bildskärmen och instrumentet.
- 3 Placera den grå plastpåsen över instrumentet.



- 4 Fäll ned den vita lådans framsida.
- 5 För in instrumentet i lådan på så sätt att du har instrumentets framsida vänd mot dig.

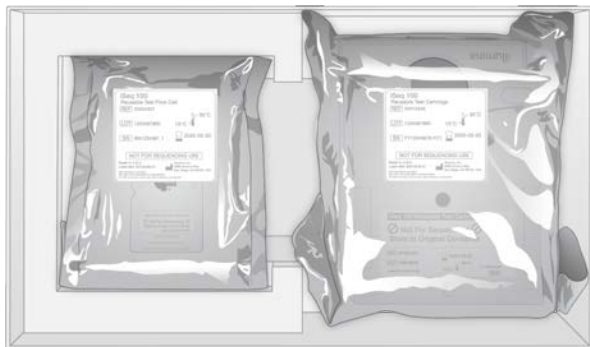
- Lägg det fyrkantiga skumplastskyddet på instrumentet så att skyddets tunnare sidor vilar mot instrumentets fram- och baksida. Kontrollera att skumplasten är i linje med lådans övre kant.



- Stäng lådans framsida och stäng sedan lådans överdel.

Packa in de återanvändbara testkomponenterna

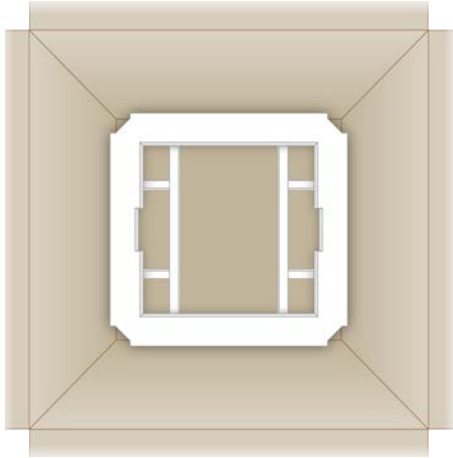
- Lägg den återanvändbara iSeq 100 i1-testpatronen i den större av de återförslutningsbara påsarna och förslut påsen.
- Lägg den återanvändbara iSeq 100 i1-testflödescellen i fodralet.
- Lägg fodralet i den mindre av de återförslutningsbara påsarna och förslut påsen.
- Lägg de återförslutningsbara påsarna i tillbehörlådan för sekvenseringssystemet iSeq 100.



- Stäng tillbehörlådan.

Skicka systemet

- 1 Om den skyddande skumplastbasen har avlägsnats från den bruna fraktlådan ska den placeras på lådans botten igen.



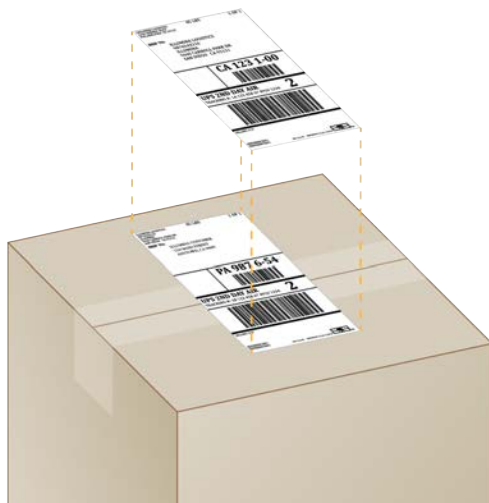
- 2 Lyft den vita lådan i de två handtagen (det rekommenderas att två personer lyfter) och sänk sedan ned den vita lådan i den bruna lådan. Instrumentets riktning spelar ingen roll.



WARNING!

Den vita lådan måste skickas i den bruna lådan. Den vita lådan är inte utformad för leverans och har inga leveransetiketter.

- 3 Lägg det skyddande skumplastlocket på den vita lådan.
- 4 Lägg tillbehörlådan mitt på skumplastlocket.
- 5 Lägg den svarta skumplastdynan på tillbehörlådan.
- 6 **[Valfritt]** Lägg Ethernet-kabeln och strömkabeln på valfri plats i lådan.
- 7 Stäng den bruna lådan och säkra med packtejp.
- 8 Fäst returetiketten över fraktetiketten, eller avlägsna transportetiketten.



- 9 **[Internationella försändelser]** Fäst den kommersiella fakturan på fraktlådan.
- 10 Skicka tillbaka instrumentet till Illumina med UPS.
 - ▶ Om laboratoriet får dagliga leveranser från UPS kan du ge den märkta fraktlådan till föraren.
 - ▶ Om laboratoriet inte får dagliga leveranser från UPS ska du kontakta Illuminas kundtjänst så att de kan boka returleveransen åt dig.

Index

%

% mättnad 20
%Clusters PF (% godkända kluster) 28, 31
%Occupancy (% mättnad) 28, 31
%PF 20, 28, 31, 44

A

adaptersekvenser 14, 29
administratörskonto 11, 39
aktivera 17
Aktivitetsfältet i Windows 11
alkoholservetter 18
amplifikation 20
AmpliSeq Library PLUS för Illumina 20
analys 20
 metoder 20
analys utanför instrumentet 20
analyskontroll 23
analysmetoder 5
analysstatus 7
analysutformning 1
ändra lösenord 11
anpassa specifikationer 47
anpassad protokollväljare 2
anpassning 39
använda blekmedel 55
använda reagenser 4, 8
användarkonto 11
arbetsgrupper 27, 30
artikelnummer 9
återansluta 52
återanvändbar testflödescell 48, 54
återanvändbar testpatron 48, 54
återanvändning av förbrukningsmaterial 28, 31
återuppta körningar 47
åtkomst till utdatamappen 11
automatisk körningsstart 28, 31
automatiska uppdateringar 33
avbildning 20
avbruten anslutning 47
avbruten process 46
avisering 34
aviseringar för programuppdateringar 34
avläsningscykler 30
avläsningslängder 21
avläsningstyper 21, 30
avsluta 51, 55
avsluta körningar 47

B

base call-filer 20, 40
base calling 5, 20, 44
baser 43
BaseSpace Sequence Hub 1, 7
 provarkrav 14
 standardinställningar 12
basmångfald 23, 44
batchkod 9
BCL-filer 6, 40
bcl2fastq2-konverteringsprogram 40
behörighet 39
belysningsanordning 8
bibliotek 1, 8
 denaturering 20
bibliotek som är kompatibla 23
bibliotek, förvara 1 nM 22
biblioteksbehållare 24
biblioteksprepareringssatser 1, 20
bildanalys 5
bilder 15, 40, 42-43
bildskärm 3
blekmedelsservett 18

C

CMOS-sensorer 8, 25, 41

D

dataanalysalternativ 12-13
datornamn 6
demultiplexeringsprestanda 44
denaturerade bibliotek 20
denaturering 20
denaturering av bibliotek 20, 22
DesignStudio 1
diagnostik 48
diskutrymme 6, 33
dokumentation 1
dokumentation för Local Run Manager 1
domäner 13
droppåda 50
droppådans lucka 51, 56
droppådans placering 51, 56
dubbelsträngade bibliotek 22
dynor 18, 51, 56

dynor till dropplådor 18, 54

E

EEPROM 7
effektcykling 28, 31
egna domäner 13
elektriskt gränssnitt 8, 25
elektriskt och elektronisk avfall 29, 32, 47
eluttag 51, 54
 uttag 3, 36
enheten C 16, 53
enheten D 6, 16, 33, 54
enkel avläsning 27, 30
Ethernet 3, 36
Ethernet-kabel 51, 54
Ethernet-port 51, 54
Ethernet, aktivera 17
externa enheter 16
extra cykler 21
extra luftfilter 18

F

fabriksinställningar 53
fack 4
fack för förbrukningsmaterial 3
fältservicetekniker 54
farliga kemikalier 9, 29, 32
fasning 43
fasning och förfasning 21
FASTQ-filer 29, 40
fel 6, 42, 47
felmeddelanden 46
filkonvertering 40
filöverföring 7
filterfiler 40
filtrera kluster 44
fjärråtkomst 26
fjärråtkomst till Local Run Manager 26
fjärrövervakning 27, 30
fläktar 35
fliken Customization (Anpassning) 11, 14
fliken Network Access (Nätverksåtkomst) 11, 16
fliken Settings (Inställningar) 11-12
flödescellens förpackning 25
flödesceller
 antal cykler 9
flödesceller med spår 8
flödescellsspår 8
flödeskontroll 28, 31

flödesteknik 8
flytta 3, 36
fönster 8
förbereda plats 2, 16, 36
förbereda platsen 57
förebygga korrosion 57
företagsprenumeration 13
förfasning 43
formamid 29, 32
förpacka 59
förpackning
 flödescell 22
 kassera 22
 öppna 22
 patron 21
 returförsändelser 54
förpackning till förbrukningsmaterial 9
första installation 35, 53
förvara en patron 47
förvara flödesceller 7
förvara patron 7
förvara reagenser 7
förvara reagenssatser 7
förvara utspädda bibliotek 22
förvaring
 tinade patroner 21
förvaringsförhållanden 7, 9
fraktetiketter 59
frysnings-/upptiningscykler 21
frysspecifikationer 19

G

G-baser 44
garanti 18
godkänd systemkontroll 48
GPO 38
greppunkter 8, 25
grupprincipobjekt 38

H

hårddisk 6, 33
hjälp för Windows 10 17
hjälpikon 26, 29
hjälpidor, webbplats 33

I

i5-riktningar 29

identifiera förbrukningsmaterial 7
 IDT för Illumina TruSeq UD-index 44
 Illumina Proactive Support 13
 index
 adaptersekvenser 44
 avläsningar 30
 cykler 9, 21
 Index 2-riktningar 29
 indexadapter i5 30
 indexadapter i7 30
 initiering 37, 48
 initiering, systemkontroller 52
 initieringsfel 47
 inläsningskoncentrationer 20, 23
 inloggning 52
 installationsblad 2, 54
 installationsprogram för programsvit 33
 installera program 33
 inställningar
 första installation 11
 redigera 12-13
 inställningar för nätverkskort, WiFi 17
 instrument
 installation 54
 vikt 36
 instrumentkontroll 28, 31
 instrumentnamn 15
 intensitet 43
 intensiteter 42
 interna enheter 16
 internationella försändelser 59
 InterOp-filer 40
 IP-adresser 6
 iSeq 100 i1-reagenser 7, 18

K

kall omstart 17, 46
 kassera en patron 47
 kassera förpackningar 25
 kassering av flödesceller 29, 32
 kassering av förbrukningsmaterial 29, 32
 kassering av patron 29, 32
 kassering av reagenser 29, 32, 47
 katalognummer 18
 kluster
 filtrera 44
 optimera 20
 placering 40
 kodning av data 43
 kolsyreis 21

kommandorader 17
 kommersiell faktura 59
 kompatibla bibliotek 23
 konfigurationsfiler 40
 konfigurationsinställningar 42
 konto för administratör 39
 kontotyper 11
 kontrollbibliotek 11, 23
 kontroller före körning 48
 konvertera filer 40
 koppla från 51
 körningar
 antal 6, 41
 kontrollera status 6, 28, 31
 lagra i BaseSpace Sequence Hub 12
 lagring i BaseSpace Sequence Hub 13
 övervaka i BaseSpace Sequence Hub 12
 övervakning i BaseSpace Sequence Hub 13
 redigera parametrar 27
 storlek 33
 körningskonfiguration
 konfigurationsalternativ 12-13
 skärmar 29
 körningskonfigurationsskärmar 26
 körningsmapp 16, 33, 41
 körningsnamn 30
 körningsstorlekar 15
 kvalitetskontroll, bibliotek 22
 kvalitetsresultat 20, 28, 31, 44
 kvalitetstabeller 44
 kylspecifikationer 19

L

laboratorierockar 21
 läckage 50
 ljudinställningar 14-15
 Illumina Proactive Support 12
 Local Run Manager 5
 arbetsflödesguider 27
 dokumentation 27
 moduler 33
 nedladdningar 33
 provark
 skapa 14
 standardinställningar 12
 loggfiler 42
 lokal analys 1
 lokala inställningar 12-13
 luftfilter 54
 luftfiltrens placering 35

M

mall, provark 14, 29
 manifestfil för prov 42
 manuella programuppdateringar 33
 manuellt läge
 FASTQ-filer 29, 40
 om 29
 mått för förväntat totalt utbyte 28, 31
 mättnadsprocent 20, 28, 31
 maximalt cykelantal 21
 maximera kontrollprogrammet 11
 metoder 20
 mikrorör med låg bindning 22
 miniatyrbilder, spara 14
 miniatyrer 15
 minimalt cykelantal 21
 molnbaserad analys 1
 mönstrade flödesceller 8
 mus 3, 11

N

namnge 15
 datornamn 6
 instrument, smeknamn 14
 provark 14
 nanobrunnar 42
 nätverk
 riktlinjer 16
 standardinställningar 16
 nedgradera program 53
 Nextera DNA Flex 20
 Nextera Flex for Enrichment 20
 NGS 1
 normaliseringsmetoder 22
 nukleotider 20, 43
 nytt instrument 54

O

ofullständig process 46
 om läget Local Run Manager 26
 omstart 53
 operativsystem 37, 48, 52
 öppna Chromium 26
 öppna luckor manuellt 55
 optimera inläsningskoncentrationen 20
 optiska sensorer 8

P

på/av-knapp 3
 på/av-knappen 36, 47
 packa upp 54
 packningar 25
 paired-end 27
 paired end 30
 partinummer 9
 passerfilter 20, 28, 31
 patron
 förberedelsevideo 22
 förpackning 21-22
 reagenser 8
 patron som har fastnat 54
 patron som har fastnat i instrumentet 54
 Patronens riktning 26, 29
 patronfack 4
 personlig skyddsutrustning 21
 PF 44
 PhiX 11, 18, 23
 PhiX-inpassning 44
 Phred-algoritm 44
 plattor 40
 prestandadata 27, 30
 processhantering 28, 31, 33
 program 15
 installera 33
 kompatibla reagenser 7
 nedgradera 53
 uppdateringsinställningar 14
 programsvit 1, 5
 provark 27, 29-30, 42
 mallar 14, 29
 namnge 14

Q

Q30 28, 31

R

reagenser 7
 blanda 22
 programkompatibilitet 7
 reagenssatser 7
 recept, program 33
 receptfragment 6
 redigera körningsparametrar 27
 rengöra flödesceller 48

renhetsmått 44
 reservdelar 35
 resuspensionsbuffert 18, 22
 returerna
 dokument 54
 etiketter 59
 tidsgränser 54
 RFID 2, 7
 rör, låg bindning 22
 RunInfo.xml 40

S

säkerhet 38-39
 vitlista 38
 säkerhet och efterlevnad 2
 säkerhetsdatablad 29, 32, 50-51, 56
 sannolikhet för fel 44
 satser 7, 18
 sbsadmin (sbs-administratör) 11
 sbsuser (sbs-användare) 11
 SDS 51, 56
 sekvensering
 avläsningar 9
 cykler 9
 sekvensering med ett färgämne 20, 43-44
 sekvenseringsarbetsflöde 1
 sensorer 47
 Sequencing Analysis Viewer 40
 serienummer 6, 41
 skanna förbrukningsmaterial 26, 29
 skapa körningar i Local Run Manager 26
 skicka tillbaka system 54
 skyddsglasögon 21
 smeknamn 15
 spåra förbrukningsmaterial 1, 7
 spårning av förbrukningsmaterial 1
 SRP 38
 standardinställningar 12
 standardmapp för utdata 16, 27
 standardprinciper för lösenord 11
 standardregler för SRP
 Windows-säkerhet 38
 stänga av 36, 47, 51, 55
 stänga av ljud 15
 stänga luckor 26, 29
 startkoncentrationer 22
 startkoncentrationer för bibliotek 22
 Status för Local Run Manager 7
 statusfält 3
 steg på instrumentet 20

stoppa körningar 47
 strömbrytare 36, 47
 strömkabel 3, 36, 51, 54
 substitut för RSB 18, 22
 supportalternativ 54
 symboler 6, 9
 systeminställningar 11
 Systeminställningar 14
 systemkontroller 46, 50
 varaktighet 48
 systemkontrollresultat 48

T

ta bort data 54
 ta bort körningar 6, 33
 tangentbord 3, 11
 teknisk hjälp, hjälp, teknisk, kundtjänst,
 dokumentation 67
 testsats 18
 testsats för iSeq 100-system 18, 48
 tillbehörslåda 58
 tillverkare 9
 tom Chromium-skärm 26
 tom skärm i Chromium 26
 tröskelvärde för kvalitet 44
 TruSeq DNA Nano 20
 TruSeq DNA PCR-Free 20
 TSV-filformat 42
 tvättar 8

U

underkänd systemkontroll 48
 undersystem 48
 Universal Copy Service 16, 33
 universell kopieringstjänst 5, 7
 uppdatering av inbyggd programvara 34
 uppdateringsinställningar 15
 upplyst fält 3
 uppsättningsguide 44
 UPS 59
 USB-portar 3, 34
 utbytbara delar 54
 utbytesmått 28, 31
 utdatamapp 7, 27, 30, 33, 40
 standardplats 16, 41
 utformning av lucka 4
 utgångsdatum 9, 35
 utspädning av bibliotek 20

V

vägguttag 51, 54
värdplatser 12-13
varningar 6, 33, 42, 47
vätskeläckage 50
vätskor, läckta 50
vattenbad 21
vikt 36
vit låda 57

W

WiFi 17
Windows 52
 inställningar 17
Windows-inloggning 37, 48
Windows-konton 11
Windows-säkerhet 38

Teknisk hjälp

Kontakta Illuminas tekniska support för all form av teknisk hjälp.

Webbplats: www.illumina.com
E-post: techsupport@illumina.com

Telefonnummer till Illuminas kundtjänst

Region	Avgiftsfritt	Lokalt
Nordamerika	+1 800-8094566	
Australien	+1 800-775688	
Österrike	+43 800006249	+43 19286540
Belgien	+32 80077160	+32 34002973
Kina	400-0665835	
Danmark	+45 80820183	+45 89871156
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrike	+33 805102193	+33 170770446
Tyskland	+49 8001014940	+49 8938035677
Hongkong	800960230	
Irland	+353 1800936608	+353 016950506
Italien	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800-1115011	
Nederländerna	+31 8000222493	+31 207132960
Nya Zeeland	0800-451650	
Norge	+47 800 16836	+47 21939693
Singapore	+1 800-5792745	
Spanien	+34 911899417	+34 800300143
Sverige	+46 850619671	+46 200883979
Schweiz	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan	00806651752	
Storbritannien	+44 8000126019	+44 2073057197
Övriga länder	+44 1799-534000	

Säkerhetsdatablad (SDS) – Finns på Illuminas webbplats på support.illumina.com/sds.html.

Produktdokumentation – Kan hämtas i PDF-format på Illuminas webbplats. Gå till support.illumina.com, välj en produkt och klicka sedan på **Dokumentation och litteratur**.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 USA
+1 800-8094566
+1 858-2024566 (utanför Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

Endast för forskningsbruk. Inte för användning i diagnostiska procedurer.

© 2019 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

illumina®